

Diplôme d'Etude Approfondie
Océanologie - Gestion des Ressources Vivantes

Stage réalisé:

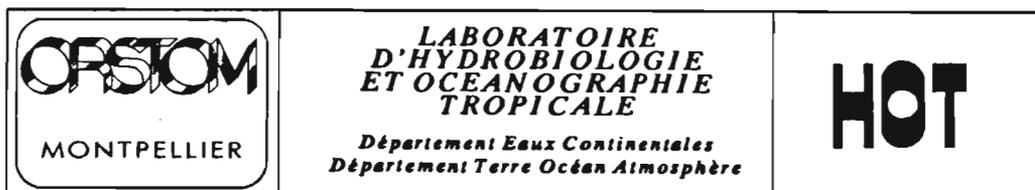
- au Centre **ORSTOM** de Montpellier (Unité Fonctionnelle Hydrobiologie et Océanographie Tropicale)
- au **CEMAGREF** de Montpellier (Division Aménagements Littoraux et Aquaculture)
- à l'**USTL** (Laboratoire Hydrobiologie Marine et Continentale)

sous la direction de **J.J. ALBARET** (ORSTOM) et **P. BACH** (ORSTOM)

Lecture assistée par ordinateur en otolithométrie
Application à l'étude de l'âge de Lutjanus sebae (Cuvier, 1828) aux
Seychelles.

par

Philippe CHAUVELON



AVANT - PROPOS

Cette étude a été réalisée grâce à l'aide financière de crédits de la convention ORSTOM n° 309/C/DPL/87/SEY signée entre la France et la République des Seychelles.

La réalisation de ce travail a nécessité l'emploi de matériels et l'appel à des compétences réparties dans plusieurs laboratoires. Je tiens à remercier leurs responsables de m'avoir accueilli :

- Mr Jacques Lemoalle (Responsable de l'Unité Fonctionnelle Hydrobiologie et Océanographie Tropicale (HOT) du centre ORSTOM de Montpellier),
- Mr le Professeur Michel Amanieu (laboratoire d'Hydrobiologie Marine et Continentale de l'USTL),
- Mr Christian Albigès (Responsable de la division Aménagements Littoraux et Aquaculture du CEMAGREF de Montpellier).

Il m'est agréable de remercier mes responsables de stage Pascal Bach et Jean-Jacques Albaret pour leur soutien, leurs judicieux conseils et leur bonne humeur qui m'ont été indispensables ; sans oublier toute l'équipe HOT du Centre ORSTOM de Montpellier que j'ai cotoyée avec plaisir pendant la durée de ce stage.

Merci à Jacques Panfili de m'avoir fait profiter de son expérience en otolithométrie ; ainsi qu'à la sympathique équipe de la division ALA du CEMAGREF.

Mes remerciements iront également à Thang Do Chi (Laboratoire d'Hydrobiologie Marine et Continentale de l'USTL) qui m'a conseillé et a mis à ma disposition le matériel d'analyse d'image, ainsi qu'à Claude Gril (laboratoire de Microscopie Electronique de l'USTL) qui fut un interlocuteur efficace dans le développement du logiciel.

**Lecture assistée par ordinateur en otolithométrie.
Application à l'étude de l'âge de *Lutjanus sebae* (Cuvier, 1828) aux Seychelles.**

I. Introduction

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel biologique étudié

II.1.1. Nature et origine

II.1.2. Préparation

- * Inclusion des otolithes
- * Réalisation des coupes et préparation des demi-blocs et des lames minces

II.2. Description du matériel et du logiciel d'analyse d'image utilisés

II.2.1. Données techniques concernant le matériel

II.2.2. Présentation du logiciel

II.3. Rétrocalcul d'une taille associée à un annulus

II.3.1. Rappels sur l'approche classique du rétrocalcul de la taille en otolithométrie

II.3.2. Modélisation du contour de la zone de lecture de l'otolithé, application au rétrocalcul de la taille des poissons

II.3.3. Exploitation des lectures des microstries à partir du rétrocalcul

III. Résultats et discussion

III.1. Observations pratiques et méthodologiques concernant le matériel biologique étudié et les moyens d'investigations employés

III.1.1. Problèmes techniques de préparation et d'observation

- * Lecture des annuli
- * Lecture des microstries

III.1.2. Apports et limites de la technique d'analyse d'image utilisée

III.1.3. Conséquences sur le traitement et l'analyse des données

III.2. Obtention de l'équation permettant le rétrocalcul

III.2.1. Estimation des paramètres a et b de l'ellipse

III.2.2. Recherche des relations $a = f_a(LF)$ et $b = f_b(LF)$

III.2.3. Méthode de résolution de l'équation permettant le rétrocalcul

III.2.4 Discussion sur les ajustements réalisés

III.3. Application du rétrocalcul à la détermination de classes de tailles associées aux annuli

III.3.1. Méthode de résolution de l'équation permettant le rétrocalcul

III.3.2. Résultats et discussion

III.4 Résultats préliminaires des lectures de microstries

III.4.1. Mesures et ajustements effectuées

III.4.2. Résultats et discussion

IV. Conclusion

Bibliographie

Annexes

I. INTRODUCTION

La détermination de l'âge des poissons revêt une importance primordiale en dynamique des populations. En effet, la connaissance de la clef âge-taille permet la détermination des paramètres de croissance. La qualité "biologique" de l'estimation de ces paramètres influe sur la fiabilité des résultats des modèles analytiques utilisés dans le cadre du diagnostic d'un stock exploité.

L'étude de l'âge des poissons peut être abordée selon deux méthodes :

- l'observation des pièces dures calcifiées;
- l'analyse statistique des distributions de fréquence de taille.

La détermination de l'âge des poissons est souvent envisagée à partir de l'observation de différentes pièces dures calcifiées (écaille, otolithe, vertèbre, rayon épineux des nageoires, urohyale...), qui constituent de véritables "bandes d'enregistrement" des crises physiologiques responsables des ralentissements ou des arrêts de croissance. D'une manière générale, les observations squelettochronologiques effectuées chez les poissons ont permis de montrer que ces arrêts ou ralentissements de croissance inscrits sur les pièces dures sous la forme d'annuli étaient étroitement dépendants de deux facteurs principaux : les variations de la température du milieu, la période de reproduction.

Dans le cas des poissons tropicaux, la détermination de l'âge reste problématique en raison d'une part, de marques périodiques saisonnières peu ou pas développées sur les pièces dures calcifiées (du fait de la stabilité des conditions environnementales au cours de l'année), d'autre part à cause d'une période de reproduction généralement plus étendue qu'en zone tempérée, qui rend difficile la distinction entre classes d'âge annuelles à partir de l'analyse statistique des distributions de fréquence de tailles.

Ainsi, la lecture des stries supposées journalières sur les otolithes, proposée par Pannella (1971, 1974) a été largement utilisée en zone tropicale (Le Guen, 1976 ; Ralston, 1976, 1985 ; Ralston et Miyamoto, 1983 ; Brouard *et al*, 1984 ; Caillart *et al*, 1986 ; Baillon, 1986, 1988 ; Radtke, 1987 ; Caillart et Morize, 1989 ; Ralston et Williams, 1989 ; Moralès-Nin et Ralston, 1990).

Pour l'observation des pièces dures calcifiées, différentes méthodes existent selon la préparation (pièces entières ou coupes) et le niveau de perception (marques saisonnières, journalières ou supposées telles) ; de la loupe binoculaire au microscope photonique (munis de micromètres oculaires), en passant par des systèmes de rétroprojection sur écran, jusqu'à l'utilisation de matériel vidéo couplé à l'équipement optique, permettant une observation plus confortable. Pour l'étude des microstructures, la microscopie électronique à balayage, nécessitant des moyens plus importants, a été utilisée dans l'exploration et la reconnaissance des structures et la validation sur un échantillon réduit des déterminations de l'âge obtenues par une autre méthode.

Une des préoccupations actuelles en squelettochronologie réside dans l'automatisation à des degrés divers de la collecte et du traitement de l'information "âge". Les techniques d'analyse d'image développées dans ce sens ont déjà permis d'obtenir des résultats en ce qui concerne la discrimination et le comptage des annuli sur les écailles et les otolithes (Troadec, 1986, 1987 ; Campana, 1987 ; Mac Gowan *et al*, 1987 ; Panfili, 1988). Des travaux concernant la morphométrie d'otolithes et d'écailles par analyse d'image ont

aussi été effectués (Pontual et Prouzet, 1988 ; Messieh *et al*, 1989). Enfin, l'utilisation de cette technique pour la lecture des microstries a été développée sur des stades larvaires et juvéniles de poissons (Planès, 1989) et sur des individus adultes (Moralès-Nîn et Ralston, 1990).

L'objectif de notre travail consiste à étudier l'âge d'une espèce tropicale à partir d'images numérisées de coupes d'otolithes, en vue d'apprécier les limites pratiques de cette technique et ce à deux niveaux : celui des macrostructures (mise en évidence, caractérisation et comptage d'éventuels annuli saisonniers); celui des microstructures (mise en évidence, caractérisation et comptage des stries supposées journalières).

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel biologique étudié

II.1.1. Nature et origine

Lutjanus sebae (Cuvier, 1828), (fig. 1), appartient au genre le plus largement représenté (65 espèces pour 101 recensées) de la famille des Lutjanidés. On le trouve dans la zone ouest de l'indo-pacifique : de l'Australie et la Nouvelle-Calédonie jusqu'au côtes est-africaines, et au nord jusqu'au Japon (Allen, 1985).

En raison de sa valeur marchande élevée et de l'accroissement de sa demande sur les marchés étrangers, cette espèce démersale fait l'objet d'une exploitation importante¹ sur le plateau des Seychelles (fig. 2)² au moyen de lignes à main et de moulinets électriques. Dans le cadre du programme de pêche artisanale mené conjointement par l'ORSTOM (Institut Français de Recherche Scientifique pour le développement en Coopération) et la S.F.A. (Seychelles Fishing Authority), l'espèce *Lutjanus sebae* (localement appelée "bourgeois"), compte tenu de son importance dans le contexte socio-économique de la pêche artisanale seychelloise, a fait l'objet d'un échantillonnage important de ses captures en vue d'une étude de sa biologie.

Les échantillons proviennent essentiellement des débarquements de la pêche professionnelle, diverses mensurations et observations ont été effectuées et les otolithes sagitta ont été prélevés en vue d'une étude de l'âge.

Les otolithes, au nombre de trois (lapillus, astéricus, sagitta) sont des concrétions calcaires situées respectivement dans un des trois sacs de l'oreille interne des poissons osseux. Elles permettent la réception des sons, assurent au poisson son sens de l'équilibre, le renseignent sur les accélérations et décélérations linéaires de sa nage. Les marques élémentaires d'accroissement de l'otolithe, ou microstries, ont une structure

1. Captures annuelles de *Lutjanus sebae*:

- 544 t en 1986 (11,7% des prises),
- 455 t en 1987 (11,5% des prises),
- 278 t en 1988 (6,4% des prises).

2. Les Seychelles se trouvent à la limite nord de l'influence des cyclones indo-pacifiques et sont soumises au régime des moussons. Les températures des eaux de surface à proximité des Seychelles varient entre 25°C en août-septembre (mousson de "suet") et 29-30°C en mars-avril (mousson de "norôit") (Bach, 1988).

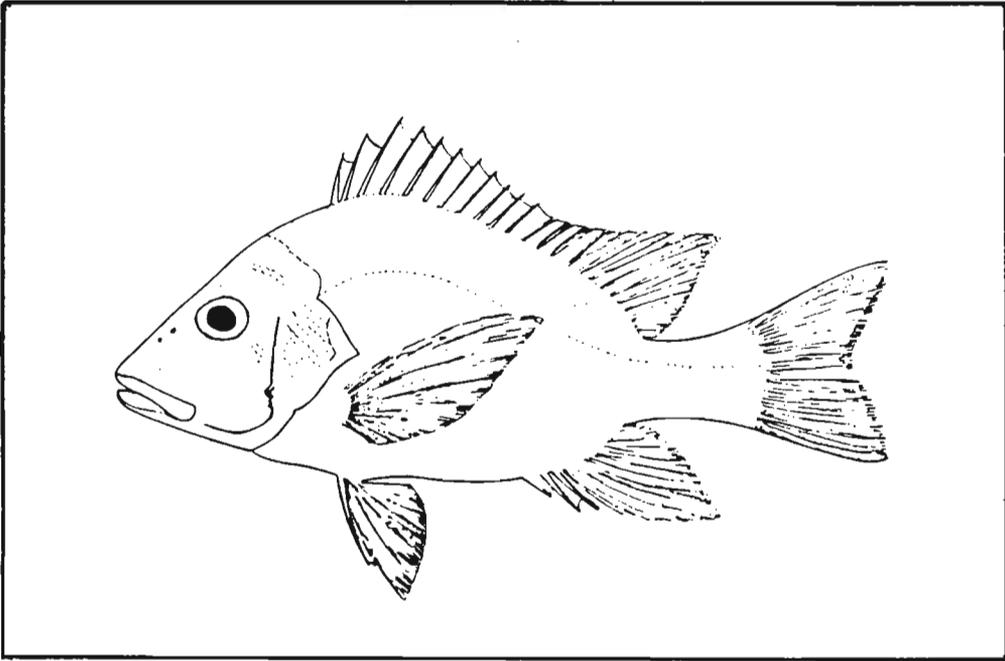


Figure 1 : *Lutjanus sebae* (Cuvier, 1828).

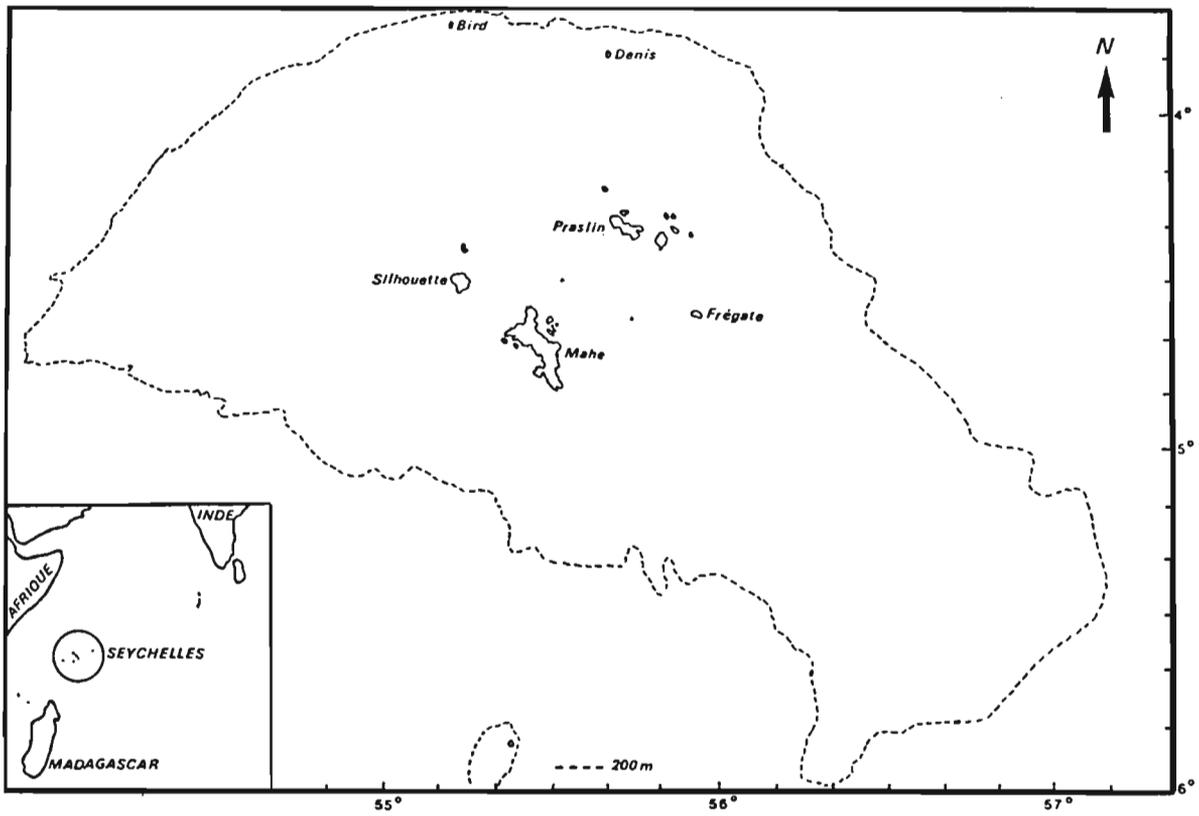


Figure 2 : Le plateau des Seychelles.

bipartite : une bande d'aspect clair composée d'une maille de fibres protéiques minéralisées par dépôt de cristaux d'aragonite, et une bande d'aspect sombre composée d'une maille de fibres organiques denses non calcifiées (Pannella, 1980 ; Caillart *et al.*, 1986).

A cette succession de dépôts, supposés journaliers, se superposent des discontinuités correspondant à des événements liés à des facteurs physiologiques endogènes du poisson ou à des variations de l'environnement abiotique ou biotique (variations d'abondance de nourriture par exemple), (Pannella, 1980). L'otolithe enregistre donc l'ensemble des événements survenus durant la vie de l'individu, de sa naissance à sa mort.

L'otolithe sagitta de *Lutjanus sebae* (fig. 3 a,b) a sa face distale concave et sa face proximale convexe. Cette caractéristique assez faiblement marquée selon la direction dorso-ventrale est par contre très développée dans la direction antéro-postérieure, surtout pour les individus âgés. Le bord dorsal de l'otolithe est orné de dentelures pouvant être très saillantes pour des otolithes de grande taille, alors que le bord ventral est plus régulier, avec de fines crénelures. La face proximale porte le sillon relativement profond du sulcus.

Des essais de lecture *in toto* en lumière réfléchie en utilisant des éclaircissants (essence de camomille, liqueur d'anis...) n'ont pas conduit à des observations intéressantes dans le cadre de la détermination de l'âge (Bach, comm. pers.).

Compte tenu de leur forme et des tentatives infructueuses d'observations *in toto*, nous avons choisi de préparer les otolithes afin d'effectuer des coupes transversales.

II.1.2. Préparation

* Inclusion des otolithes

Les otolithes soigneusement nettoyées et séchées, subissent une déshydratation accélérée par trempages successifs : éthanol à 95 %, éthanol absolu, acétone, styrène (solvant de la résine utilisée), résine pure (résine polyester d'inclusion transparente). Une première couche de mélange résine + catalyseur à 2 % est déposée au fond de moules confectionnés en silicone permettant un démoulage facile.

Au bout de 45 minutes à 1 heure, la couche est suffisamment visqueuse pour que l'on y dépose les otolithes. Un nouveau mélange de résine et catalyseur est alors versé sur les échantillons en prenant soin d'éviter la formation de bulles d'air. Après 24 heures, le séchage est complet, le démoulage immédiat, et l'on peut découper à l'aide d'une scie à ruban les blocs séparant individuellement les otolithes incluses.

* Réalisation des coupes et préparation des demi-blocs et des lames minces

Chaque bloc est coupé en deux à l'aide d'une scie circulaire diamantaire à vitesse lente (fig. 4). La coupe est transversale et passe par le nucléus repéré par transparence. Le demi bloc monté sur l'étau de la scie est légèrement poncé (papier abrasif de grain 1200) et poli à la main à l'aide d'un mélange eau + alumine (3 μm) sur un feutre de polissage.

Ce même demi bloc fixé est alors collé sur une lame avec une colle rapide à l'ester de cyanoacrylate. L'ensemble est ensuite repositionné sur la scie et l'on opère de façon à obtenir des coupes d'épaisseur variant entre 200 et 300 μm .

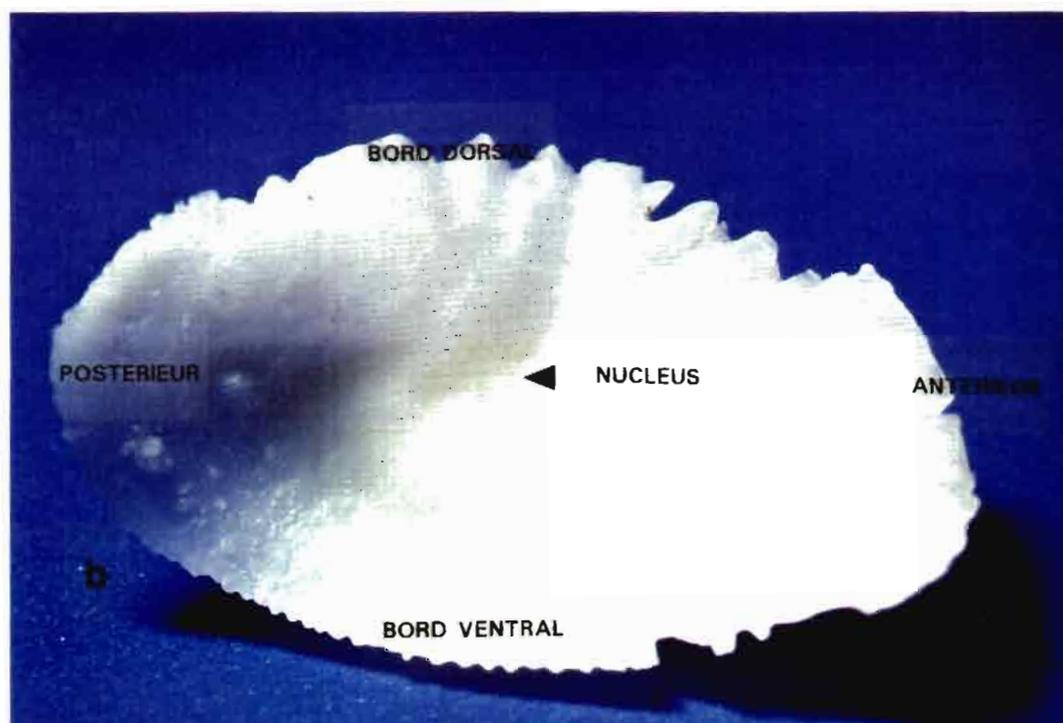
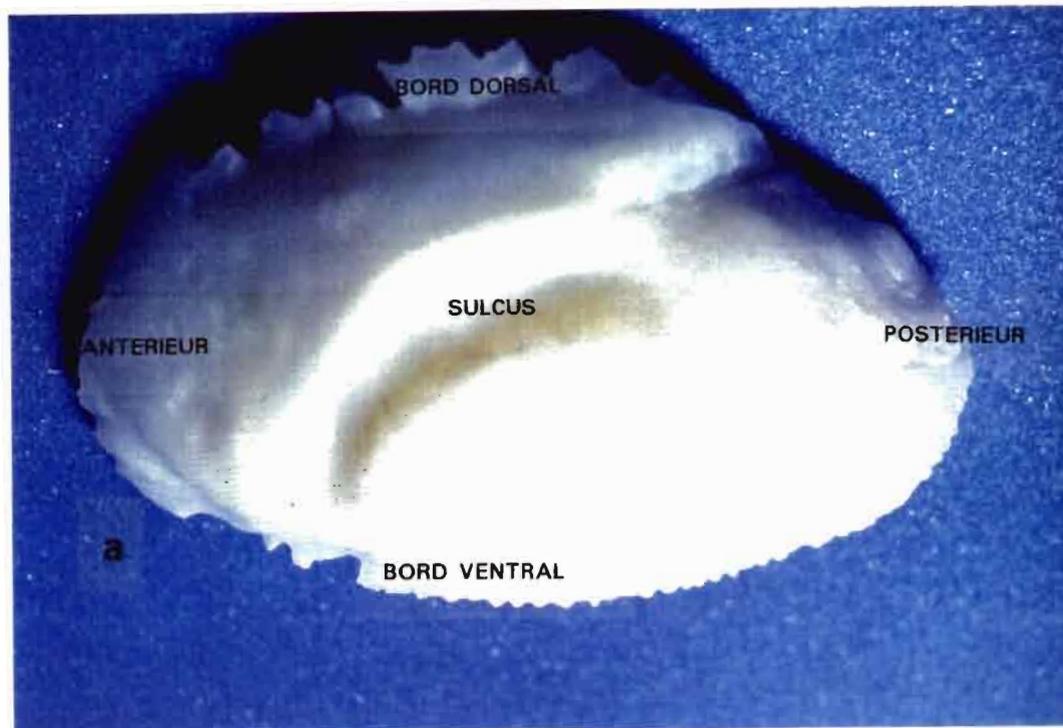


Figure 3 : Otolithe sagitta droite de *Lutjanus sebae*.
a - face proximale.
b - face distale.

Les lames minces sont polies comme précédemment³ puis attaquées à l'EDTA (acide éthylène diamine tétracétique, complexant du calcium) pendant environ 30 secondes et rincées abondamment à l'eau. On peut noter que l'obtention d'un niveau de polissage correct par la méthode utilisée, en vue d'une lecture en analyse d'image nécessite 20 à 60 minutes de manipulations pour chaque lame mince.

Le demi bloc restant est poncé et poli, puis attaqué entre 5 et 10 minutes avec du HCl à 1 %. Pour mettre en évidence les annuli peu marqués, nous avons procédé à divers essais : coloration par l'hématoxyline d'Ehrlich ou le bleu de toluidine, éclaircissement par l'essence de camomille.

II.2. Description du matériel et du logiciel d'analyse d'image utilisés

L'analyse d'image est un outil actuellement en plein développement dans le cadre de la lecture de l'âge des poissons (Troade, 1987 ; Panfili *et al*, 1989). Son principe consiste en la numérisation par des moyens informatiques d'une image vidéo, obtenue par exemple au travers d'un microscope, afin d'en extraire des informations (après ou non modification par traitements numériques). L'image correspond à une matrice de "points images" appelés pixels. A chaque pixel est associée une valeur d'intensité lumineuse, le niveau de gris, variant de 0 = noir jusqu'à 255 = blanc.

Considérons une image numérisée, nous sélectionnons sur cette dernière un axe de lecture, constitué par un ensemble de pixels. Il est alors possible d'extraire le profil de cet axe, c'est à dire la valeur des intensités en niveau de gris de chaque pixel le long de l'axe (fig. 5 a,b).

II.2.1. Données techniques concernant le matériel

Le schéma du système d'analyse d'image utilisé est présenté sur la figure 6. Les différents constituants sont les suivants :

- caméra CCD SONY (TM) modèle DXC-101P ;(512 * 512 pixels),
- adaptateur caméra SONY (TM) CMA-D1CE (alimentation),
- moniteur vidéo NEC (TM) JC-1402HME,
- micro-ordinateur PC-AT équipé d'un disque dur de 20 Mo, avec en interface à l'unité centrale une carte graphique haute résolution et un convertisseur analogique / numérique,
- microscope OLYMPUS (TM) CHA équipé d'un tri-oculaire BH-TR30 (objectifs 4x , 10x, 40x, 100x), d'un oculaire photo FK3, 3x, d'un adaptateur pour oculaire FK, PM-ADF et d'un adaptateur vidéo MTV-3,
- pour les observations "macroscopiques", on dispose d'un objectif caméra COMPUTAR (TM) 25 mm ; de tubes allongés BEAULIEU CINEMA (TM) R16 de 3, 2, 1 cm permettant des grossissements respectifs de 37x, 25x, 13x.

Le programme permettant l'acquisition de l'image numérisée sur le moniteur vidéo, "LIVID.EXE", occupe une place mémoire de 94 Ko ; celui de lecture et copie du fichier de sauvegarde "TSFICH.EXE", 68 Ko.

3. La lame est maintenue par une petite ventouse qui permet d'effectuer le polissage par des mouvements de rotation-translation.

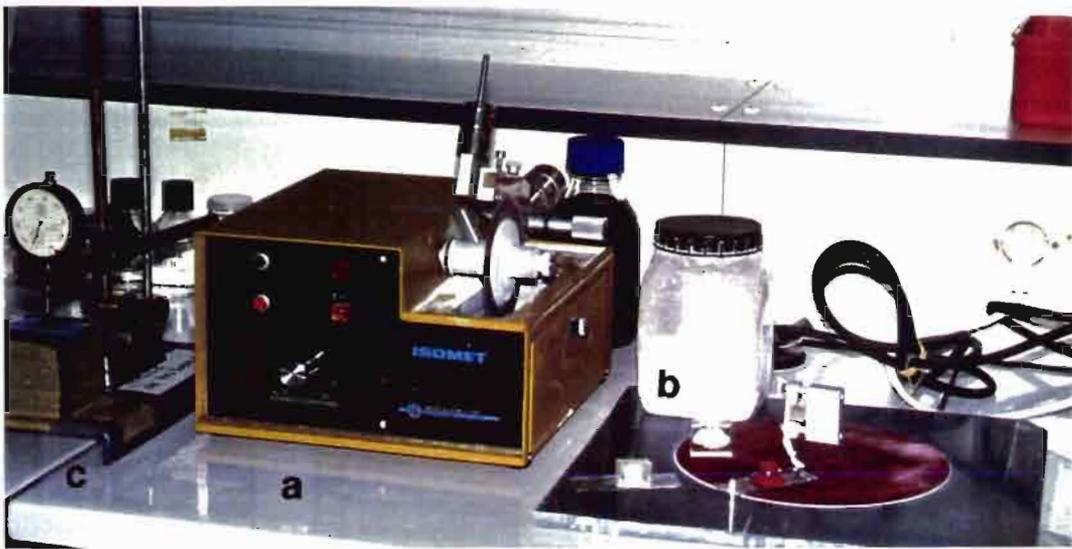


Figure 4 : Matériel pour la préparation des coupes.
 (légende : a, scie diamantaire ; b, matériel de polissage, étapes de
 préparation ; c, comparateur pour contrôler l'épaisseur des coupes).

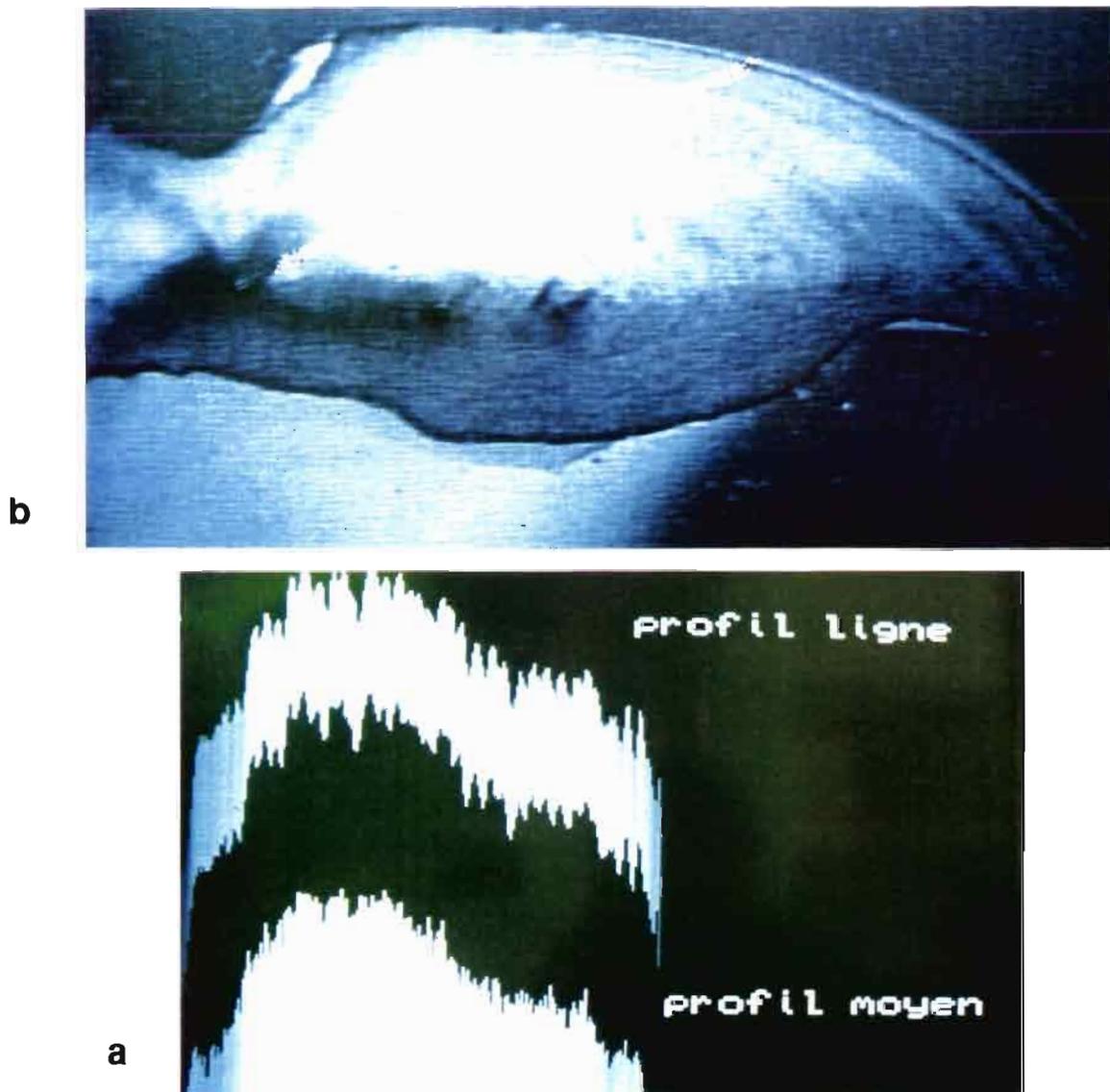
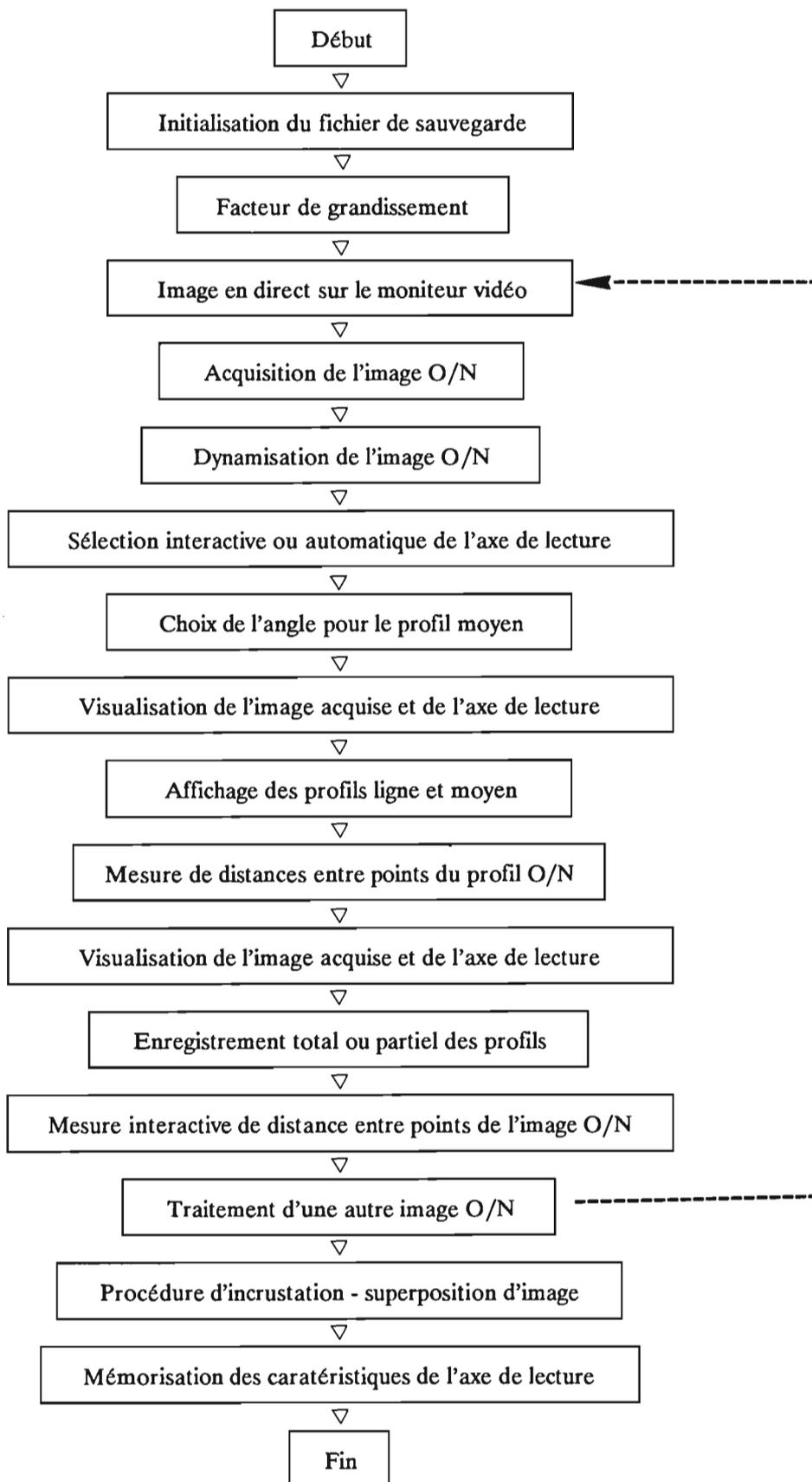


Figure 5 : Extraction de l'information sur une image numérisée
 a - Image acquise avec l'axe de lecture.
 b - Les profils correspondants.

Tableau I : Organigramme simplifié du programme permettant l'acquisition de l'image, les mesures, et l'enregistrement des profils (menus et choix disponibles non détaillés).



II.2.2. Présentation du logiciel

Le logiciel utilisé a été conçu et développé par C. GRIL (laboratoire de Microscopie Electronique de l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc, USTL). Ce logiciel, initialement exploité en scalimétrie et otolithométrie pour la lecture de stries saisonnières (annuli), a subi des modifications en cours d'étude afin d'être mieux adapté à la spécificité du travail demandé. Son principe de fonctionnement est résumé dans l'organigramme présenté sur le tableau I.

Parmi les caractéristiques importantes ayant été rajoutées à la configuration de base du logiciel, on peut citer :

- la possibilité de garder une direction de l'axe de lecture constante sur plusieurs champs successifs, ceci sans disposer d'une commande numérique de la platine du microscope [1],
- la possibilité d'effectuer une dynamisation de l'image, afin de réhausser les contrastes faibles en microscopie optique à fort grossissement par exemple [2],
- la possibilité, une fois les profils de lectures (profil ligne et profil moyen) acquis à partir de l'image, d'en sauvegarder la totalité ou une partie dans un fichier [3].

[1] Ceci a été rendu possible en utilisant la procédure décrite ci-dessous : une zone de l'image dont le centre est le point extrémité du dernier axe sélectionné est mise en mémoire et une incrustation de cette image est ensuite effectuée automatiquement à gauche de l'écran vidéo. Il est alors possible à l'opérateur de superposer l'image vidéo "en direct" à l'image incrustée avant de valider l'opération (fig. 7). Après validation, on passe à l'observation suivante, pour laquelle on peut rappeler automatiquement les coordonnées des points extrémités de l'axe précédent (ou éventuellement conserver le point origine et choisir un autre point extrémité à l'aide de la souris en changeant ainsi la direction de lecture).

[2] A l'aide de la souris, on va sélectionner deux fenêtres sur l'image acquise : dans la première le niveau de gris minimum est recherché, dans la seconde, le maximum. Schématiquement, ces deux valeurs sont alors prises comme références et toute la gamme des intensités en niveau de gris est redistribuée entre ces deux bornes, ce qui a pour effet d'augmenter les contrastes et de dilater l'échelle des ordonnées sur les profils.

[3] Le choix de cette option s'effectue sur l'image acquise sur laquelle est représenté l'axe de lecture. On pointe avec la souris sur l'axe de lecture, les extrémités de la zone à sauvegarder. Dans le fichier de sauvegarde, on stocke les informations suivantes (tab. II) : numéro de "l'objet" (depuis le lancement du programme), angle entre l'axe et l'horizontale de l'écran, nombre de pixels de la ligne vidéo enregistrée, taille du pixel en μm , les valeurs des intensités en niveau de gris du profil ligne et du profil moyen établi à partir de 5 lignes parallèles (le profil ligne plus deux situés de part et d'autre du profil ligne).

Tableau II : Structure du fichier de sauvegarde des profils.

Nenr	Npix	Dpix	Angh	Linf	Lsup					
1	253	0.16	0.432	1	251					
N° Pix	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ndg	153	155	158	165	187	178	159	176	187	188
N° Pix	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Ndg	190	185	183	177	170	165	160	152	170	172

Légende :

Nenr : no de l'enregistrement ;
 Npix : nb de pixels de la ligne vidéo ;
 Dpix : taille du pixel en μm ;
 Angh : angle avec l'horizontale de l'écran en radian ;
 Linf : limite inférieure de sauvegarde ;
 Lsup : limite supérieure de sauvegarde ;
 Ndg : intensité en niveau de gris.

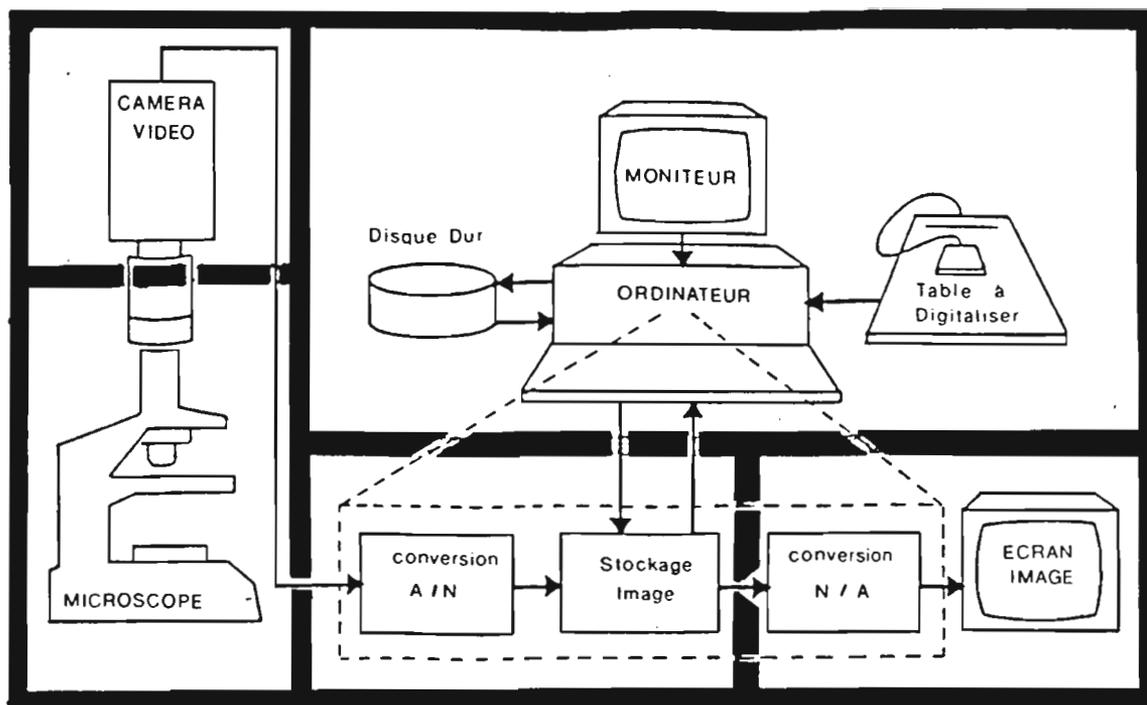


Figure 6 : Schéma du dispositif d'analyse d'image .
(A : analogique ; N : numérique).

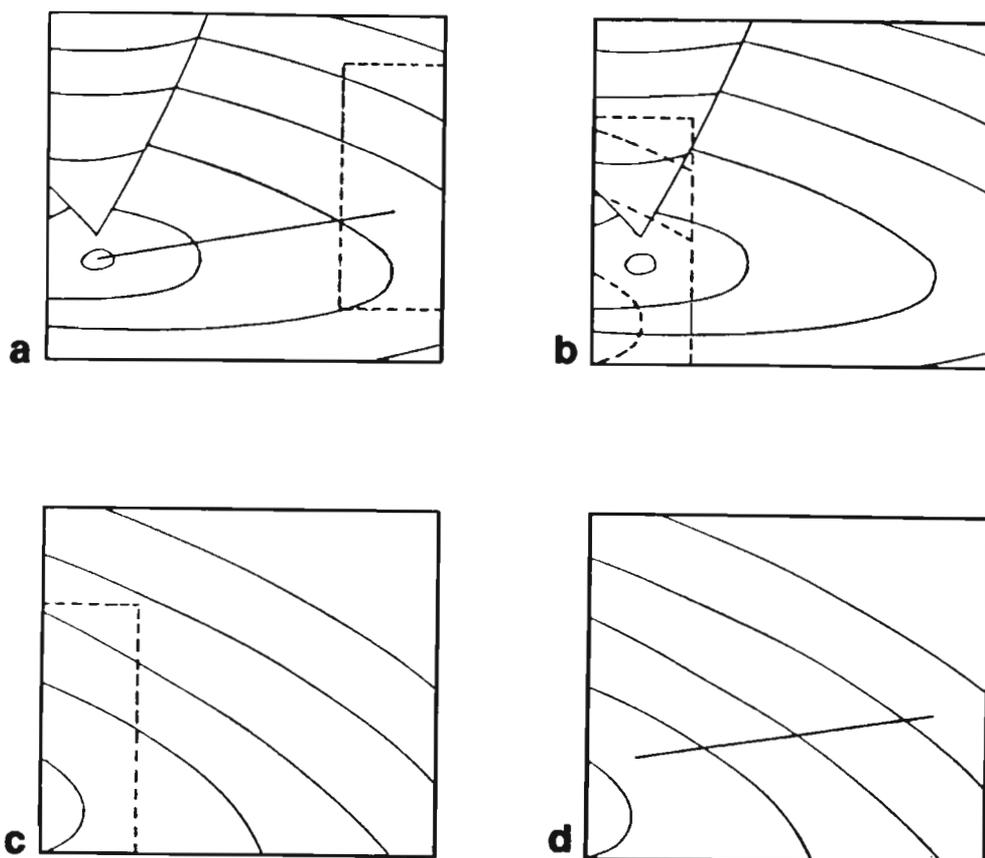


Figure 7 : Etapes de la procédure "incrustation - superposition".
a - mémorisation d'une fenêtre image ;
b - incrustation de l'image ;
c - superposition des images ;
d - rappel du dernier axe de lecture.

II.3. Rétrocalcul d'une taille associée à un annulus

II.3.1. Rappels sur l'approche classique du rétrocalcul de la taille en otolithométrie

L'établissement de la clef âge-taille à partir de l'étude des stries saisonnières (annuli) nécessite la connaissance de la relation entre la taille de l'otolithe et la taille du poisson, ainsi que la période de formation des stries. On effectue les mesures du rayon de l'otolithe (distance du centre du nucléus au bord de l'otolithe) et des rayons correspondant aux annuli observés.

A l'aide de ces mesures, on calcule la relation entre le rayon de l'otolithe X et la taille du poisson Y . Les relations observées peuvent être de la forme : $Y = aX$, $Y = aX + b$, $Y = bX^a$, pour citer les plus utilisées. Connaissant la relation rayon de l'otolithe - taille du poisson, le calcul rétrospectif nous permet de calculer quelle était la taille du poisson lors de la formation des différentes stries observées.

II.3.2. Modélisation du contour de la zone de lecture de l'otolithe, application au rétrocalcul de la taille des poissons

La zone de lecture sur une coupe transversale d'otolithe est définie par rapport au grand axe (fig. 8), qui relie le centre du nucléus à l'extrémité du bord ventral.

Lors de l'observation des coupes transversales de sagitta, il est rapidement apparu que :

- la zone proche du grand axe était très confuse au niveau des macrostructures et illisible en ce qui concerne les microstries,
- les annuli existants présentaient en règle générale des discontinuités telles que certains n'étaient plus identifiables le long d'un axe de lecture donné.

Il devenait donc impossible de travailler en choisissant un axe standard de lecture d'une part pour les annuli à partir de l'observation des demi blocs, d'autre part pour l'observation des microstries sur lame mince.

Compte tenu de la forme du contour de la zone de lecture adoptée, nous avons envisagé l'ajustement d'une ellipse. En choisissant comme référence le grand axe de la coupe de l'otolithe, nous définissons les coordonnées polaires (r, α) d'un point du contour de l'otolithe qui définissent un axe de lecture (fig. 9) par deux variables :

- α = angle entre l'axe de lecture et le grand axe de la coupe,
- r = distance entre le nucléus et le bord du contour le long de cet axe.

Rappelons l'équation générale d'une ellipse :

$$x^2/a^2 + y^2/b^2 = 1 \quad (1) \quad \text{où}$$

- x, y sont respectivement l'abscisse et l'ordonnée d'un point de l'ellipse dans un repère orthonormé ayant pour origine le centre de l'ellipse,
- a et b sont respectivement les mesures des grand et petit axes de l'ellipse (fig. 9).

Soit, en utilisant les coordonnées polaires : $x = r \cdot \cos \alpha$ et $y = r \cdot \sin \alpha$, l'équation (1) devient :

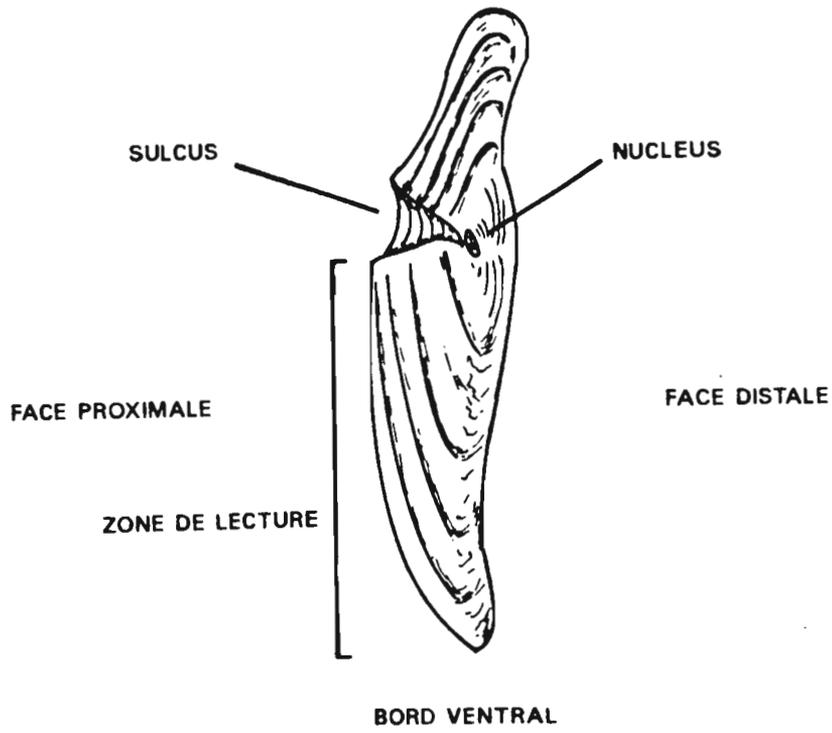


Figure 8 : Schéma d'une coupe d'otolithe sagitta droite de *Lutjanus sebae*.

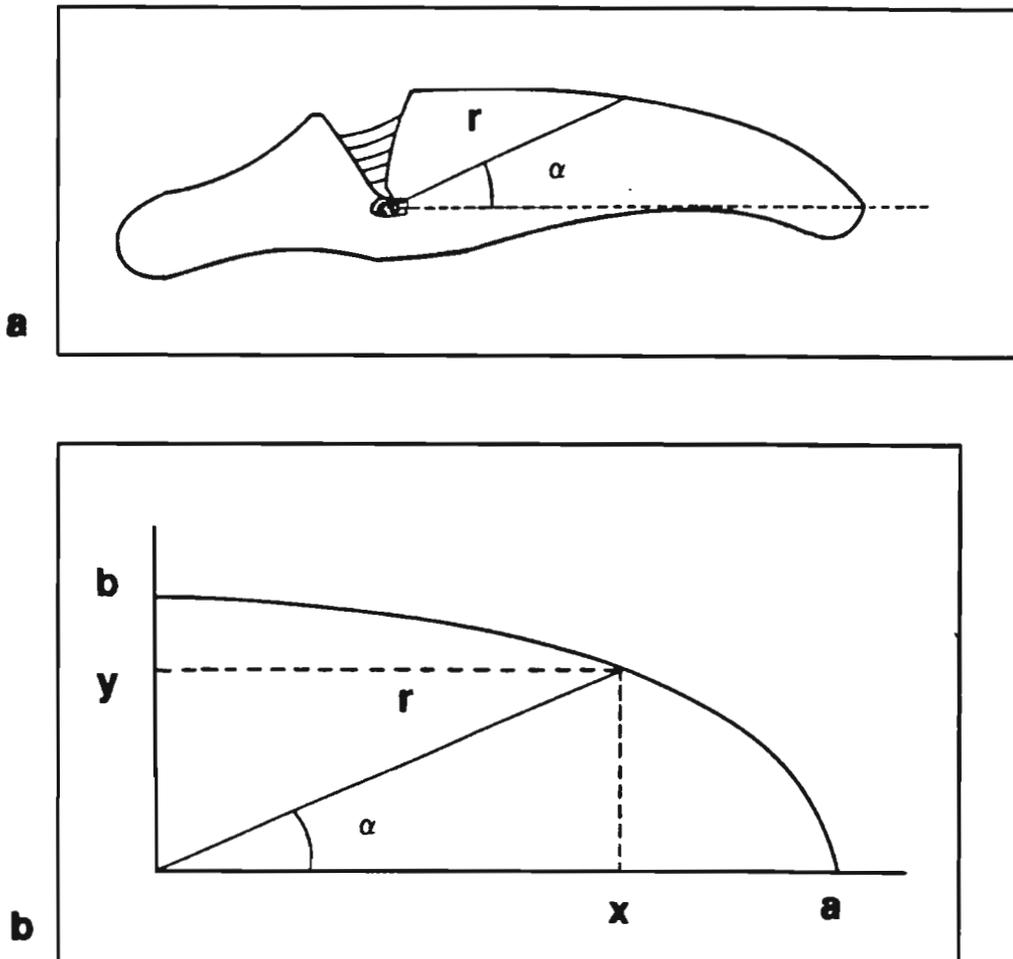


Figure 9 : Repérage des coordonnées polaires d'un point de mesure (a), analogie avec le modèle elliptique (b).

$$(r.\cos\alpha)^2/a^2 + (r.\sin\alpha)^2/b^2 = 1 \quad (2)$$

L'ajustement d'un modèle elliptique (méthode des moindres carrés non linéaires) aux couples (r, α) mesurés sur les coupes transversales d'otolithes de poissons de taille connue (LF) conduit à l'estimation des paramètres a et b de l'ellipse associée à chaque otolithe.

On obtient ainsi un tableau de données (LF_i, a_i, b_i) qui nous permet de calculer les relations du type $a = f_a(LF)$ et $b = f_b(LF)$.

L'équation (2) prend alors la forme :

$$(r.\cos\alpha)^2/f_a(LF)^2 + (r.\sin\alpha)^2/f_b(LF)^2 = 1 \quad (3)$$

soit encore :

$$f_b(LF)^2.(r.\cos\alpha)^2 + f_a(LF)^2.(r.\sin\alpha)^2 = f_a(LF)^2.f_b(LF)^2 \quad (4)$$

Nous obtenons ainsi une expression du type $f(L) = f(L, r, \alpha)$ dans laquelle les paramètres a et b ont été éliminés qui permet, connaissant les mesures de r et α , le rétrocalcul de la taille à partir d'une méthode itérative.

II.3.3. Exploitation des lectures des microstries à partir du rétrocalcul

Dans le but d'une estimation de l'âge à partir du comptage des stries supposées journalières (microstries), nous envisageons l'utilisation de la méthode de la "densité des stries" (Ralston, 1976, 1985; Baillon, 1986, 1988; Ralston et Williams, 1989). Elle consiste à effectuer des comptages de microstries sur des zones restreintes le long d'un axe de lecture donné. Elle nécessite la mesure de la distance de la zone considérée au nucléus, la mesure de la largeur de cette zone et le comptage des stries observées.

La densité de stries (D) pour une zone donnée est définie par le rapport: nombre de stries / largeur de la zone, et est associée à la distance (R) entre le centre de la zone et le nucléus. On établit alors une relation entre D et R , qui par intégration donne le nombre total de stries estimée pour une otolithe de rayon (R) que l'on supposera identique à l'âge en jours du poisson.

Pour la présente étude, nous avons déjà évoqué la difficulté de disposer d'un axe standard de lecture. Nos mesures de densité de stries étant effectuée selon des directions variables, il s'avère nécessaire de standardiser les données acquises afin de pouvoir ajuster une relation $D = f(R)$. Pour cela, nous choisirons un axe défini par son angle α_0 avec le grand axe de référence, auquel seront rapportées toutes les mesures de densité.

La méthode envisagée repose sur la relation établie entre LF, r et α qui nous permet d'estimer la valeur d'une des trois variables lorsque deux sont connues (observées et/ ou estimées).

Considérons un segment de mesure i le long d'un axe défini par son angle α_i avec le grand axe de la coupe. La largeur de ce segment est égale à $(r_{2i} - r_{1i})$ où r_{1i} et r_{2i} sont respectivement les distances entre le nucléus et les bornes inférieure et supérieure de ce segment.

Le couple (D_i, R_i) sera donc défini par :

$D_i = \text{nombre de stries} / (r_{2i} - r_{1i})$ et

$R_i = r_{1i} + [(r_{2i} - r_{1i})/2]$

Comme la mesure de l'angle α_i est très difficile (observations microscopiques), nous préférons estimer sa valeur par résolution numérique de l'équation $f(LF, r, \alpha)$ où :
 $r = \text{rayon mesuré entre le nucléus et le bord de l'otolithe pour un angle } \alpha_i,$
 $LF = \text{taille du poisson.}$

Pour l'estimation de la densité des stries associée à une zone i nous connaissons les (r_{1i}, α_i) et (r_{2i}, α_i) nous permettant de calculer les tailles théoriques LF_i correspondant aux bornes du segment de mesure.

Il nous est alors possible de calculer le rayon théorique R_i correspondant à LF_i pour un angle standard α_0 en écrivant à partir de l'équation (2) :

$$R_i = 1 / ([(\cos \alpha_0)^2 / f_a(LF_i)^2] + [(\sin \alpha_0)^2 / f_b(LF_i)^2])$$

Les données ayant toutes été standardisées par rapport à la direction α_0 , on peut rechercher le modèle ajusté au nuage des couples de points (D_i, R_i) .

Pour décrire la relation entre D et R , Baillon (1986) utilise une fonction du type :

$$\ln(D) = c.R + d \quad \text{soit} \quad D = f(R) = \exp(c.R + d)$$

Le nombre total de strie N estimé pour une otolithe de rayon R s'obtient par intégration de la fonction $f(R)$:

$$N = \int_0^{R_i} f(R) dr = \int_0^{R_i} \exp(cR + d) dr = [(\exp(cR + d)/c)]_0^{R_i}$$

En considérant que $N = 0$ quand $R = 0$, on obtient :

$$N = (1/c) [\exp(cR_i + d) - \exp(d)]$$

Une autre méthode a été appliquée par Ralston (1976, 1985) et Ralston et Williams (1989). Elle consiste à diviser le rayon de l'otolithe en n intervalles de taille constante R . Pour chacun de ces intervalles, la densité de stries moyenne D_n est calculée. Ainsi pour un intervalle n donné, le nombre de stries est $N_n = D_n * R$, et le nombre total de stries s'obtient par sommation de ces n estimations.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Observations pratiques et méthodologiques concernant le matériel biologique étudié et les moyens d'investigations employés

III.1.1 Problèmes techniques de préparation et d'observation

* Lecture des annuli

Des demi-blocs poncés, polis et attaqués (cf. § II.2) ont été colorés pendant deux heures et trente minutes avec du bleu de toluidine à 1%, puis observés recouverts d'un film d'eau en lumière réfléchi (incidence rasante). Le rajout d'un film éclaircissant d'essence de camomille sur le plan de coupe a aussi été testé.

Lors des observations, les difficultés suivantes ont été rencontrées :

- la coloration au bleu de toluidine est relativement labile et non uniforme,
- les coupes ayant été effectuées à partir d'otolithes incluses dans une résine transparente (indispensable pour le repérage du nucléus) on note les effets d'une réflexion parasite de la lumière par les parties incluses dont il est difficile de s'affranchir,
- les stries (surtout les stries marginales) des individus âgés sont difficiles à mettre en évidence.

Ces difficultés ont conduit aux résultats suivants: sur 70 observations de section d'otolithes (colorées ou non), des mesures potentiellement exploitables ont été effectuées sur 53 d'entre elles. Finalement, seulement 33 lectures ont pu être exploitées dans le cadre de la détermination d'une clé âge - taille.

* Lecture des microstries

Pour la lecture des microstries effectuée à partir des lames minces, plusieurs limitations techniques dues d'une part à la structure et/ou la préparation des coupes, d'autres au matériel d'analyse d'image utilisé, sont apparues.

La mise en évidence fréquente de plusieurs noyaux (ou centres d'incrémentation) par nucléus introduit une certaine subjectivité quand au positionnement du centre du nucléus (ce problème reste à considérer dans les cas des mesures d'annuli à faible grossissement). Ce phénomène a déjà été observé chez un autre lutjanidé, *Pristipomoides filamentosus* (Radtke, 1987) et pour d'autres espèces de poissons (Radtke et Dean, 1982).

Selon un axe de lecture donné, on rencontre fréquemment un grand nombre de zones inexploitable.

La zone proche du nucléus est mécaniquement plus fragile et la coupe à la scie diamantaire occasionne des irrégularités (creux, cassures) qui ne peuvent être éliminées par le ponçage et le polissage.

La zone correspondant au grand axe de la coupe (valeurs de l'angle α comprises entre 0 et 10 voire 15 degrés) n'est pas lisible à l'exception des régions proches du nucléus (fig. 10 a,b). En revanche, ces dernières seront difficiles à observer par ailleurs, car les axes de lecture utilisés passent le plus souvent par le début du sulcus.

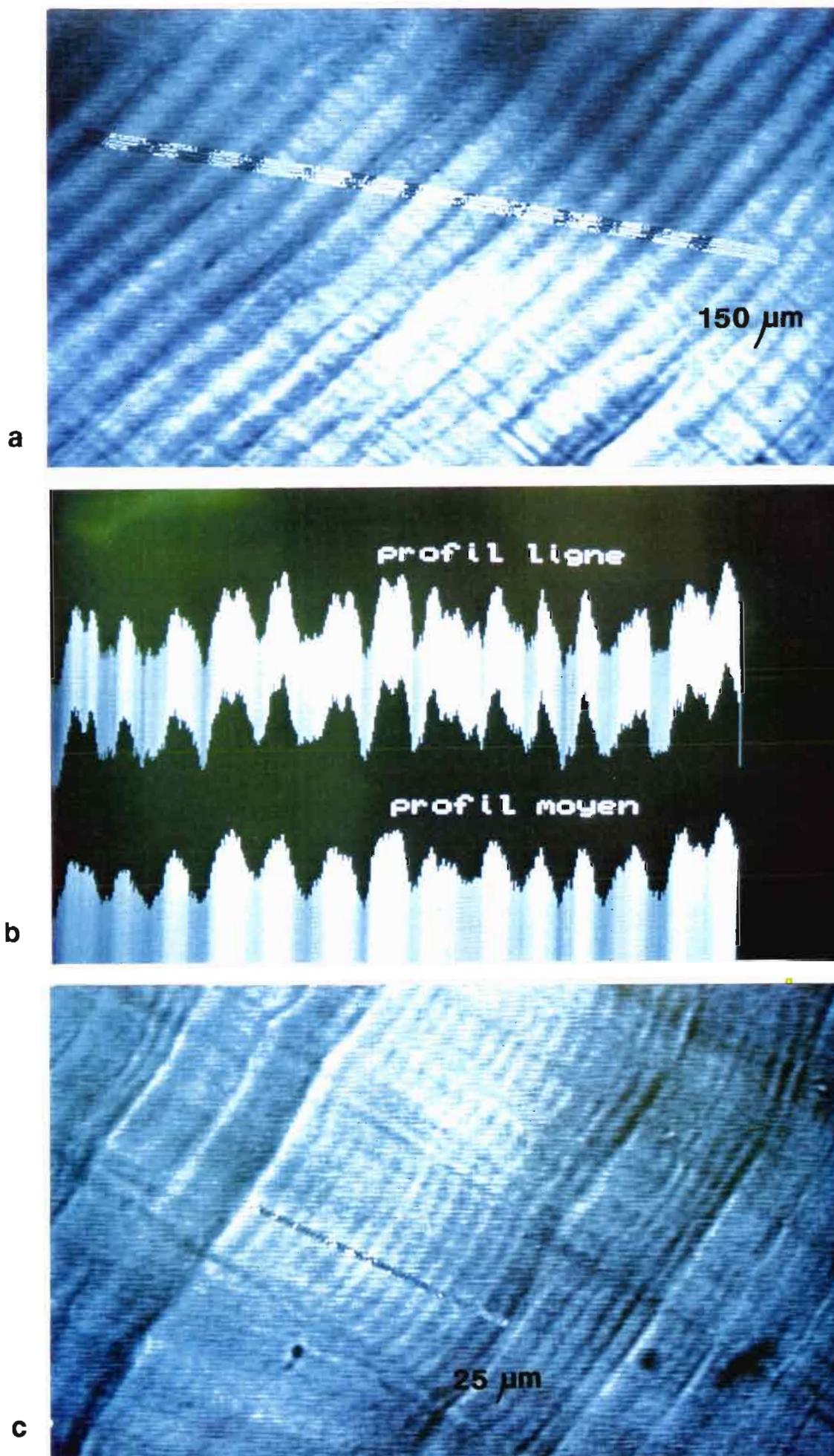


Figure 10 : Microstries nettes et larges à proximité du nucleus (a), profils correspondants (b). Microstries marginales (c), (conditions proches des limites de résolution).

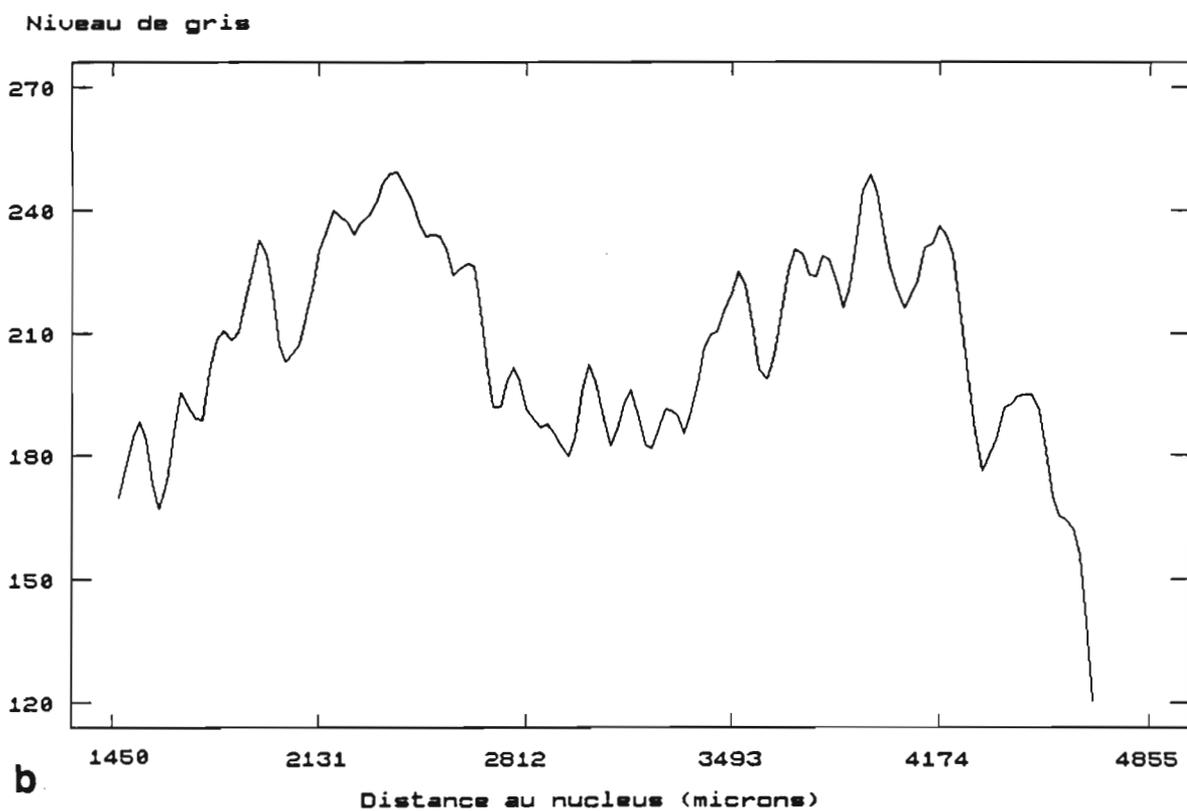
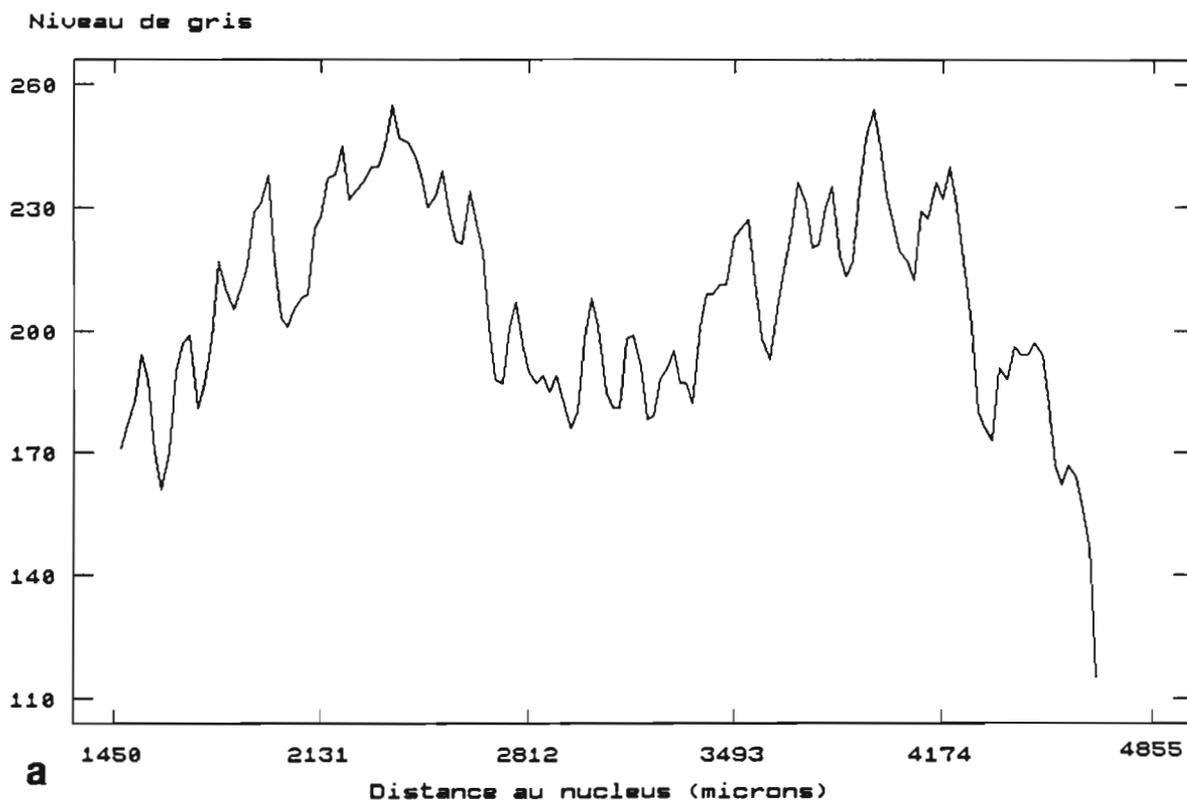


Figure 11 : Lecture d'annuli sur un demi-bloc coloré.
a - profil ligne original enregisté ;
b - profil lissé par une moyenne mobile sur 3 points.

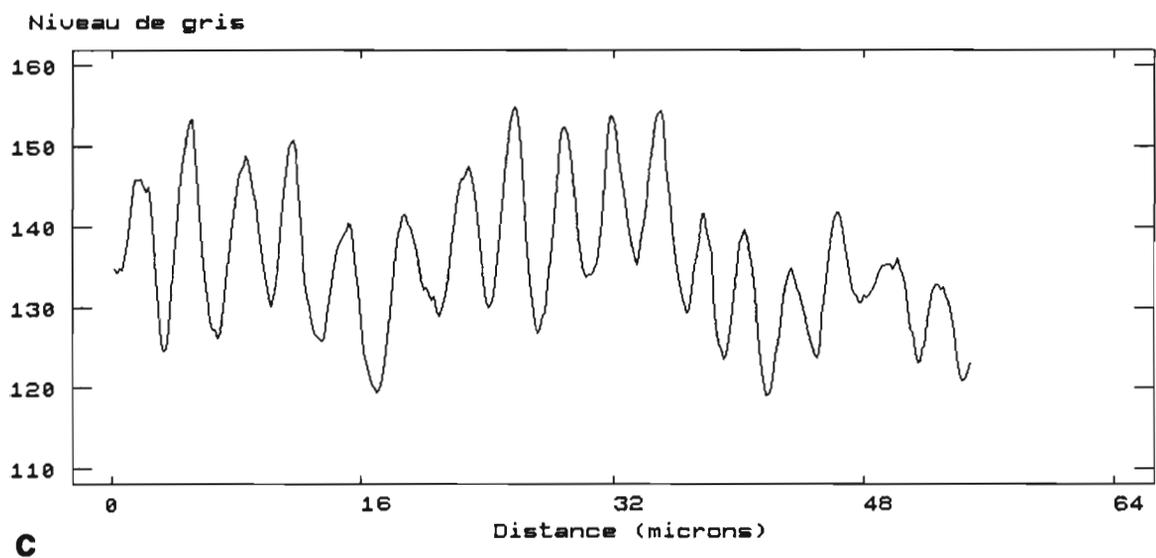
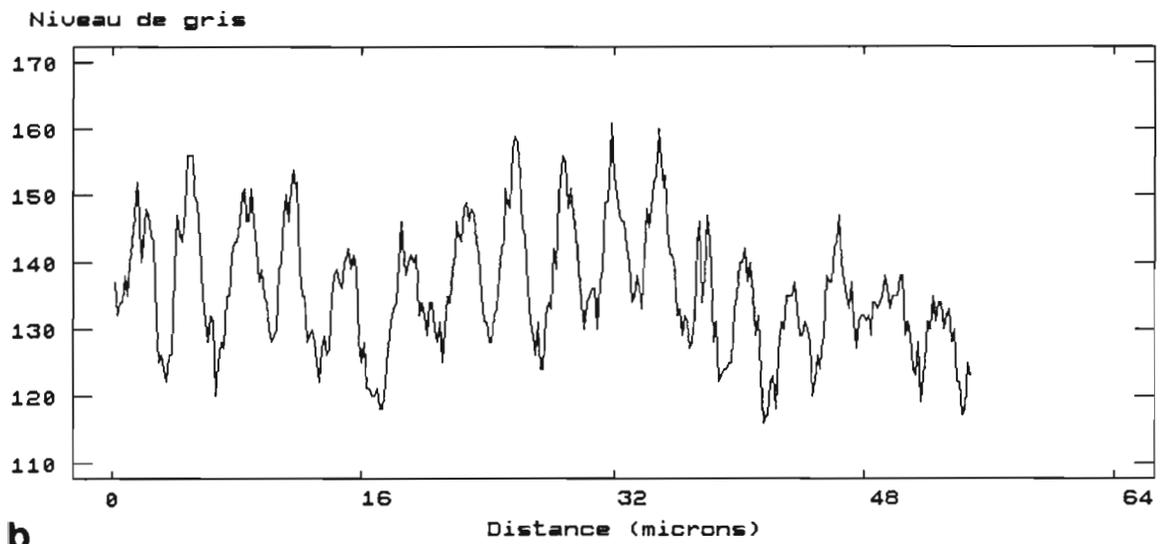
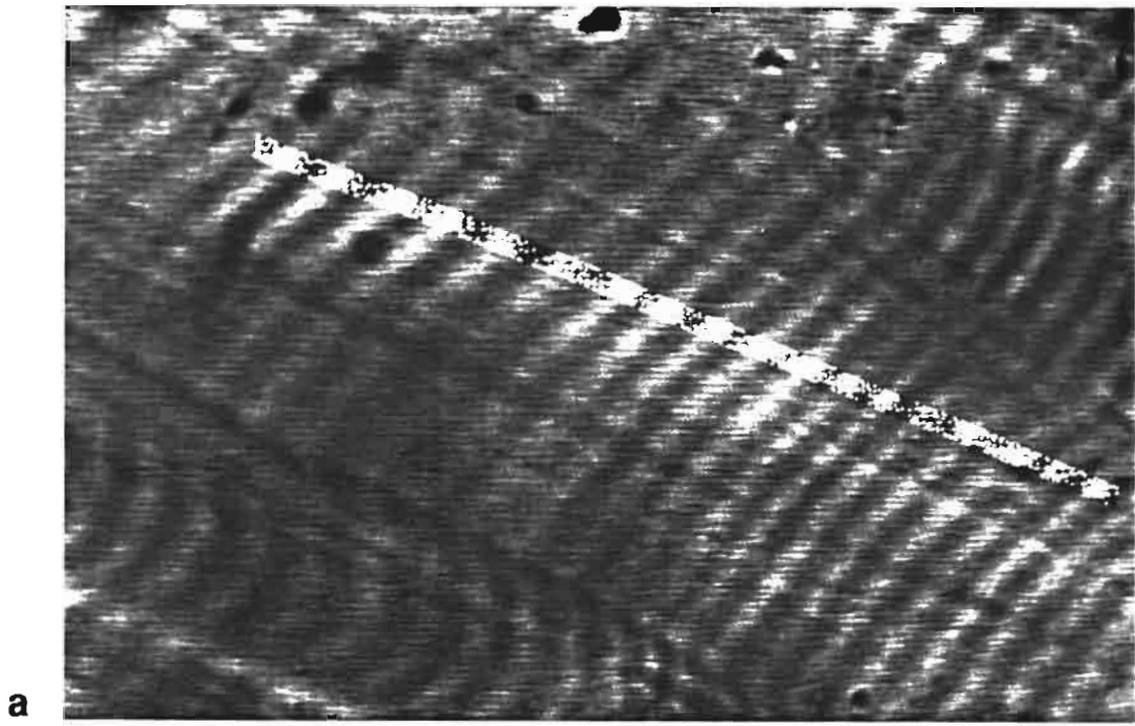


Figure 12 : Microstriations observées à l'objectif 100X, profils correspondants.
 a - image acquise avec axe de lecture ;
 b - profil moyen original ;
 c - profil lissé par une moyenne mobile sur 5 points.

Le processus de calcification des otolithes engendre des irrégularités analogues à des stries radiales plus ou moins perpendiculaires aux microstries qui restent apparentes après polissage. Suite aux effets de l'éclairement (contraste, ombrage), ces irrégularités ont une "réponse numérique" sur un profil semblable à celle d'une microstrie et sont donc susceptibles d'introduire un biais non négligeable lors de l'exploitation des profils enregistrés.

Lorsque la densité de stries devient importante (zones marginales d'individus âgés, zones de ralentissement de croissance), on atteint les limites de la résolution en microscopie photonique (ce qui correspond à une distance entre microstries inférieure à un micron), (fig. 10 c). Le contraste étant faible, il est nécessaire d'utiliser une lumière telle que l'image vidéo apparaît surexposée (bruits électroniques visualisés par des bandes verticales au niveau de l'écran). L'information enregistrée au niveau des profils est par conséquent biaisée.

III.1.2 Apports et limites de la technique d'analyse d'image utilisée

L'opération incrustation - superposition d'image rend possible, avec une précision acceptable (léger biais dû à la superposition), la lecture des stries sur un même axe. Cet ouvrage reste long et laborieux. Pour balayer un axe de 4500 μm , il est nécessaire de faire succéder 40 ou 90 champs en utilisant respectivement les objectifs 40X et 100X du microscope, ce qui est difficilement acceptable en routine. Pour une coupe, cette succession de champs a été réalisée. Les observations de microstries à proximité du nucléus sont réalisées au grossissement 40X sur une dizaine de champs à proximité du nucléus et à 100X pour les suivants (ce qui correspond à un grossissement de 3333X sur le moniteur vidéo).

Se pose alors le problème du changement d'échelle et des erreurs qui lui sont associées. On admet que la direction de l'axe de lecture est conservée et que les centres des champs aux deux grossissements sont superposables.

Cette procédure difficile à mettre en oeuvre pour de grandes otolithes pourrait être utilisée avec profit pour des otolithes de petite taille de jeunes individus. En revanche, dans le cas d'otolithes de grande taille, on peut envisager l'utilisation d'une platine microscopique micrométrique à commande numérique permettant le déplacement de l'objet dans plusieurs directions avec un enregistrement des coordonnées associées à chaque champ. Nous situant dans l'éventualité d'une exploitation de l'information concernant les annuli et les microstries, la sauvegarde d'une partie du profil visualisé à l'écran permet une présélection des données qui seront analysées ultérieurement.

Par ailleurs, on montre que les zones non exploitables pour la lecture des microstries sont relativement nombreuses sur une coupe. Se limiter aux mesures réalisées selon une même direction accroît le risque de rencontre de ces zones (la proportion moyenne de champs lisibles sur un même axe a été de 1/3). Le logiciel nous permet cependant d'exploiter une image où les stries seraient invisibles sur l'axe de lecture choisi, mais observables sur un axe parallèle à ce dernier.

La dynamisation de l'image constitue une aide pour la discrimination visuelle sur l'écran vidéo des stries que l'on veut compter. Pour l'exploitation des profils enregistrés, elle contribue à accentuer les "pics" et les "creux" révélateurs de l'existence de stries. En revanche, la variabilité des conditions locales de contraste et d'éclairement conduit au choix d'échelles de dynamisation différentes pour les divers champs considérés, ce qui peut entraîner des contraintes sur le traitement des données.

III.1.3. Conséquences sur l'acquisition et l'exploitation des données

En conséquence de nos commentaires ci dessus, une lecture automatisée des annuli à partir de profil enregistrés paraît difficilement envisageable. Un exemple de profil original et lissé est représenté sur la figure 11 a et b, les mesures effectuées sur l'écran ont mis en évidence 7 annuli (ref. M16, annexe 4).

Une lecture automatique des profils pourrait être envisagée pour des otolithes ne présentant que quelques annuli après extraction de la tendance due aux effets combinés des gradients de coloration et d'éclairement décelables sur le profil. Cette opération serait suivie d'une binarisation de l'information à partir d'un seuil de niveau de gris.

Pour les profils de microstries, compte tenu de la fréquence des zones illisibles, il n'apparaît pas possible d'effectuer un enregistrement en continu sur une portion d'axe de taille supérieure à 250 μm . Nous utiliserons par conséquent la méthode de la densité des stries consistant en un comptage des microstries sur des zones restreintes le long de l'axe de lecture.

La comparaison entre les comptages directs sur l'écran et les comptages effectués à partir des profils lissés n'a pas pu être réalisée faute de temps.

L'exploitation automatisée de profil enregistrés ayant fait l'objet de traitements de type lissage, extraction de tendance peut être certainement envisagée (fig. 12 a,b,c). On peut penser à une méthode topologique qui a l'avantage de considérer une information spatiale qui nous est plus familière. Le travail sur un profil moyen est généralement préférable. Dans l'état actuel des connaissances, cette approche semble la plus fructueuse (Troadec, 1987). Cependant, les profils n'étant pas extraits dans les mêmes conditions (lumière, contraste), il sera préférable de considérer les valeurs centrées réduites de la variable intensité en niveau de gris.

Une autre approche envisageable concerne l'étude des profils au moyen de méthodes d'analyse des séries chronologiques. Etant donné la nature périodique des structures étudiées, cette approche peut se révéler riche en information.

Sa portée d'utilisation restera toutefois limitée à quelques profils sur lesquels un nombre suffisant de stries sera observé.

III.2 Obtention de l'équation permettant le rétrocalcul

III.2.1 Estimation des paramètres a et b de l'ellipse

Pour 40 sections d'otolithes extraites d'un échantillon d'individus stratifié selon la taille, des mensurations du contour de la zone de lecture définie précédemment ont été réalisées. Les rayons r ont été mesurés pour différentes valeurs de l'angle α ⁴ (annexe 1). Pour chaque section, un modèle elliptique est ajusté aux divers couples (r, α) par la méthode des moindres carrés non linéaires.

Ces ajustements conduisent à l'estimation des paramètres a et b de l'ellipse pour chaque section d'otolithe (annexe 2).

4. Le plus souvent, l'extrémité des axes pour les valeurs $\alpha = 70^\circ$ et $\alpha = 80^\circ$ se trouve dans le sillon du sulcus. Les valeurs des rayons pour ces angles ne seront évidemment pas retenues puisqu'elles n'appartiennent pas à la zone de lecture.

III.2.2 Recherche des relations $a = f_a(LF)$ et $b = f_b(LF)$

La variable taille du poisson utilisée est la longueur à la fourche (LF en cm), et on se propose de calculer la relation entre la taille et chaque paramètre a et b (exprimé en mm) de l'ellipse.

L'ajustement d'une droite de régression par la méthode des moindres carrés après transformation logarithmique des données conduit à des valeurs hautement significatives des coefficients de détermination r^2 .

Les expressions mathématiques de ces droites (fig. 13 a,b) sont :

$$\ln(a) = -0,85904 + 0,74407 \cdot \ln(LF) \quad r^2 = 87,77\%$$

$$\ln(b) = -3,55683 + 1,15722 \cdot \ln(LF) \quad r^2 = 94,27\%$$

Ces expressions peuvent respectivement s'écrire sous la forme:

$$a = 0,423568 \cdot LF^{0,74407}$$

$$b = 0,0285 \cdot LF^{1,15722}$$

L'ajustement de droites de régression au sens des moindres rectangles (modèle fonctionnel) conduit comme précédemment à des relations hautement significatives. Cependant notre démarche consistant à remplacer a et b par leurs estimations en fonction de LF nous oblige à minimiser les écarts sur la variable explicative LF. Ainsi, les relations prédictives au sens des moindres carrés seront utilisées dans les calculs ultérieurs.

Soit, en revenant au formalisme utilisé précédemment, on peut écrire :

$$a = f_a(LF) = q_1 \cdot LF^{p_1} \quad \text{avec } q_1 = 0,423568 \quad \text{et } p_1 = 0,74407$$

$$b = f_b(LF) = q_2 \cdot LF^{p_2} \quad \text{avec } q_2 = 0,0285 \quad \text{et } p_2 = 1,15722$$

III.2.3 Méthode de résolution de l'équation de rétrocalcul

L'équation (4) de l'ellipse présentée précédemment peut s'écrire :

$$U + V = q_1^2 \cdot q_2^2 \cdot LF^{2(p_1 + p_2)} \quad \text{avec}$$

$$U = q_1^2 \cdot LF^{2p_1} \cdot (r \cdot \cos \alpha)^2$$

$$V = q_2^2 \cdot LF^{2p_2} \cdot (r \cdot \sin \alpha)^2$$

soit encore :

$$LF^2 = [(U + V)/(q_1^2 \cdot q_2^2)]^{1/(p_1 + p_2)} \quad (5)$$

En remplaçant par leurs valeurs numériques les différents paramètres, on obtient une équation du type $LF^2 = f(LF^2, r, \alpha)$.

Les variables r et α caractérisant un annulus mesuré sur le demi-bloc sont introduites comme constantes dans l'équation (5).

En posant :

$$X = LF^2$$

$$A = q_1^2 \cdot (r \cdot \cos \alpha)^2 / (p_1^2 \cdot p_2^2) \quad \text{et} \quad B = q_1^2 \cdot (r \cdot \sin \alpha)^2 / (p_1^2 \cdot p_2^2)$$

nous pouvons écrire :

$$X = F(X) \quad \text{avec} \quad F(X) = [A \cdot X^{q_1} + B \cdot X^{q_2}]^{1/(q_1 + q_2)} \quad (6)$$

L'équation $X = F(X)$ est résolue numériquement par itérations successives. En prenant une valeur initiale pour LF comprise entre 20 et 80 cm, la convergence est très rapide. Le processus itératif est arrêté lorsque $|X_n - X_{n-1}| < 1$, et pour l'annulus n la taille $\sqrt{X_n}$ est retenue.

Les valeurs des LF associées à chaque couple (r, α) ayant servi à l'ajustement du modèle et calculées à partir de l'équation (5) figurent dans l'annexe 3.

III.2.4 Discussion sur les ajustements réalisés

Si l'on considère les valeurs résiduelles des rayons calculés en fonction de l'angle α de l'axe de mesure, on constate que les valeurs les plus élevées sont associées à l'angle $\alpha = 0^\circ$ qui correspond au grand axe de l'ellipse. Ces résidus traduisent une sous estimation des valeurs calculées par le modèle. A l'opposé, on observe une surestimation des valeurs calculées (résidus négatifs) pour les angles $\alpha = 5^\circ$ et 10° . En revanche, pour les valeurs des angles comprises entre 15° et 50° , les valeurs résiduelles observées traduisent une indépendance entre ces dernières et les deux variables angle et rayon considérées (fig. 14 a,b). Les estimations des rayons pour des angles inférieurs à 15° apparaissent donc biaisées. Cependant, cette démarche constitue une étape préliminaire, et il sera nécessaire d'effectuer une opération similaire sur un échantillon plus important stratifié selon la taille des otolithes.

Après transformation logarithmique des variables LF , a , b , les résidus associés aux régressions $a = f_a(LF)$ et $b = f_b(LF)$ ont été calculés. Les représentations graphiques (fig 15 a,b) traduisent une absence de tendance marquée de ces valeurs résiduelles.

L'analyse des résidus des LF rétrocalculées en fonction de l'angle α et de la taille observée LF (fig 16 a,b) conduit à des conclusions similaires à celles énoncées ci-dessus en ce qui concerne l'influence de l'angle d'observation. Pour les estimations des valeurs rétrocalculées, on constate qu'une surestimation du rayon par le modèle elliptique conduit à une sous-estimation de la taille rétrocalculée et inversement.

L'observation de valeurs résiduelles des tailles rétrocalculées supérieures à 10 cm met en évidence la nécessaire reconsidération de l'effectif et de la structure de l'échantillon qui nous permettra de mieux juger de la qualité des données impliquées dans les divers traitements présentés.

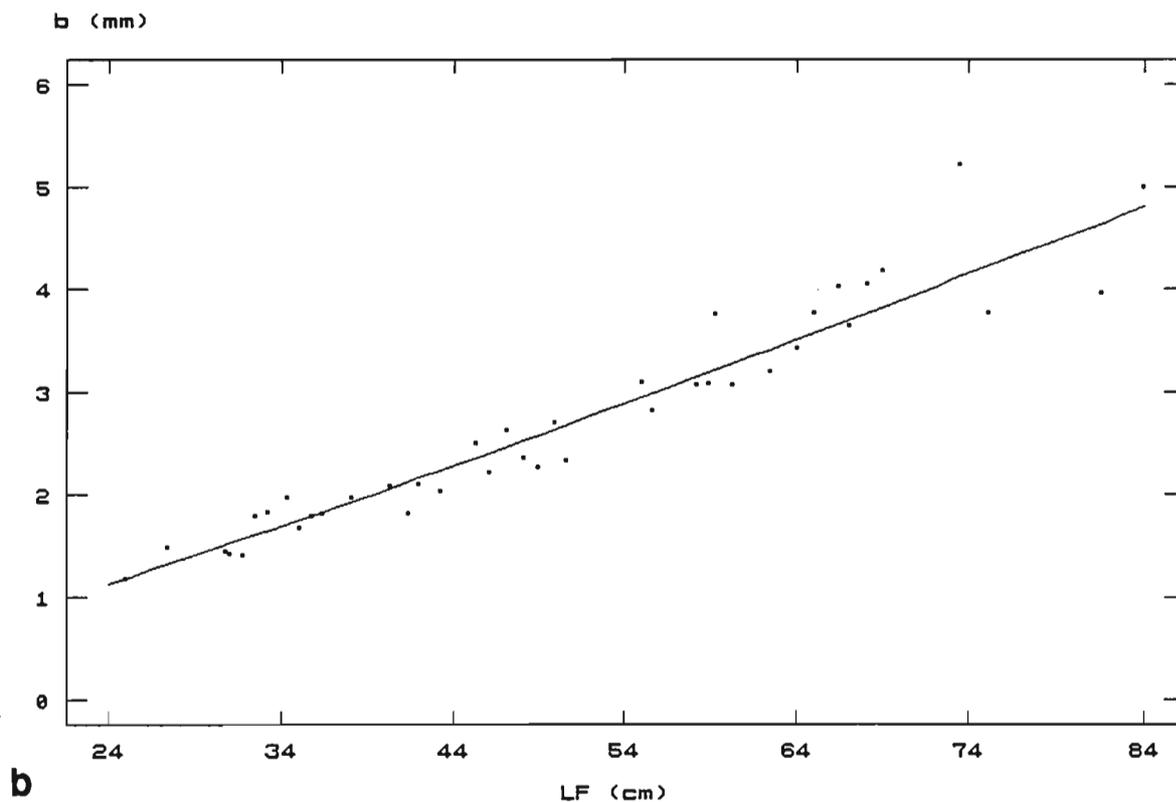
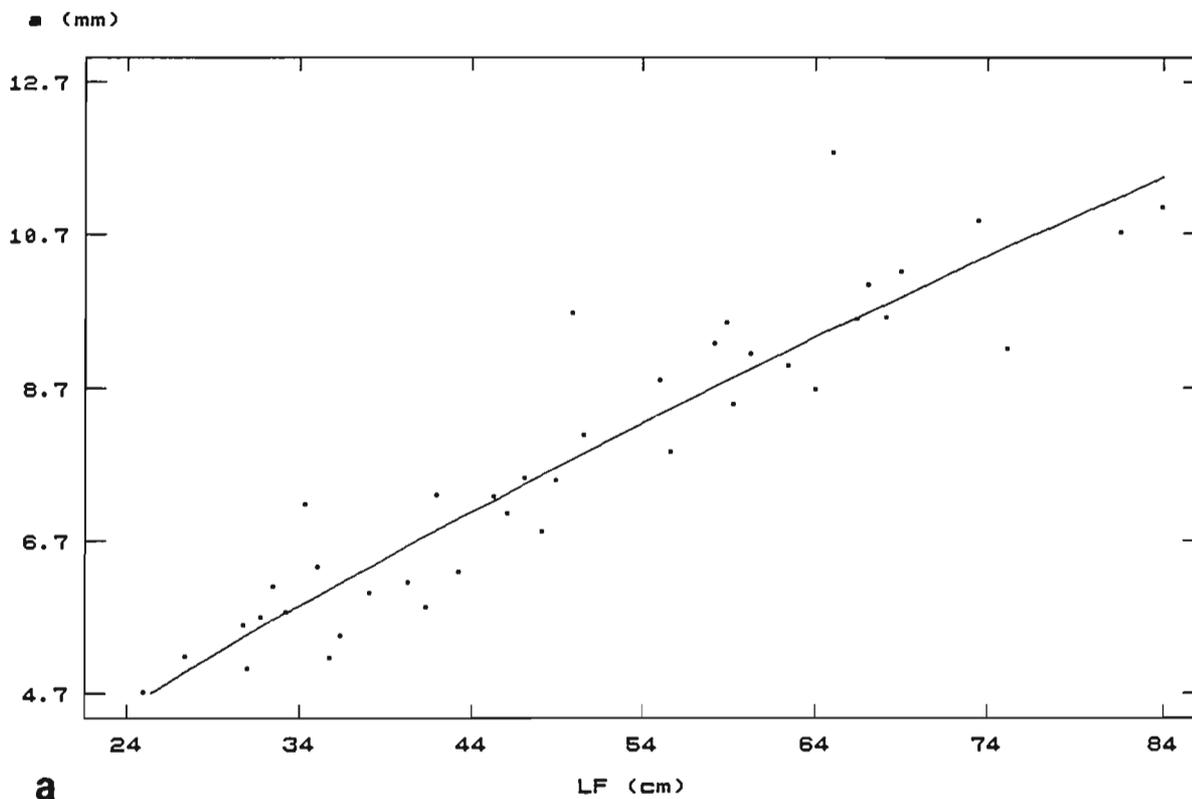


Figure 13 : Régression entre les paramètres a et b de l'ellipse et la taille LF
 a - Régression entre a, grand axe de l'ellipse et la taille LF.
 b - Régression entre b, petit axe de l'ellipse et la taille LF.

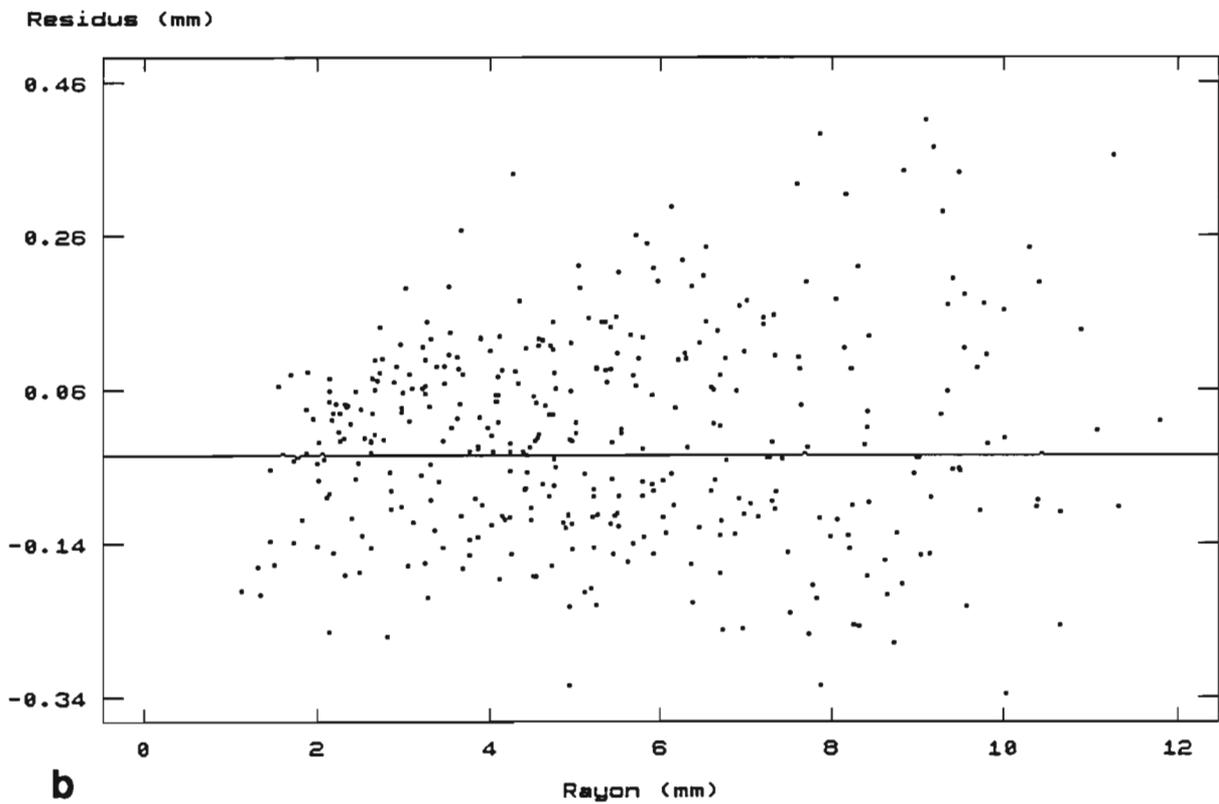
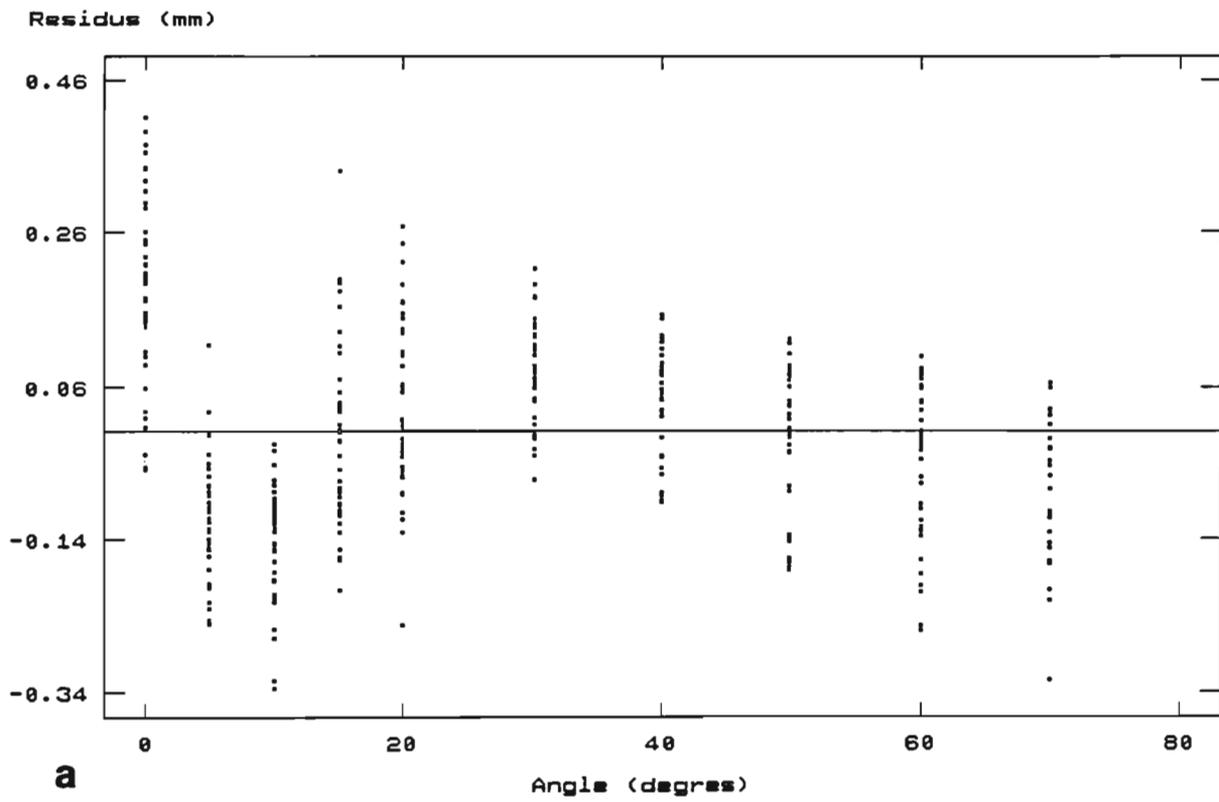


Figure 14 : Résidus sur les valeurs de rayon calculées par le modèle elliptique.
a - en fonction de l'angle α ;
b - en fonction des valeurs mesurées des rayons.

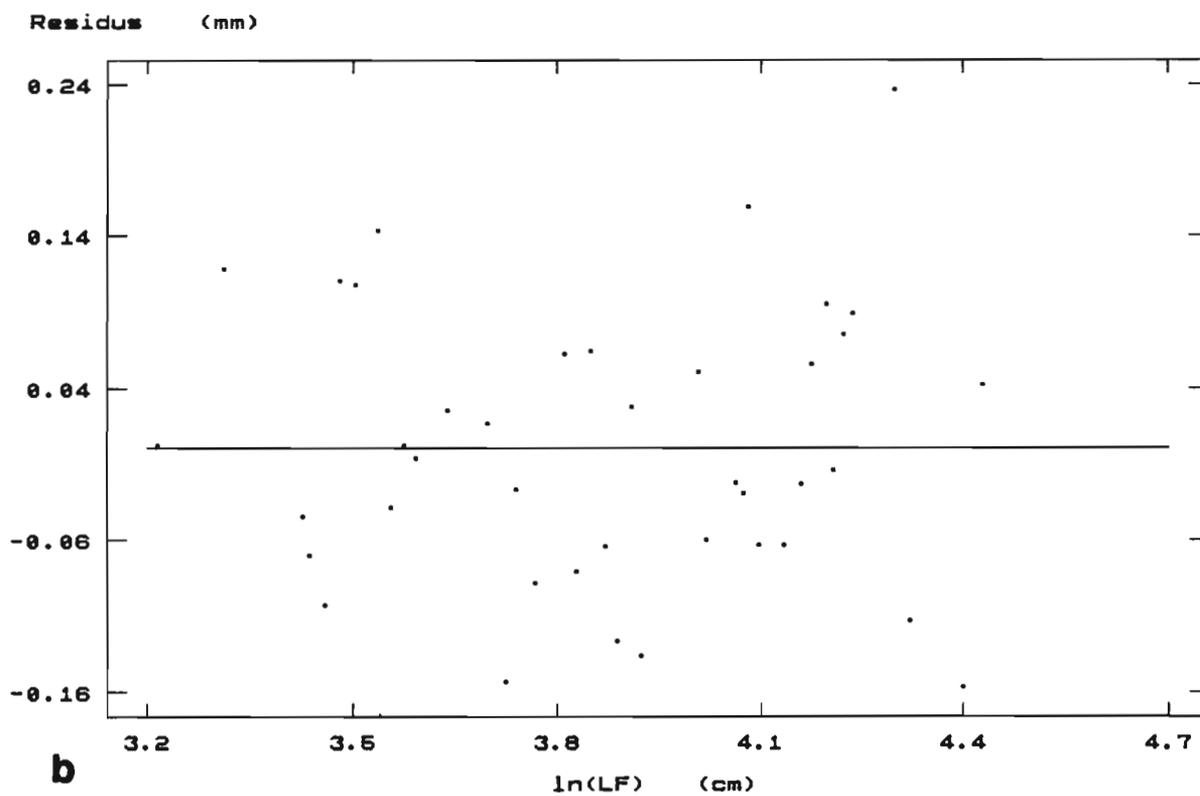
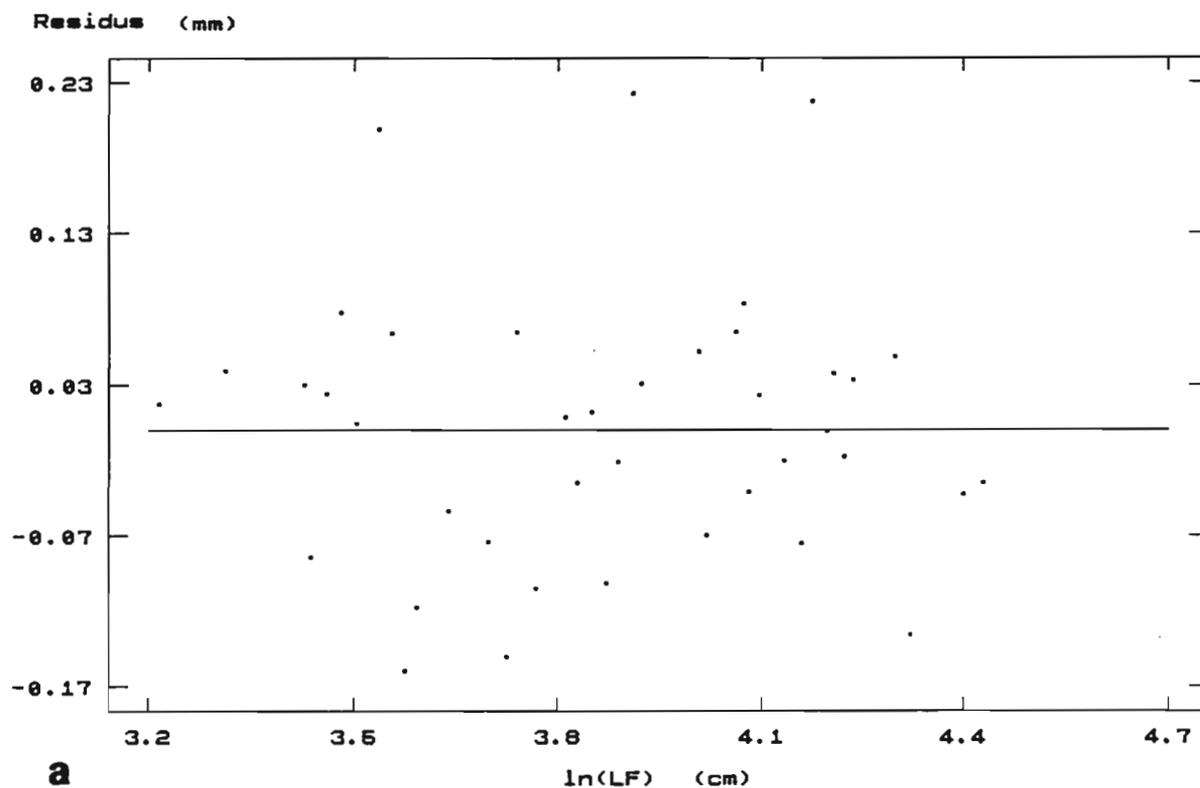


Figure 15 : Résidus sur les estimations des valeurs des paramètres de l'ellipse a (a), et b (b), en fonction de la taille LF.

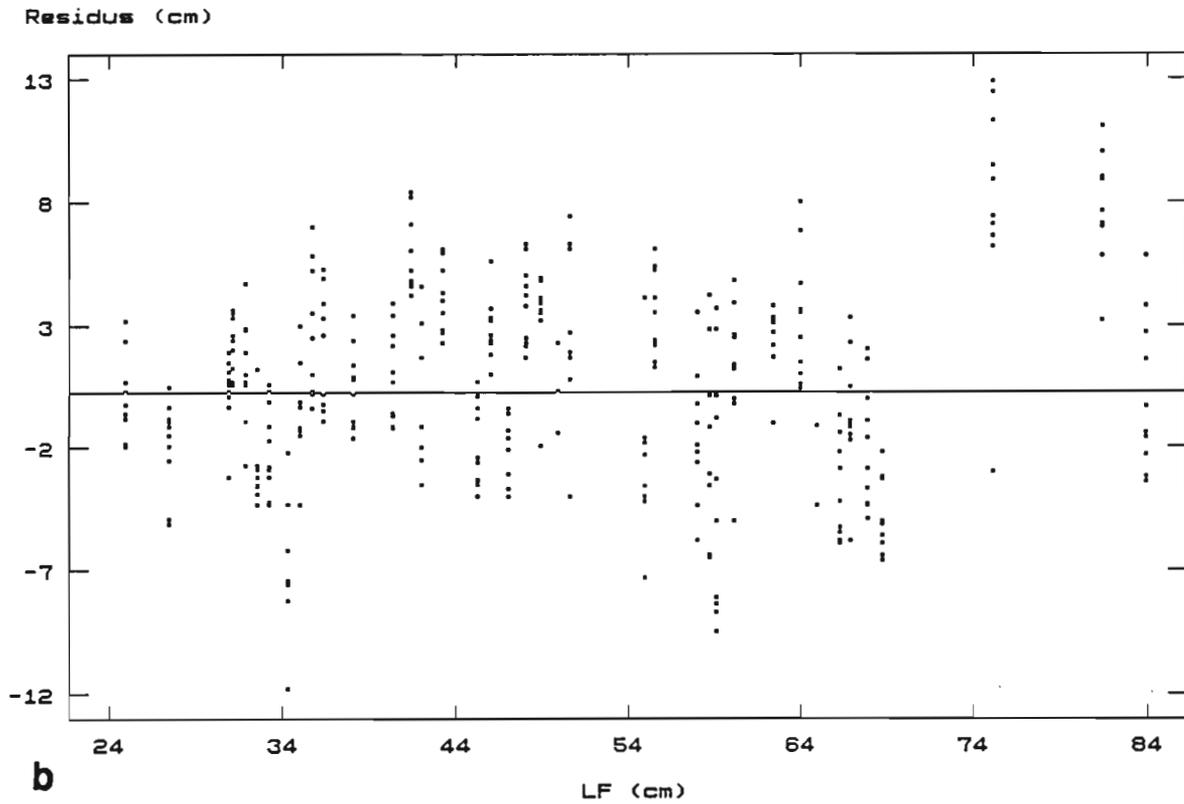
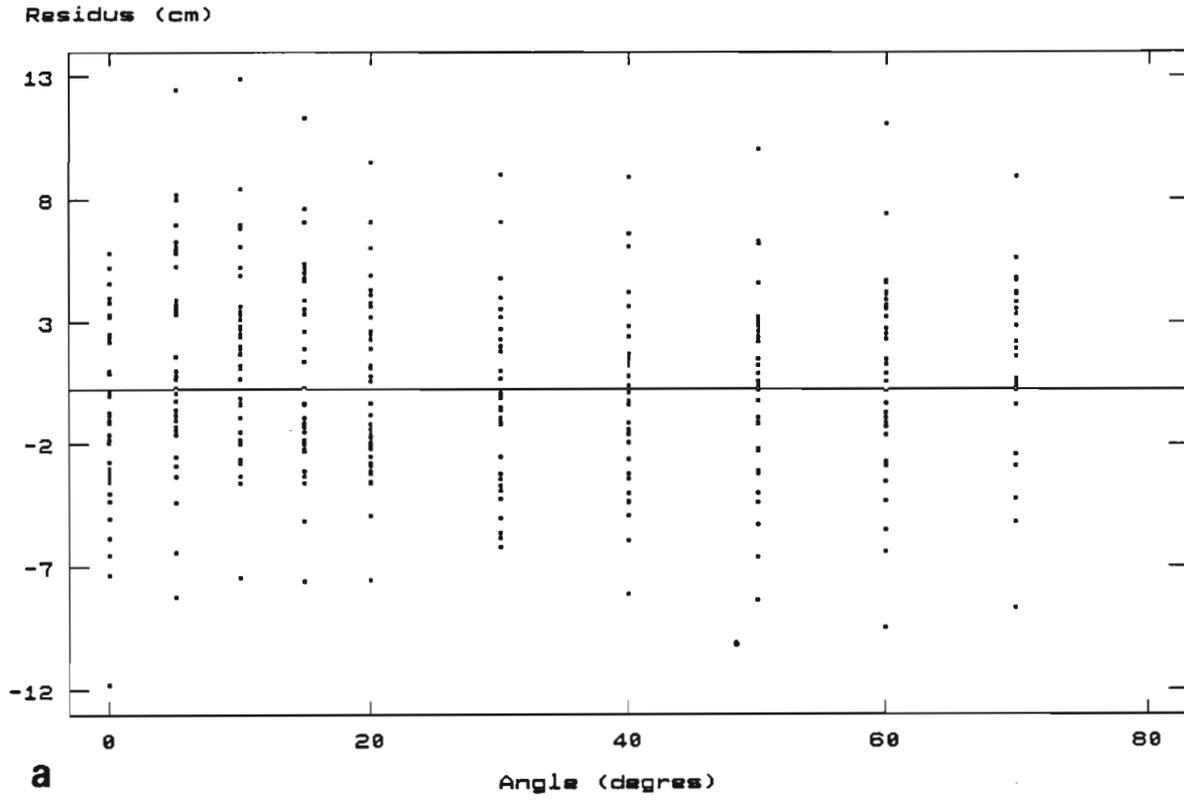


Figure 16 : Résidus sur les valeurs rétrocalculées de LF ;
 a - en fonction de l'angle α ;
 b - en fonction de la taille LF observée.

III.3. Application du rétrocalcul à la détermination des tailles associées aux annulis

Les mesures des (r_i, α_i) des i annuli repérés sur le moniteur vidéo ont été effectuées à l'aide du logiciel déjà présenté. Lorsque les annuli sont facilement repérables sur l'objet, le profil de l'axe de lecture sélectionné est enregistré pour juger des possibilités de discrimination des annuli sur ce dernier. Lorsque le profil est enregistré, les mesures des rayons des annuli sont réalisées à l'aide de la souris selon le même axe de lecture.

III.3.1 Méthode de résolution de l'équation permettant le rétrocalcul

Les tailles LF_i associées aux couples (r_i, α_i) ont été calculées à partir de l'équation (6). Les séries des données correspondantes à une lecture exhaustive des annuli sur une otolithe (tab. III) ont été utilisées pour calculer :

- les moyennes et les intervalles de confiance des tailles rétrocalculées pour les 8 premiers annuli,
- les taux relatifs moyens d'accroissement de la taille entre deux annuli consécutifs.

Les taux relatifs d'accroissement inter annuli ont été calculés pour l'ensemble des individus dont nous étions convaincus que certains annuli n'avaient pu être observés (tab. IV). La comparaison de ces valeurs à celles calculées sur des séries de mesures complètes (tab. III) conduit à une redistribution (décalage) des tailles rétrocalculées puis un calcul de nouvelles tailles moyennes associées aux annuli successifs (tab. V).

III.3.2 Résultats et discussion

Il nous est possible de comparer sommairement nos résultats avec les clés âge - taille calculées par le modèle de von Bertalanffy (1938) pour la même espèce par Mc Pherson *et al* (1985) et Yeh *et al* (1986) en Australie et Lablache et Carrara (1988), Bach (comm. pers.) aux Seychelles (tab. VI).

Si l'on considère qu'il se forme un annulus par an, la taille rétrocalculée au premier annulus que nous obtenons est nettement supérieure à celles calculées par le modèle de von Bertalanffy à l'âge 1 an, mais différent peu des valeurs calculées à l'âge 2 ans. En fait, nous avons éliminé de notre tableau de données quatre valeurs de LF correspondantes à des marques situées à proximité du nucléus qui conduisaient à une taille rétrocalculée moyenne de 15,2 cm. Il est probable que ces marques qui correspondraient au premier annulus formé ne soient discernable que sur une faible partie de notre échantillon qui concerne principalement des individus âgés. Pour les âges supérieurs à deux ans, nos valeurs divergent nettement dans le sens d'une sous estimation. Il apparaît qu'en faisant l'hypothèse de la formation de deux annuli par an (si l'on considère que le premier annulus n'a pu être pris en compte), on obtient une bonne concordance de nos résultats avec ceux de Mc Pherson *et al* (1985) et Bach (comm. pers.) en ce qui concerne les âges 2 à 5 ans.

Nos calculs ne portent que sur les huit premiers annuli observés, au delà de cette limite, nous avons jugé les données trop disparates pour être analysées de façon objective par la méthode choisie.

Tableau III : Tailles (LF en cm) rétrocalculées et taux relatifs d'accroissement.

Réf.	LF Obs.	LF cal.	1	2	3	4	5	6	7	8	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7	7-8
F6	33,2	40,0	19,9	24,8	30,9	35,8	-	-	-	-	0,2462	0,246	0,1586	-	-	-	-
F7	36,3	40,5	18,2	28,0	36,4	-	-	-	-	-	0,5385	0,3000	-	-	-	-	-
F13	43,0	42,5	24,3	32,4	36,2	39,9	41,8	-	-	-	0,333	0,1173	0,1022	0,0476	-	-	-
F17	46,7	46,8	22,5	32,4	36,2	40,1	44,5	45,3	-	-	0,44	0,1173	0,1077	0,1097	0,0180	-	-
F18	46,7	45,0	20,0	29,4	-	-	-	-	-	-	0,47	-	-	-	-	-	-
F23	51,9	53,0	21,2	27,1	31,4	35,6	39,3	44,0	46	49,7	0,2780	0,1587	0,1338	0,1039	0,1196	0,0455	0,0744
F26	54,5	54,1	22,2	31,9	37,1	40,5	44,5	47,1	49,3	51,8	0,4369	0,1630	0,0916	0,0988	0,0584	0,0467	0,0507
F28	55,6	55,3	23,2	30,1	36,4	40,6	41,9	45,9	49,8	53,1	0,2974	0,2093	0,1154	0,0320	0,0955	0,085	0,0663
F36	61,8	68,8	25,3	31,2	35,0	40,4	43,6	53	56	57,9	0,2332	0,1218	0,1543	0,0792	0,2156	0,0566	0,0339
M3	32,5	38,7	22,9	30,4	35,8	-	-	-	-	-	0,3275	0,1776	-	-	-	-	-
M4	32,1	33,0	23,0	29,0	31,9	-	-	-	-	-	0,2609	0,1000	-	-	-	-	-
M6	35,0	35,7	25,5	30,9	34,0	-	-	-	-	-	0,2118	0,1003	-	-	-	-	-
M10	37,9	37,3	19,2	27,4	34,6	37,0	-	-	-	-	0,4271	0,2628	0,0694	-	-	-	-
EM6	43,1	45,4	26,6	32,5	36,5	-	-	-	-	-	0,2218	0,1231	0,1945	-	-	-	-
M17	50,6	46,7	25,0	31,4	36,6	39,9	42,6	45,2	-	-	0,256	0,1656	0,0902	0,0677	0,0610	-	-
EM4	31,6	34,7	25,1	31,3	33,8	-	-	-	-	-	0,247	0,0799	-	-	-	-	-
M29	64,8	61,9	26,0	32,4	36,5	39,3	42,0	47,8	49,3	51,3	0,2462	0,1265	0,0767	0,0687	0,138	0,0314	0,0416
M33	74,2	62,2	21,7	29,0	35,9	42,9	-	-	-	-	0,3364	0,2379	0,1950	-	-	-	-
Moyenne			23,0	30,24	34,9	39,3	43,0	46,9	50,5	52,3	0,3187	0,1595	0,1241	0,0759	0,1009	0,0530	0,0582
IC 5 %			21,8	29,1	34,0	37,7	41,3	44,2	46,9	49,4	0,2718	0,1285	0,0967	0,0529	0,041	0,0282	0,371
			24,2	31,3	35,9	40,8	44,7	49,6	54,0	55,2	0,3656	0,1905	0,1515	0,0989	0,1608	0,0778	0,0793
IC 10 %			22,0	29,3	34,1	38,0	41,5	44,7	47,7	50,0	0,2800	0,1339	0,1018	0,0575	0,0533	0,0339	0,0421
			24,0	31,1	35,7	40,6	44,5	49,1	53,3	54,5	0,3574	0,1851	0,1465	0,0943	0,1485	0,0721	0,0743

Tableau IV : Tailles (LF en cm) rétro-calculées et taux relatifs d'accroissement.

Réf.	LF Obs.	LF cal.	1	2	3	4	5	6	7	8	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7	7-8
F8	36,3	40,0	-	29,8	34,0	38,1	-	-	-	-	-	0,1409	0,1201	-	-	-	-
F12	42,0	38,0	-	-	31,9	35,1	-	-	-	-	-	-	0,1003	-	-	-	-
F18	46,7	45,0	20	29,4	-	38,4	43,6	-	-	-	0,4700	-	-	0,1354	-	-	-
F19	48,0	46,9	-	31,5	37,8	42,4	45,9	-	-	-	-	0,2000	0,1217	0,0830	-	-	-
F20	48,8	49,2	-	32,4	36,0	40	-	-	-	-	-	0,1173	0,1110	-	-	-	-
F21	49,5	52,7	-	26,8	31,9	40,8	46,2	-	-	-	-	0,1903	0,2790	0,1323	0,0714	-	-
F34	61,8	68,8	-	27,8	31,8	39,8	42,1	46,2	51,3	54,9	-	0,1439	0,2516	0,0578	0,0974	0,1104	0,0702
F41	68,0	78,6	-	32,2	38,6	44,9	-	51,1	-	55,5	-	0,1988	0,1632	-	0,0860	-	-
EF1	64	80	-	-	-	40,4	41,9	45,3	48,3	50,9	-	-	-	0,0371	0,0811	0,0662	0,0538
M13	43,2	41,8	-	29,9	36,7	40,9	-	-	-	-	-	0,2274	0,1144	-	-	-	-
M16	49,8	51	-	28,9	32,3	36,7	42,9	45,3	47,8	49,7	-	0,1176	0,1362	0,1689	0,0559	0,0552	0,0398
M23	58,5	60,3	-	33,6	-	44,7	48,1	50,3	54,9	-	-	-	-	0,0761	0,0457	0,0945	0,0911
M24	58,2	56,2	-	-	-	37,1	-	49,8	53,7	-	-	-	0,3423	-	-	0,0783	-
EM1	81,3	75,4	-	27,9	35,6	39,7	42,3	-	-	-	-	0,2760	0,1150	0,0655	-	-	-
EM3	52,5	48,9	-	32,6	41	43,1	45,1	-	-	-	-	0,2577	0,0512	0,0464	-	-	-
EM7	70,9	68,6	-	-	-	-	42,8	47,6	-	54,6	-	-	-	-	0,1121	-	-
M28	65,0	68,9	-	-	-	-	43,1	48,2	-	56,2	-	-	-	-	0,1183	-	-
M32	68,9	77,0	-	-	34,1	40,1	45,1	51,6	-	-	-	-	0,1759	0,1247	0,1440	-	-
M33	74,2	66,2	21,7	29,0	35,9	42,9	47,2	52,4	-	-	0,3364	0,2379	0,1950	0,1002	0,1102	-	-
M35	75,2	74,4	-	30,2	34,2	41,3	45,8	-	-	-	-	0,1324	0,2076	0,1090	-	-	-
M36	76,8	68,7	-	30,8	-	39,3	-	50,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M31	67,0	64,3	-	30,6	-	38,5	44,2	-	51,2	-	-	-	-	0,1480	-	-	-

Tableau V : Tailles moyennes (LF, en cm) associées aux annuli établies à partir du rétrocalcul.

Annuli	1	2	3	4	5	6	7	8
LF moy.	23,0	30,2	35,0	39,9	43,8	48,0	50,8	53,2
Ecart-type	2,47	2,06	2,33	2,49	2,05	2,66	3,14	2,77
IC 5 %	21,8	29,5	34,1	39,0	42,9	46,7	48,7	51,3
	24,2	30,9	35,9	40,8	44,7	49,3	52,9	55,1
IC 10 %	22,0	29,6	34,3	39,1	43,1	46,9	49,1	51,7
	24,0	30,8	35,7	40,7	44,5	49,1	51,3	54,7

tableau VI : Longueurs (LF en cm) rétrocalculées à chaque âge. Comparaison de nos résultats avec ceux observés dans la littérature.

Age (année)	Présent travail (***)	Bach (comm.pers.)(*)	Yeh et al. (1986) (**)	Mc Pherson et al. (1985) (***)	Lablache et Carrara (1988) (*)	
1	(23)	16,13	19,33	19,16	20,88	18,2
2	30,2	29,17	26,88	31,79	30,64	33,02
3	39,9	40,28	33,52	40,98	39,83	44,79
4	48,0	49,74	39,35	49,0	50,74	54,15
5	53,2	57,81	44,48	57,05	57,05	61,56

(*) étude statistique de l'âge

(**) étude squelettochronologique (vertèbres) de l'âge

(***) étude otolithométrique de l'âge

M

F

Deux arguments sont susceptibles d'étayer l'hypothèse de l'existence de deux ralentissements de croissance par an. Le premier concerne les conditions climatiques. Les Seychelles sont soumises au régime des moussons caractérisé par deux périodes : la mousson de "suet" (juin à septembre), la mousson de "norôit" (décembre à mars). Le second concerne la physiologie de la reproduction de *Lutjanus sebae* aux Seychelles. Lablache et Carrara (1988) étudiant les variations du pourcentage de femelles mûres dans les captures observent deux maxima en février et avril puis en septembre et octobre. Pozo (1979 in Mason et Manooch, 1985) a mis en évidence la formation de deux annuli par an chez *Lutjanus analis* à Cuba qui est aussi une région soumise à l'influence des moussons.

Si l'on retient l'hypothèse de la formation de deux annuli par an, nous sommes amenés à déduire que les deux premiers annuli observés ne sont pas espacés d'un an et que nous avons donc omis le "vrai" premier annulus. Dans ce cas, le fait que les ralentissements de croissance s'observent chez les jeunes individus favorise l'hypothèse d'une influence majeure des variations climatiques. Toutefois, une validation de la périodicité de la formation des annuli devra être envisagée en considérant les variations mensuelles du rapport d'accroissement marginal de l'otolithe sur un échantillon plus abondant.

III.4 Résultats préliminaires des lectures de microstries

III.4.1. Mesures et ajustements effectués

Les mesures réalisées visaient dans un premier temps à une caractérisation au moyen de quelques exemples de la croissance individuelle. C'est pourquoi les 109 mesures de densité de stries effectuées ne concernent que 7 otolithes (4 provenant d'individus mâles et 3 d'individus femelles). Il nous a paru intéressant d'utiliser ces résultats pour établir une relation de type D (densité de stries) = $f(R = \text{distance au nucléus})$ afin de déduire après intégration de cette fonction une estimation du nombre total de stries.

Ainsi, sous l'hypothèse d'un rythme journalier de dépôt des microstries, il nous est possible d'estimer un âge pour disposer d'un élément de comparaison avec les résultats issus de l'analyse des annuli.

Les données ont été standardisées selon la méthode décrite précédemment (cf. § II.3.3) en effectuant des estimations des densités pour une direction de l'axe de lecture associée au maximum d'observations (34 sur les 109 pour un angle $\alpha_0 = 27,6^\circ$ par rapport au grand axe de la coupe).

La représentation du nuage des couples (D, R) dans l'espace révèle la présence de points éloignés du nuage principal (fig. 17 a), ce qui nous a conduit à reconsidérer certaines observations que nous avons regroupées. Cette démarche ne consiste pas à éliminer les points supposés aberrants en regard de l'ensemble des données, mais à opérer un regroupement des données selon une même échelle d'observation.

Ainsi, il apparaît peu opportun de traiter sans distinction deux couples aussi "semblables mais différents" que par exemple deux densités calculées à partir des comptages respectifs de 30 microstries sur $100 \mu\text{m}$ et 3 microstries sur $10 \mu\text{m}$. Considérons donc deux segments consécutifs de taille inférieure et supérieure à $15 \mu\text{m}$ dont les centres sont distants de moins $100 \mu\text{m}$. Pour une otolithe donnée, les mesures de densité de stries estimées pour ces segments sont regroupées et les valeurs moyennes de D (densité de stries) et R (distance par rapport au nucléus) sont retenues.

Ainsi, douze mesures ont été regroupées et l'ajustement du modèle $D = f(R)$ a considéré 97 couples de valeurs (Annexe 5).

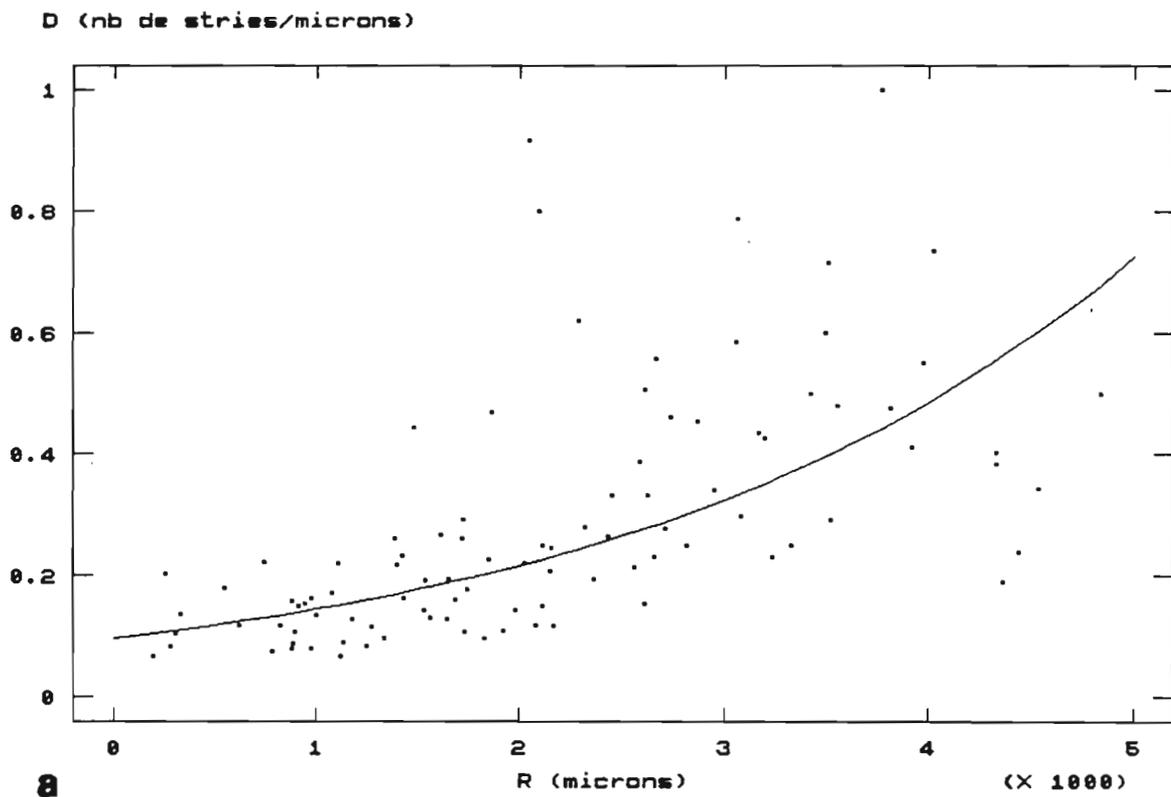
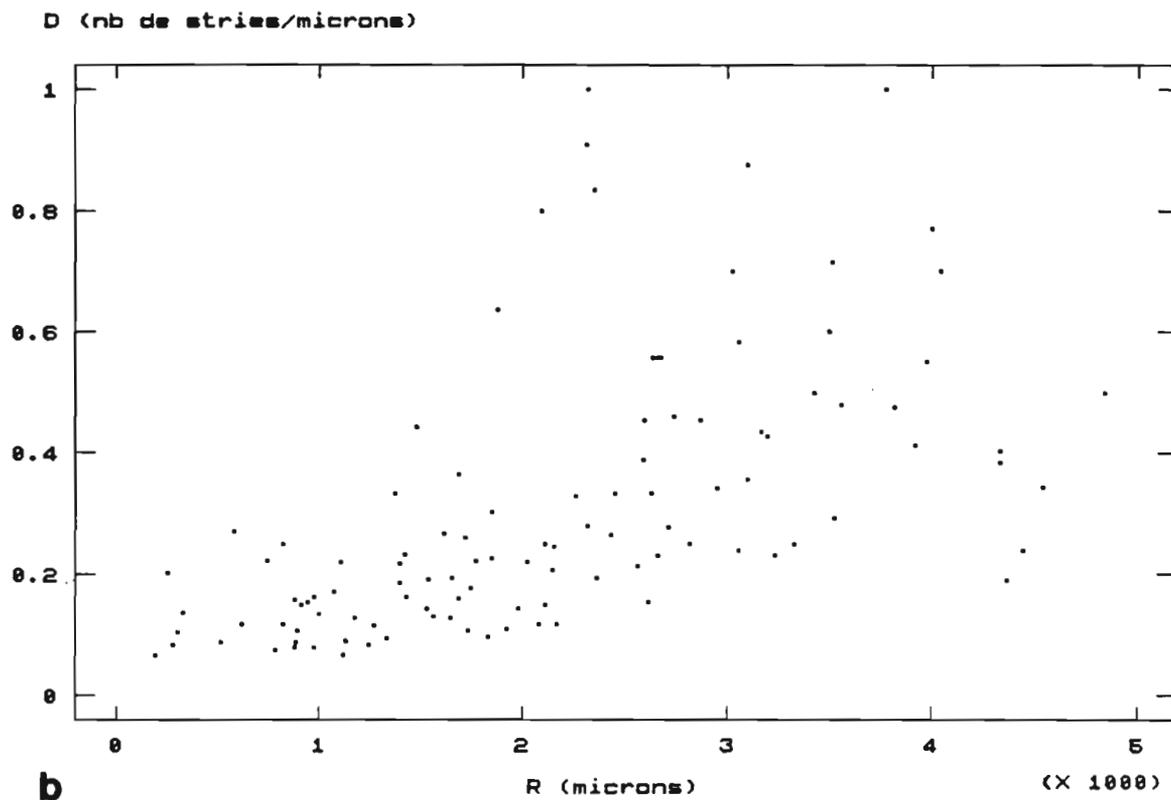


Figure 17 : Densité de stries (D) en fonction de la distance (R) au nucléus.
a - nuage de points initial ;
b - relation ajustée après regroupement de données.

Tableau VII : Résultats obtenus par la méthode de la densité moyenne de microstries calculées par intervalles de 500 μm de distance au nucléus, pour $\alpha = 27,6$ degrés.

Bornes de l'intervalle (μm)	Densité moyenne (stries/ μm)	Ecart-type (stries/ μm)	Nombre de stries
0-500	0,113	0,050	56,7
501-1000	0,137	0,056	68,3
1001-1500	0,170	0,110	84,9
1501-2000	0,221	0,129	110,3
2001-2500	0,390	0,304	195,2
2501-3000	0,373	0,136	186,6
3001-3500	0,459	0,212	229,7
3501-4000	0,503	0,136	251,7
4001-4500	0,564	0,199	282,1

Tableau VIII : Comparaison des âges estimés pour les tailles moyennes (LF en cm) associées aux annuli par les méthodes de l'intégration (*) et de la densité moyenne (**) des stries supposées journalières, pour $\alpha = 27,6$ degrés.

LF (cm)	R (lm)	Nb total de stries (*)	Age (années) (*)	Nb total (de stries) (**)	Age (années) (**)
23,0	2096,3	504,2	1,38	341,4	0,94
30,2	2813,4	673,6	1,84	637,8	1,75
35,0	3286,2	815,4	2,23	833,5	2,28
39,9	3773,6	992,9	2,72	1069,4	2,93
43,8	4156,8	1159,1	3,17	1271,9	3,48
48,0	4576,4	1373,3	3,76	1508,6	4,13

Des trois modèles testés: $D = c.R + d$, $D = c.R^d$, $D = \exp[c.R + d]$, le modèle exponentiel conduisant à la valeur la plus élevée du coefficient de corrélation r a été retenu.

L'équation du modèle s'écrit :

$$\ln(D) = -2,34195 + 4,0403 \cdot 10^{-4} \cdot R \quad \text{avec} \quad r = 0,69$$

soit :

$$D = \exp [-2,34195 + 4,0403 \cdot 10^{-4} \cdot R] , (\text{fig. 17 b})$$

L'intégration de cette fonction, nous permet d'estimer le nombre total de stries N pour une otolithe de rayon R à partir de l'expression :

$$N = 2475,1 \cdot [\exp (4,40403 \cdot 10^{-4} \cdot R - 2,34195) - 0,09614]$$

III.4.2. Résultats et discussion

La modélisation de la croissance n'étant pas un objectif de notre travail, nous avons simplement effectué le calcul des N pour les rayons R des otolithes analysées faisant un angle $\alpha = 27,6^\circ$ avec l'axe de la coupe (tab. VII). En parallèle, ces mêmes estimations N ont été calculées à partir de la méthode de Ralston (1985), (tab. VII).

Les estimations des âges en années (sous l'hypothèse du dépôt journalier des microstries âge = $N/365,25$) pour les tailles rétrocalculées associées aux six premiers annuli (pour respecter les limites de validité du modèle $D = f(R)$, soit $R < 4600 \mu\text{m}$) obtenues sont consignées dans le tableau VIII.

Les résultats obtenus par ces deux méthodes, même s'ils doivent être considérés avec prudence (mesures de densité provenant de 7 otolithes seulement) sont compatibles avec l'hypothèse de la formation de deux annuli par an.

En ce qui concerne la démarche mise en oeuvre, il reste à s'interroger sur les conséquences statistiques de l'utilisation de modèles imbriqués et interconnectés pour l'estimation des diverses variables LF , r , α , D .

Enfin, la robustesse de la méthode consistant à standardiser les données selon une direction donnée devra être testée en comparant les résultats obtenus lorsque l'on fait varier l'angle de référence α_0 .

IV. CONCLUSION

La problématique de l'examen des pièces calcifiées pour l'étude de l'âge revêt deux aspects, d'une part la discrimination des structures caractérisant l'âge, d'autre part l'interprétation de ces structures.

Le matériel utilisé pour l'observation et l'analyse des annuli et des microstries des otolithes de *Lutjanus sebae* a permis une extraction de l'information relativement performante si l'on considère la précision et la reproductibilité des mesures opérées. En revanche, on peut regretter certaines limites techniques relatives à la non automatisation de la platine micrométrique et à la résolution du matériel vidéo. La conjonction de la technologie disponible avec la méthodologie adoptée en raison des caractéristiques morphologiques des coupes d'otolithes étudiées (modélisation du contour de la zone de lecture par une ellipse) laisse envisager un développement futur de l'acquisition semi-automatique de l'information.

Les résultats obtenus concernant l'âge de *Lutjanus sebae* aux Seychelles laissent entrevoir les possibilités intéressantes d'une telle approche.

Certes, les ajustements des modèles réalisés reposent sur un nombre de données insuffisant et devront être reconsidérés à l'avenir en regard de l'abondance de l'échantillon, de la distribution des tailles et du sexe des individus.

De plus, les modèles utilisés sont imbriqués et interconnectés pour l'estimation des tailles rétrocalculées. Une réflexion concernant les conséquences statistiques de cette démarche devra être envisagée afin d'évaluer les paramètres de dispersion des variables estimées.

Les résultats préliminaires obtenus laissent supposer la formation de deux annuli par an dépendante de facteurs climatiques et biologiques (reproduction). Les âges calculés à partir de l'estimation du nombre total de microstries, sous l'hypothèse du dépôt journalier de ces structures, semblent confirmer ce résultat.

Les motivations actuelles dans le cadre de l'étude de l'âge des poissons résident dans l'automatisation des tâches liées à l'acquisition et au traitement de l'information.

Pour l'acquisition des données, elle limiterait l'intervention des opérateurs et permettrait une augmentation de la taille des échantillons tout en éliminant les variabilités des lectures intra et inter observateurs.

En revanche, les problèmes restent posés pour le traitement des profils acquis. Pour les annuli relevés sur des otolithes de poissons tropicaux, le comptage automatique est déjà difficilement envisageable dans le cas où ils sont "bien marqués" après coloration (Panfili, comm. pers.). Ainsi, cette technique ne semble pas vouée à un développement intéressant pour les espèces tropicales vivant dans un environnement stable.

La voie la plus prometteuse concerne l'analyse algorithmique des profils établis en lecture de microstries, mais les risques d'erreurs de l'estimation de l'âge en raison de la prise en compte de "fausses marques" (artéfacts liés aux irrégularités de la surface de la coupe) restent à quantifier.

A l'heure actuelle, les otolithes de larves et de juvéniles apparaissent comme des supports de prédilection pour le développement des méthodes assistées par ordinateur pour la lecture des microstries et l'analyse des profils enregistrés. Compte tenu de la netteté et du caractère périodique du dépôt des microstries, on peut envisager le traitement mathématique des profils à partir de méthodes d'analyse des séries chronologiques. Cependant, l'estimation de l'âge ne pourra être envisagée qu'après une compréhension de la biologie de la formation de ces microstructures.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLEN, G. R., 1985. Synopsis of the circumtropical fish genus *Lutjanus* (Lutjanidae). Workshop on the Biology of Tropical groupers and snappers. Honolulu, Hawaii, May 20-22. + M : 58p + annexes.
- BACH, P., 1988. La pêche artisanale aux Seychelles : la flotille, les engins, les captures et leur commercialisation, l'état des ressources. Rapp. Sc. no 7, Antenne ORSTOM Seychelles, 44p.
- BAILLON, N., 1986. Croissance de deux espèces de poissons tropicaux à partir de la lecture des otolithes. Mémoire D.E.A. Marseille - Université Aix-Marseille II, 41p + annexes.
- BAILLON, N., 1988. L'utilisation de la densité des stries journalières sur les otolithes pour l'âge des poissons tropicaux coralliens. CPS, Inshore Fish. Res., WP6, 13p.
- BERTALANFFY, L. (von), 1938. A quantitative theory of organic growth. Hum. Biol., 10 : 181-213.
- BROUARD, F., GRANDPERRIN, R., KULBICKI, M., et RIVATON, J., 1984. Note on observations of daily rings on otoliths of deep water snappers. ICLARM Translations, 3, 8p.
- CAILLART, B., FRANC DE FERRIERE, M., MORIZE, E., 1986. Croissance de deux espèces de poisson du lagon de Tikehau, *Lethrinus miniatus* (Schneider) et *Lutjanus fulvus* (Schneider), évaluée par la lecture des otolithes in Contribution à l'étude du lagon de Tikehau, III, ORSTOM, Tahiti, Notes et Doc. Océanogr., 30 : 1-44.
- CAILLART, B., MORIZE, E., 1989. Etude du rythme de dépôt des microstries sur les otolithes d'un Serranidé tropical, *Epinephelus microdon* (Bleeker), à l'aide d'un marqueur fluorescent : l'oxytétracycline. Aquat. Living Resour., 2 : 255-261.
- CAMPANA, S. E., 1987. Image analysis for microscope based observations : An inexpensive configuration. Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci., 1569 : iv + 20p.
- DE PONTUAL, H., et PROUZET, P., 1988. Numerical analysis of scale morphology to discriminate between atlantic salmon stocks. Aquat. Living Resour., 1 : 17-27.
- LABLACHE G., G. CARRARA, 1988. Population dynamics of emperor red snapper, *Lutjanus sebae*, with notes on the demersal fishery on the Mahe plateau (Seychelles). FAO Fish. Rep., 389 : 171-192.
- LE GUEN, J. C., 1976. Utilisation des otolithes pour la lecture de l'âge de Scianidae intertropicaux : marques saisonnières et journalières. Cah. ORSTOM, sér. océanogr., 14(4) : 331-338.
- MASON, D. L., and MANOOCH, C. S., III, 1985. Age and growth of mutton snapper along the east cost of Florida. Fish. Res., 3 : 93-104.

- McGOWAN, M. F., PRINCE, E. D., and LEE, D. W., 1987. An inexpensive microcomputer-based system for making rapid and precise counts and measurements of zonation on video displayed skeletal structures of fish. In R. C. Summerfelt and G. E. Hall (editors), The age and growth of fish, p 385-395. Iowa State University Press, Ames, IA.
- McPHERSON, G. R., L. SQUIRE, J. O'BRIEN, G. B. GOEDEN, 1985. Great barrier reef demersal fish research. SPC, Seventeenth Regional Meeting on Fisheries Report, Noumea 5-9 August, 22p.
- MESSIEH, S. N., C. MACDOUGALL, and R. CLAYTOR, 1989. Separation of Atlantic herring (*Clupea harengus*) stocks in the southern Gulf of St Lawrence using digitized otolith morphometrics and discriminant function analysis. Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci., 1647 : iv + 22p.
- MORALES-NIN, B., and RALSTON, S., 1990. Age and growth of *Lutjanus kasmira* (Forskaal) in Hawaiian waters. J. Fish Biol., 36 : 191-203.
- PANFILI, J., 1988. Etude des populations d'anguilles (*Anguilla anguilla* L.) des lagunes du Languedoc et de Camargue : méthodes de lecture d'âge et comparaison des croissances. Mémoire D.E.A. Montpellier - Université des Sciences et Techniques du Languedoc, 24p + annexes.
- PANFILI, J., M. C. XIMENES et T. DO CHI, 1989. Age determination of eels in the French Mediterranean lagoons using classical methods and an image analysis system. EIFAC Working Party on Eel, Porto, Portugal, 29.05-03.06 1989, 10p.
- PANNELLA, G., 1971. Fish otoliths : daily growth layers and periodical patterns. Science, Washington DC 173 : 1124-1127.
- PANNELLA, G., 1974. Otolith growth patterns : an aid in age determination in temperate and tropical fishes. In : The aging of fish, T. B. Bagenal. Ed. Unwin Brothers Ltd., England : 28-29.
- PANNELLA, G., 1980. Growth patterns in fish sagittae. In : Skeletal growth of aquatic organisms. Vol. 1. Topics in geobiology. F. G. Stehli : 519-556.
- PLANES, S., 1989. Etude de la croissance des larves et juvéniles de Loup (*Dicentrarchus labrax*, L., 1758) et mise au point d'une méthode de lecture des otolithes par analyse d'image. Mémoire D.E.A. Paris - Université Pierre et Marie Curie Paris VI, 30p + annexes.
- RADTKE, R. L., 1987, Age and growth information available from the otoliths of the Hawaiian snapper, *Pristipomoides filamentosus*. Coral Reefs, 6 : 19-25.
- RADTKE, R. L., DEAN, J. M., 1982. Increment formation in the otoliths of embryos, larvae and juveniles of the mummichog (*Fundulus heteroclitus*). Fish. Bull. 80 : 201-210.
- RALSTON, S. and MYIAMOTO, G. T., 1983. Analysing the width of daily growth increments to age the Hawaiian snapper, *Pristipomoides filamentosus*. Fish. Bull. 81 : 523-536.

-
- RALSTON, S., 1976. Age determination of a tropical reef butterflyfish utilizing daily growth rings of otoliths. *Fish. Bull.* 74 : 990-994.
- RALSTON, S., 1985. A novel approach to aging tropical fish. *ICLARM Newsletter*, 8(1) : 14-15.
- RALSTON, S., and WILLIAMS, H. A., 1989. Numerical integration of daily growth increments : an efficient means of aging tropical fishes for stock assessment. *Fish. Bull., U.S.*, 87(1) : 1-16.
- TROADEC, H., 1986. Essai de détermination de l'âge et de la croissance du saumon atlantique (*Salmo salar*, L.) par analyse d'image de leurs écailles. *Int. Council Expl. Sea, Anadromous and Catadromous Fish Comm.*, M : 14p.
- TROADEC, H., 1987. Les travaux d'automatisation de la lecture d'âge aux Etats-Unis : systèmes commerciaux et de laboratoires. *Rapp. Mission, IFREMER*, avril-mai : 35p.
- YEH, S. Y., C. Y. CHEN, H. C. LIU, 1986. Age and growth of *Lutjanus sebae* in the waters off northwestern Australia. *Acta Ocean. Taiwanica*, 16 : 90-102.

ANNEXES

Annexe 1 : Mesures des rayons (r en mm) réalisées sur les coupes d'otolithes pour différentes valeurs de l'angle de lecture (α en degrés)

LF	r70	r60	r50	r40	r30	r20	r15	r10	r5	r0
31,1	1,57	1,70	1,89	2,14	2,55	3,23	3,67	4,22	4,77	5,14
32,5	0,00	2,00	2,26	2,62	3,25	4,09	4,69	5,23	5,79	6,20
34,3	0,00	0,00	2,32	2,86	3,64	4,74	5,38	6,02	6,68	7,33
35,0	0,00	0,00	2,00	2,44	3,12	4,11	4,74	5,23	5,91	6,51
35,7	1,87	2,02	2,25	2,65	3,09	3,77	4,22	4,61	4,92	5,31
40,3	2,13	2,38	2,68	3,09	3,68	4,45	4,88	5,43	5,91	6,35
41,4	1,95	2,13	2,34	2,74	3,27	4,02	4,47	4,93	5,51	6,12
43,2	2,18	2,35	2,64	3,01	3,56	4,42	4,91	5,45	6,03	6,49
47,0	2,62	2,87	3,32	3,89	4,61	5,54	6,12	6,70	7,29	7,62
49,8	0,00	2,82	3,27	3,90	5,06	6,52	7,34	8,19	9,13	9,80
58,8	0,00	3,30	3,76	4,53	5,50	6,92	7,65	8,42	9,27	9,49
65,0	0,00	4,11	4,69	5,44	6,69	8,42	9,54	10,38	11,30	11,78
67,0	3,68	4,01	4,56	5,36	6,28	7,64	8,40	9,02	9,58	10,29
68,9	4,38	4,76	5,25	5,90	6,88	7,99	8,64	9,48	10,02	10,41
75,2	3,85	4,23	4,75	5,37	6,27	7,32	7,87	8,40	9,00	9,40
81,5	0,00	4,41	4,94	5,71	6,69	8,22	8,94	9,73	10,39	10,86
83,9	4,94	5,50	6,09	6,97	8,06	9,34	10,0	10,30	10,64	11,05
24,9	0,00	1,15	1,34	1,73	2,21	3,04	3,53	3,76	4,42	4,74
27,4	1,36	1,52	1,74	2,10	2,63	3,67	4,25	4,40	4,85	5,12
30,8	1,48	1,62	1,87	2,16	2,70	3,54	4,01	4,50	5,11	5,84
31,8	0,00	1,48	1,78	2,08	2,74	3,55	4,06	4,53	5,19	5,91
33,2	1,83	2,06	2,31	2,77	3,34	4,09	4,47	4,97	5,47	5,96
36,3	0,00	2,13	2,32	2,65	3,29	3,83	4,24	4,72	5,22	5,71
38,0	2,02	2,26	2,51	2,94	3,49	4,23	4,75	5,27	5,69	6,24
42,0	0,00	2,14	2,49	3,00	3,89	5,04	5,66	6,30	6,92	7,26
45,2	2,63	2,90	3,25	3,62	4,41	5,21	5,81	6,36	6,98	7,61
46,0	2,18	2,47	2,78	3,27	3,99	4,95	5,55	6,15	6,69	7,20
48,0	2,39	2,68	3,00	3,49	4,14	5,01	5,51	6,05	6,57	7,00
48,8	2,45	2,67	2,98	3,40	4,05	4,97	5,63	6,44	6,96	7,87
50,5	0,00	2,52	2,88	3,34	4,34	5,49	6,16	6,87	7,53	8,30
55,0	0,00	3,38	3,86	4,56	5,43	6,57	7,14	7,79	8,32	9,17
55,6	3,00	3,28	3,62	4,07	4,75	5,80	6,34	7,06	7,50	8,16
58,1	3,08	3,48	3,85	4,50	5,42	6,75	7,44	8,23	8,98	9,34
60,2	3,13	3,42	3,88	4,56	5,52	6,61	7,31	7,89	8,75	9,48
62,4	3,34	3,66	4,08	4,70	5,44	6,63	7,34	8,07	8,60	9,28
64,0	3,47	3,85	4,32	4,95	5,79	6,76	7,36	7,83	8,25	9,08
66,4	4,14	4,52	4,96	5,69	6,66	7,70	8,37	8,72	9,55	9,69
68,0	4,16	4,55	5,01	5,74	6,61	7,73	8,41	8,81	9,40	9,78
73,5	5,25	5,79	6,44	7,20	8,14	9,14	9,82	10,03	10,64	11,24
59,2	3,96	4,29	4,64	5,26	5,90	6,72	7,71	7,74	8,20	8,82

Annexe 2 : Estimations et erreurs standards (S) des paramètres a et b (en mm) de l'ellipse obtenues par la méthode des moindres carrés non linéaires.

LF	a cal	b cal	Sa	Sb
31,1	5,02	1,42	0,065	0,029
32,5	6,10	1,79	0,044	0,021
34,3	7,17	1,97	0,107	0,051
35,0	6,36	1,68	0,103	0,047
35,7	5,16	1,79	0,048	0,026
40,3	6,15	2,09	0,070	0,038
41,4	5,82	1,82	0,102	0,051
43,2	6,28	2,04	0,071	0,037
47,0	7,52	2,62	0,067	0,038
49,8	9,69	2,70	0,135	0,062
58,8	9,54	3,09	0,085	0,046
65,0	11,76	3,78	0,086	0,046
67,0	10,04	3,65	0,104	0,060
68,9	10,21	4,18	0,074	0,049
75,2	9,20	3,78	0,077	0,051
81,5	10,72	3,97	0,056	0,036
83,9	11,04	5,01	0,106	0,078
24,9	4,71	1,18	0,114	0,048
27,4	5,17	1,48	0,131	0,058
30,8	5,59	1,44	0,101	0,041
31,8	5,69	1,41	0,119	0,048
33,2	5,76	1,83	0,083	0,042
36,3	5,45	1,81	0,101	0,058
38,0	6,01	1,97	0,076	0,040
42,0	7,29	2,10	0,114	0,053
45,2	7,28	2,50	0,109	0,060
46,0	7,06	2,21	0,070	0,035
48,0	6,82	2,36	0,067	0,037
48,8	7,48	2,26	0,135	0,065
50,5	8,08	2,33	0,118	0,056
55,0	8,80	3,10	0,135	0,081
55,6	7,85	2,81	0,097	0,056
58,1	9,28	3,07	0,057	0,030
60,2	9,14	3,07	0,132	0,051
62,4	8,99	3,20	0,090	0,051
64,0	8,67	3,43	0,125	0,080
66,4	9,60	4,03	0,076	0,052
68,0	9,61	4,06	0,065	0,044
73,5	10,88	5,22	0,121	0,094
59,2	8,47	3,76	0,119	0,086

Annexe 3 : Valeurs de LF (cm) rétrocalculées à partir des mensurations (r , α)

LF obs	LF 0	LF 5	LF 10	LF 15	LF 20	LF 30	LF 40	LF 50	LF 60	LF70
31,1	28,7	27,6	27,5	27,8	28,5	29,1	29,8	30,5	30,5	30,4
32,5	36,8	35,4	35,3	36,1	36,0	36,4	35,7	31,3	35,2	
34,3	46,1	42,5	41,7	41,9	41,8	40,5	38,6	36,5		
35,0	39,3	36,3	35,3	36,5	36,2	35,1	33,5	32,0		
35,7	29,9	28,7	30,5	32,2	33,2	34,7	36,1	35,5	35,5	35,4
40,3	38,1	36,4	36,9	37,7	39,2	40,9	41,4	41,5	41,0	39,6
41,4	36,2	33,2	33,0	34,3	35,4	36,6	37,2	36,8	37,2	36,7
43,2	39,2	37,3	37,1	38,0	38,9	39,7	40,4	40,9	40,5	40,4
47,0	48,6	47,6	47,4	48,3	49,1	50,7	51,0	50,1	48,3	47,4
58,8	65,3	65,2	62,4	61,9	61,9	60,0	58,7	56,0	54,6	
67,0	62,8	68,0	67,9	68,8	68,7	68,2	68,5	66,5	64,7	63,7
68,9	73,9	72,2	72,2	71,1	72,1	74,5	74,8	75,5	75,3	74,1
75,2	78,2	62,7	62,3	63,9	65,7	68,1	68,6	69,0	67,8	66,3
81,5	78,3	75,7	74,5	73,9	74,4	72,5	72,6	71,5	70,4	
83,9	80,1	78,0	81,2	84,2	85,3	87,1	87,3	86,2	85,5	88,3
24,9	25,7	25,1	24,2	26,7	26,8	25,5	24,6	22,5	21,7	
27,4	28,5	28,2	28,9	32,5	32,3	29,9	29,3	28,3	27,7	26,9
30,8	34,0	30,1	29,7	30,5	31,1	30,7	30,0	30,2	29,3	28,9
31,8	34,5	30,8	29,9	30,9	31,2	31,1	29,0	28,9	27,1	
33,2	34,9	32,9	33,3	34,3	36,0	37,4	37,5	36,4	36,1	32,6
36,3	33,0	31,0	31,4	32,4	33,7	36,8	36,1	36,5	37,2	
38,0	37,1	34,6	35,6	36,6	37,2	38,9	39,6	39,1	39,2	37,8
42,0	45,5	44,5	44,0	44,3	44,5	43,1	40,3	38,9	37,4	
45,2	48,5	45,1	44,5	45,6	46,0	48,6	47,8	49,2	48,7	47,6
46,0	45,0	42,7	42,7	43,4	43,7	44,2	43,6	42,8	42,3	40,4
48,8	50,7	44,9	45,2	44,0	43,9	44,8	45,2	45,6	45,3	44,7
50,5	54,5	49,7	48,8	48,6	48,6	45,8	44,4	44,2	43,1	
55,0	62,3	56,6	56,8	57,3	58,6	59,2	59,0	57,3	50,9	
55,6	53,3	49,5	50,4	50,2	51,5	52,1	53,2	54,1	54,3	53,4
58,1	63,9	62,5	60,7	60,0	60,3	59,1	58,3	57,2	57,2	54,6
60,2	65,2	60,4	57,7	58,8	59,0	60,2	59,0	57,6	56,3	55,4
62,4	63,4	59,1	59,3	59,1	59,2	59,4	60,7	60,2	59,7	58,6
64,0	61,5	56,0	57,2	59,3	60,4	63,0	63,6	63,4	62,5	60,5
66,4	67,1	67,8	65,2	68,6	69,3	72,2	72,3	71,7	71,9	70,6
68,0	68,0	66,4	66,0	68,9	69,6	71,7	72,9	72,4	72,3	70,9
59,2	59,1	55,5	56,4	62,5	60,0	64,2	67,3	67,6	68,7	67,9

Annexe 4 : Mesures d'annuli effectuées sur les demi blocs observés et tailles rétrocalculées associées (LF cal., en cm). Les annuli sont définis par r (distance au nucléus en μm selon une direction faisant un angle α (en degré) par rapport au grand axe de la coupe.

Référence	r (μm)	α (degrés)	LF cal (cm)	
M33	1016	49	15,1	
	1532	-	21,7	
	2114	-	29,0	
	2681	-	35,9	
	3264	-	42,9	
	3629	-	47,2	
	4070	-	52,4	
	4711	-	59,9	
F8	2106	51	28,8	
	2439	-	34,0	
	2772	-	38,1	
F12	2883	29	31,9	
	2929	33	35,1	
F18	3700	5	20,0	
	4229	12	29,4	
	5089	14	38,4	
	5065	19	43,6	
F19	2605	33	31,5	
	3180	-	37,8	
	3594	-	42,4	
	3911	-	45,9	
F20	4119	16	32,4	
	4552	-	36,0	
	5020	-	40,0	
F21	2235	32	26,8	
	2694	-	31,9	
	3520	-	40,8	
	4021	-	46,2	
	4328	-	49,5	
F34	2091	37	27,8	
	2434	-	31,8	
	3116	-	39,8	
	3311	-	42,1	
	3667	-	46,2	
	4108	-	51,3	
	4426	-	54,9	
	4659	-	57,6	
	4944	-	60,9	
	5158	-	63,3	
	5359	-	65,6	
F41	2164	45	32,2	
	2647	-	38,6	
	3129	-	44,9	
	3621	-	51,1	
	3669	-	55,5	
	4744	-	65,2	
	5459	-	74,1	
	5784	-	78,1	

Référence	r (μm)	α (degrés)	LF cal (cm)
F6	1469	36	19,9
	1715	51	24,8
	2346	33	28,6
	2995	26	30,9
	3762	23	35,8
F7	1256	39	18,2
	2031	-	28,0
	2721	-	36,4
F13	1621	43	24,3
	2236	-	32,4
	2539	-	36,2
	2824	-	39,9
	2973	-	41,8
F17	3413	11	22,5
	4737	-	32,4
	5219	-	36,2
	5702	-	40,1
	6223	-	44,5
	6326	-	45,3
F18	3700	5	20,0
	4229	12	29,4
	5089	14	38,4
	5065	19	43,6
F23	1767	31	21,2
	2309	-	27,1
	2705	-	31,4
	3101	-	35,6
	3448	-	39,3
F26	1808	32	22,2
	2692	-	31,9
	3175	-	37,1
	3491	-	40,5
	3866	-	44,5
	4099	-	47,1
	4307	-	49,3
	4540	-	51,8
	4647	-	53,1
F28	2328	23	23,2
	3066	-	30,1
	3730	-	36,4
	4175	-	40,6
	4314	-	41,9
	4734	-	45,9
	5137	-	49,8
	5479	-	53,1
	5620	-	54,5

Référence	r (μm)	α (degrés)	LF cal (cm)
F36	2193	30	25,3
	2751	-	31,2
	3118	-	35,0
	3626	-	40,4
	3935	-	43,6
	4051	40	53,0
	4310	40	56,0
	4154	45	57,9
4052	49	59,2	
M3	1963	30	22,9
	3016	25	30,4
	4068	20	35,8
M4	3270	13	23,0
	3109	22	29,0
	3631	20	31,9
EM4	2282	28	25,1
	1973	49	31,3
	3550	23	33,8
M6	2648	23	25,5
	3237	-	30,9
	3573	-	34,0
M10	1309	40	19,2
	2098	36	27,4
	3725	22	34,6
	3995	22	37,0
EM6	2370	29	26,6
	2937	-	32,5
	3327	-	36,5
	4021	-	43,6
M17	1939	35	25,0
	2488	-	31,4
	2945	-	36,6
	3236	-	39,9
	3480	-	42,6
	4557	25	45,2
EM4	2282	28	25,1
	1973	49	31,3
	3550	23	33,8
M29	2066	34	26,0
	2374	-	29,5
	2632	-	32,4
	3000	-	36,5
	3250	-	39,3
	3490	-	42,0
	4009	-	47,8
	4150	-	49,3
	4334	-	51,3
	4592	-	54,2

Référence	r (μm)	α (degrés)	LF cal (cm)
EF1	3351	34	40,4
	3485	-	41,9
	3785	-	45,3
	4061	-	48,3
	4294	-	50,9
	4837	-	56,9
	4961	-	58,3
	5162	-	60,5
	5279	-	61,8
	5395	-	63,0
	M13	1393	20
2571		31	29,9
2662		41	36,7
2995		41	40,9
M16	2323	34	28,9
	2622	-	32,3
	3013	-	36,7
	3571	-	42,9
	3787	-	45,3
	4012	-	47,8
4187	-	49,7	
M23	4263	16	33,6
	5314	18	44,7
	4746	26	48,1
	4491	31	50,3
	5436	26	54,9
	5489	30	59,9
M24	3112	30	37,1
	3913	38	49,8
	4720	32	53,7
EM1	1409	30	16,9
	2441	-	27,9
	3173	-	35,6
	3564	-	39,7
	3814	-	42,3
	EM3	2123	47
2748	-	41,0	
2906	-	43,1	
3064	-	45,1	
EM7	4626	22	42,8
	3998	34	47,6
	4983	30	54,6
	6080	27	62,5
	6715	25	66,5
M28	3336	38	43,1
	3771	-	48,2
	4463	-	56,2
	5023	-	62,7
	5247	-	65,3
	5430	-	67,4

Référence	r (μm)	α (degrés)	LF cal (cm)
M32	2488	40	34,1
	2979	-	40,1
	3396	-	45,1
	3937	-	51,6
	4960	-	63,7
	5493	-	70,0
M33	1016	39	15,1
	1532	-	21,7
	2114	-	29,0
	2681	-	35,9
	3264	-	42,9
	3629	-	47,2
	4070	-	52,4
	4711	-	59,9
M35	1898	49	30,2
	2182	-	34,2
	2705	-	41,3
	3039	-	45,8
	3946	-	57,8
	4484	-	64,8
	4813	-	69,1
	5007	-	71,6
M36	2388	36	30,8
	3129	-	39,3
	4127	-	50,7
	4868	-	59,1
	5525	-	66,5
M31	2824	28	30,6
	3607	-	38,5
	4168	-	44,2
	4853	-	51,2
	5516	-	58,0

Annexe 5 : Couples des valeurs : distance au nucléus (R en μm) et densité de stries (D stries/ μm) utilisés pour l'ajustement du modèle $D = f(R)$.

R	D	R	D	R	D
310	0,1039	1106	0,2192	3509	0,6000
553	0,1796	1730	0,2929	3919	0,4118
740	0,2220	1864	0,4694	3977	0,5500
890	0,1071	2092	0,8000	4339	0,3846
1123	0,0666	2041	0,9166	944	0,1528
1249	0,0840	2671	0,5556	1178	0,1280
1335	0,0947	2742	0,4615	1426	0,2326
1387	0,2593	2870	0,4545	1542	0,1923
1737	0,1070	190	0,0656	1850	0,2258
1832	0,0952	258	0,2034	2024	0,2187
1923	0,1084	879	0,1579	2113	0,2500
2082	0,1176	971	0,1628	2153	0,2070
2171	0,1176	1401	0,2174	2292	0,6184
2368	0,1932	1657	0,1950	2461	0,3333
2568	0,2139	1722	0,2604	2620	0,5051
2621	0,1538	781	0,0746	3062	0,5833
2663	0,2292	875	0,0789	3521	0,7143
2717	0,2777	972	0,0792	281	0,0833
2818	0,2500	1134	0,0896	886	0,0867
3085	0,2976	1275	0,1159	1566	0,1309
3208	0,4255	1431	0,1623	1688	0,1607
3245	0,2292	1537	0,1423	2155	0,2444
3341	0,2500	1650	0,1276	2442	0,2647
3533	0,2917	1745	0,1774	4375	0,1905
3569	0,4800	1977	0,1429	4451	0,2391
3773	1,0000	2115	0,1486	335	0,1364
3815	0,4762	2324	0,2800	620	0,1163
4025	0,7346	2593	0,3889	818	0,1176
4341	0,4030	2630	0,3333	1000	0,1351
4537	0,3430	2952	0,3415	1488	0,4444
4837	0,5000	3067	0,7875	1618	0,2667
908	0,1495	3173	0,4348		
1073	0,1695	3439	0,5000		

**Lecture assistée par ordinateur en otolithométrie.
Application à l'étude de l'âge de *Lutjanus sebae* (Cuvier, 1828) aux Seychelles.**

Résumé : La présente étude porte sur la détermination otolithométrique de l'âge d'un poisson exploité sur le plateau des Seychelles, *Lutjanus sebae* (Cuvier, 1828). Les observations ont été effectuées sur des coupes transversales d'otolithes sagittas incluses, à l'aide d'un dispositif d'analyse d'image. En raison des particularités du matériel biologique étudié, une approche originale du rétrocalcul de la taille des poissons est envisagée. Une partie du plan de coupe est modélisée par une ellipse, permettant ainsi de s'affranchir de la contrainte d'un axe standard de lecture. Parallèlement à l'acquisition des données, une mise au point de l'appareillage utilisé est effectuée. Ainsi, l'expérience acquise lors des différentes observations permet de discuter des limites de la technique du point de vue de l'extraction de l'information et de son traitement ultérieur. Les résultats de lectures réalisées suggèrent la formation de deux annuli par an. Le principe du comptage des stries supposées journalières par la méthode de la densité est exposé pour ce qui concerne son application à l'espèce étudiée, et les résultats préliminaires obtenus sont présentés.

Mots clés : *Lutjanus sebae*, Seychelles, âge, otolithe, annulus, microstrie.