

**TECHNIQUES DE LECTURE DES OTOLITHES  
DE GADIDES  
EN COUPES FINES,  
EXTENSION A D'AUTRES ESPECES**

**Andre CARPENTIER<sup>1</sup>, Jean-Louis DUFOUR<sup>1</sup>, Yves VERIN<sup>1</sup>**

---

**RESUME**

La participation du laboratoire de Boulogne/Mer aux groupes de travail du Conseil International pour l'Exploitation de la Mer, demande de lire un nombre important d'otolithes (15 à 18000 par an). La nécessité d'acquérir des résultats fiables et rapides a conduit le laboratoire à adapter et améliorer la technique de Bedford : les otolithes sont inclus dans de la résine polyester et tronçonnés en lames minces. Cette technique a été testée et étendue à d'autres pièces anatomiques. Ses développements sur la sole et récemment sur le chinchard, sont présentés ici.

***THIN SLICE METHODS TO READ OTOLITHS OF GADOID FISH,  
APPLICATION TO SOME OTHER SPECIES***

**ABSTRACT**

*Assessment of North Sea gadoids stocks is based on catch data analysis. Determination of the age composition of french landings implies to read from 15000 to 18000 otoliths each year. This is done at IFREMER laboratory in Boulogne/Mer. In order to get reliable and quick results, the technic previously proposed by Bedford (1977 and 1983) has been modified and improved. Otoliths are set in black polyester resin and are cut in thin slices. Then the readings can be done with a profile projector or a binocular microscope. In addition to gadoids otoliths, this technic has been tested and extended to some other species (flatfish) and anatomical pieces (vertebra, fishing filament, ...).*

---

<sup>1</sup> IFREMER, Laboratoire Ressources Halieutiques, BP 699, 62200 BOULOGNE/MER

*The developments made in Boulogne for sole since 1985 and horse mackerel in 1990 are presented ; the results of these readings are compared with those obtained by the more "traditional" technics. The results show the reliability of the technic which is now the routine one for sole and gadoids. Although some problems remain in the interpretation of the observed rings on the otoliths, the thin slices technic allows to replace the former time consuming methods by a more reliable and quicker one.*

## INTRODUCTION

Jusqu'en 1983, la lecture des otolithes de gadidés se faisait selon plusieurs techniques : ponçage ou cassure, avec ou sans brûlage préalable. Le but de ces manipulations était bien entendu d'obtenir une image passant par le nucleus à partir duquel on dénombre les zones hivernales et estivales permettant d'estimer le groupe d'âge du poisson étudié. Chaque otolithe est traité à l'unité, ce qui rend longue et fastidieuse l'étude de grandes séries.

Le laboratoire de Boulogne sur Mer devant étudier jusqu'à 18 000 otolithes par an, s'est inspiré d'une technique utilisée au laboratoire de Lowestoft (Grande Bretagne) et décrite par Bedford en 1977 et 1983. Cette technique a été simplifiée et améliorée par Souplet et Dufour (1983) afin de réduire considérablement le temps de préparation et d'améliorer la qualité de la lecture. Le principe général consiste à inclure les otolithes dans un milieu permettant de les manipuler aisément en grand nombre, de les observer facilement et avec une plus grande fiabilité et éventuellement de les stocker sous un encombrement minimum.

## MATERIEL ET METHODE<sup>1</sup>

### LE MOULE

Le moule doit être réalisé avec une matière, telle l'acier inoxydable, qui ne réagisse pas avec la résine, qui ne s'oxyde pas, qu'on puisse surfacer de façon parfaite et qui soit suffisamment résistante pour que les filetages ne se faussent pas. La planéité de la plaque de base (figure 1, pièce C) et l'état de surface de toutes les pièces doivent être rigoureux pour assurer l'étanchéité des moules et faciliter le démoulage des blocs (les côtes ne sont données qu'à titre indicatif ; la hauteur et la largeur des blocs nous ont été dictées par les dimensions de l'étau de la tronçonneuse). Entièrement démontable, ce type de moule permet un démoulage et un entretien plus aisés. Par ailleurs, la conception modulaire de l'ensemble (5 moules séparés) autorise à n'utiliser que la quantité de résine strictement nécessaire.

---

<sup>1</sup> Toutes informations utiles sur les équipements nécessaires aux coupes fines peuvent être obtenues auprès des auteurs.

## INCLUSION DES OTOLITHES

Les otolithes sont inclus dans des blocs de résine polyester à raison de deux couches d'otolithes par bloc. Une résine colorée en noir opaque évite toute lumière parasite lors de l'observation. Après coulée et polymérisation d'une première couche de résine qui servira de fond, mais avant son séchage complet, les otolithes sont mis en place, face convexe vers le bas, et alignés. Le maintien en place des otolithes est assuré en exerçant sur chacun d'eux une légère pression qui les imprime dans la surface encore collante de la résine. Une nouvelle couche de résine est alors coulée pour déposer, suivant la même méthode, une deuxième couche d'otolithes. Enfin, une dernière couche de résine termine la préparation.

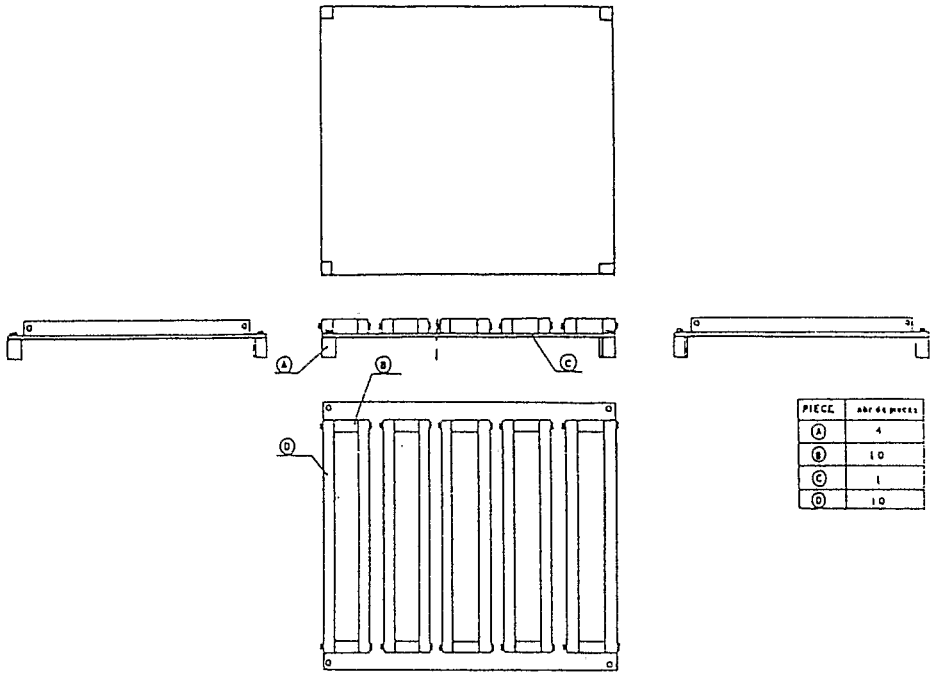
Au cours de la manipulation, il importe de disposer dans le bloc une marque qui permettra par la suite de repérer l'orientation des coupes fines (des spaghettis alimentaires font très bien l'affaire !).

Par ailleurs, les otolithes étant disposés au sein d'une même couche en rangées transversales, il importe que les nucléi des otolithes de deux rangées superposées soient situés rigoureusement dans un même plan vertical et perpendiculaire aux faces latérales du bloc. L'intersection de ce plan avec la face supérieure du bloc doit être repérée de façon précise. A cette fin, des repères ont été tracés à la scie sur les côtés des moules. Un curseur muni d'une fenêtre de visée (figure 1) permet de placer les otolithes dans l'alignement de ce repère et de matérialiser, sur le dessus du bloc de résine, le plan des nucléi. Après durcissement complet, les plans contenant les nucléi sont repérés et marqués à chaud sur la surface du bloc qui peut alors être référencé, démoulé et stocké. Les blocs sont ensuite débités en coupes fines.

## REALISATION DES COUPES FINES

Pour effectuer ces coupes, nous utilisons un modèle standard de tronçonneuse d'atelier pour tous matériaux. Elle est équipée, en série, de toutes les sécurités requises (carter de protection de la meule, carter de protection des courroies, contacts de sécurité sur les carters) et d'une meule diamantée de 0.25 mm d'épaisseur et de 127 mm de diamètre tournant à 2000 t/mn. Les particules de diamant portent l'épaisseur du trait de scie à environ 0.5 mm. A notre demande, certaines modifications mineures ont été réalisées sur la tronçonneuse par le fabricant afin de l'adapter à la spécificité du travail (annexe 1).

La coupe s'effectue sous arrosage d'un mélange à 5 % d'huile spéciale fournie par le fabricant et d'eau pour éviter la surchauffe de la surface de coupe et la projection de poussière de résine. Les lames minces sont réalisées de la façon suivante : le bloc est positionné grâce aux repères tracés à sa surface, serré dans l'étau puis tronçonné ; à l'aide de la butée micrométrique, on fait avancer le bloc d'une distance égale à l'épaisseur de la coupe fine désirée, augmentée de l'épaisseur du trait de scie (en moyenne 1 mm) ; le bloc est serré à nouveau et un deuxième tronçonnage permet de séparer la lame mince. L'expérience nous a montré que, pour une bonne observation, l'épaisseur de ces lames doit être comprise entre 0.4 et 0.7 mm.



PLAN DU MOULE A INCLUSION

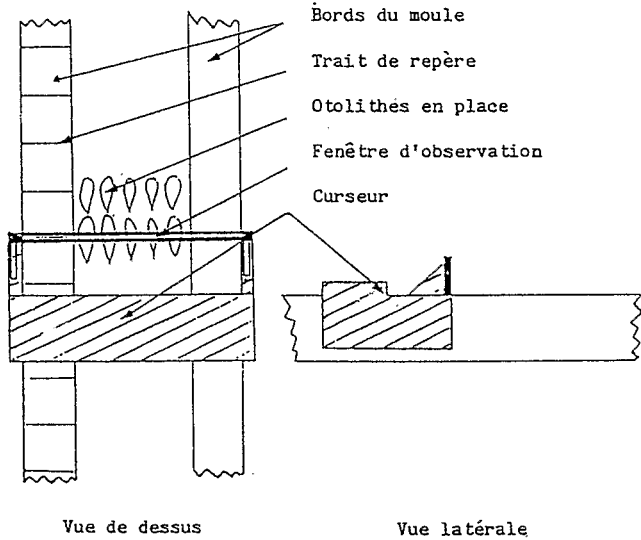


Figure 1. Plan du moule à inclusion. Curseur de repère

Les lames peuvent être facilement stockées dans des boîtes pour préparations microscopiques, ajustées, si besoin est, à leurs dimensions.

## OBSERVATION DES COUPES OBTENUES

### APPLICATION AUX OTOLITHES DE GADIDES

L'observation de ces coupes se fait en lumière transmise à la loupe binoculaire ou mieux, sur l'écran d'un projecteur de profil NIKON type I équipé de différents objectifs (20x, 50x et 100X), d'une platine micrométrique et de deux verniers de 25 mm et 50 mm de course ; un éclairage diascopique à iode lui est intégré. A chaque observation, une solution de glycérine est déposée sur la coupe, afin d'accentuer le contraste de l'image obtenue. Ce procédé, utilisé pour des lectures en routine, altère cependant avec le temps la structure de l'otolithe.

Pour la réalisation de collections, il est préférable de recouvrir les coupes de résine transparente. A la lecture, les zones hyalines, formées en période hivernale apparaissent claires car elles laissent filtrer la lumière et les zones opaques, de croissance estivale forment les anneaux sombres. Le comptage des anneaux clairs ou "anneaux d'hivers" permet de connaître le groupe d'âge du poisson étudié (figure 2).

### APPLICATION AUX OTOLITHES DE SOLES

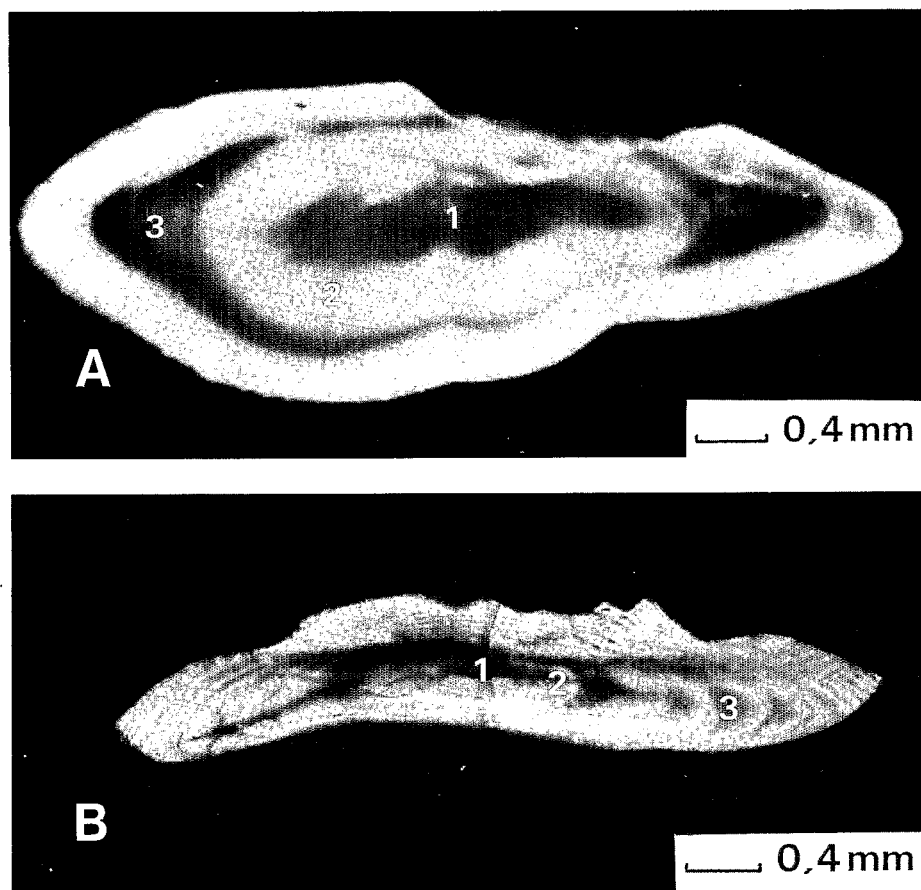
L'adaptation de la technique des coupes fines aux otolithes de soles a été réalisée en 1985, date à laquelle l'étude de cette espèce a commencé au laboratoire de Boulogne sur Mer. La technique traditionnelle de lecture utilisée jusqu'alors était celle du brûlage (Christensen, 1964) reconnue comme fastidieuse.

L'inclusion des otolithes dans la résine est réalisée exactement de la même façon que pour ceux des gadidés, mais la coupe doit passer par le plus grand axe de la *sagitta*. D'autre part, les otolithes de soles étant beaucoup plus petits, il faut débiter de 3 à 6 lames très fines par rangée d'otolithes afin d'être sûr de passer par le nucleus. Chaque lame doit avoir une épaisseur de 0.25 mm : au-delà, la lecture serait pratiquement impossible ; en deçà, la section d'otolithe risque de se désolidariser de la résine à cause de la pression de l'eau de refroidissement de la scie.

Enfin, pour des individus assez âgés, une coupe trop fine peut parfois estomper les contrastes entre les zones estivales et hivernales.

Lors de la mise au point de cette méthode, une étude technique a été réalisée. Les deux otolithes ont été prélevés sur chaque sole étudiée : un des otolithes a été brûlé et cassé, le deuxième inclus et tranché. Des comparaisons de lecture ont donc pu être effectuées sur 231 paires d'otolithes, prises à différentes périodes de l'année (56 en mars-avril, 90 en septembre et 85 en décembre).

La période de prélèvement des otolithes n'a entraîné aucun problème d'interprétation, et les deux méthodes ont donné le même résultat pour 184 soles, c'est-à-dire 79.7 % de l'échantillon. En coupes fines, un âge plus élevé a été attribué à 28 soles, soit 12.1 % et un âge moindre à 19 individus, soit 8.2 % (figure 3).



Echelle : 0,4 mm

Figure 2. A : coupe fine d'otolithe de merlan ; B : coupe fine d'otolithe de sole.  
1 : nucleus ; 2 : zone de croissance lente ou anneau d'hiver ; 3 : zone de croissance rapide ou anneau d'été

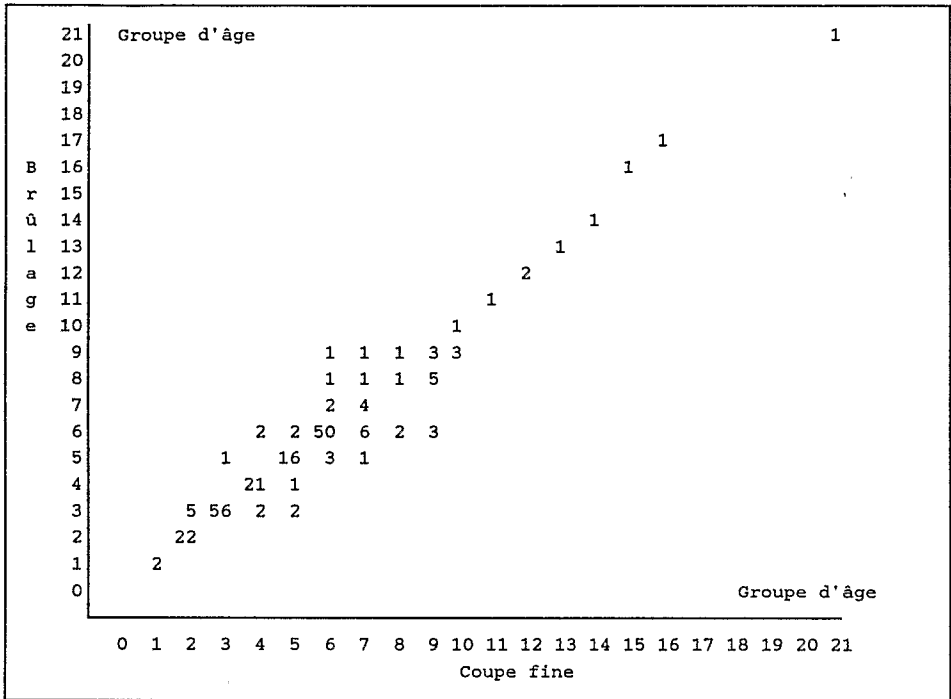


Figure 3. Comparaison des lectures d'otolithes de sole observés en coupe fine et après brûlage (N = 231).

Parmi ces 47 couples de lectures divergentes, il faut cependant noter que 33 ne s'écartent que de 1 an. Une partie de ces faibles écarts peut provenir d'un manque de pratique de l'une des méthodes. En outre, les lectures ne peuvent pas être considérées comme des résultats strictement reproductibles. Ces deux méthodes donnent donc des résultats équivalents dans près de 80 % des lectures et les écarts, le plus souvent limités à 1 an, sont à peu près aussi nombreux dans les deux sens.

La technique des coupes fines demande cependant un équipement plus coûteux que celle du brûlage, à savoir une tronçonneuse et un moule (les coupes pouvant se lire sur une loupe binoculaire). Par contre, elle n'altère pas la structure de l'otolithe (elle peut l'être par cuisson lors du brûlage), la précision de lecture est probablement accrue pour les individus plus âgés, le gain de temps est considérable : le traitement de 300 otolithes demande deux jours par inclusion et 10 jours par brûlage. Enfin la manipulation et le stockage sont plus aisés.

#### APPLICATION AUX OTOLITHES DE CHINCHARD

Vu son intérêt économique réduit, le chinchard était assez peu étudié jusqu'ici. L'abondance de l'espèce en fait une ressource potentielle dont l'exploitation pourrait se développer à court terme dans le contexte actuel de pénurie de ressource.

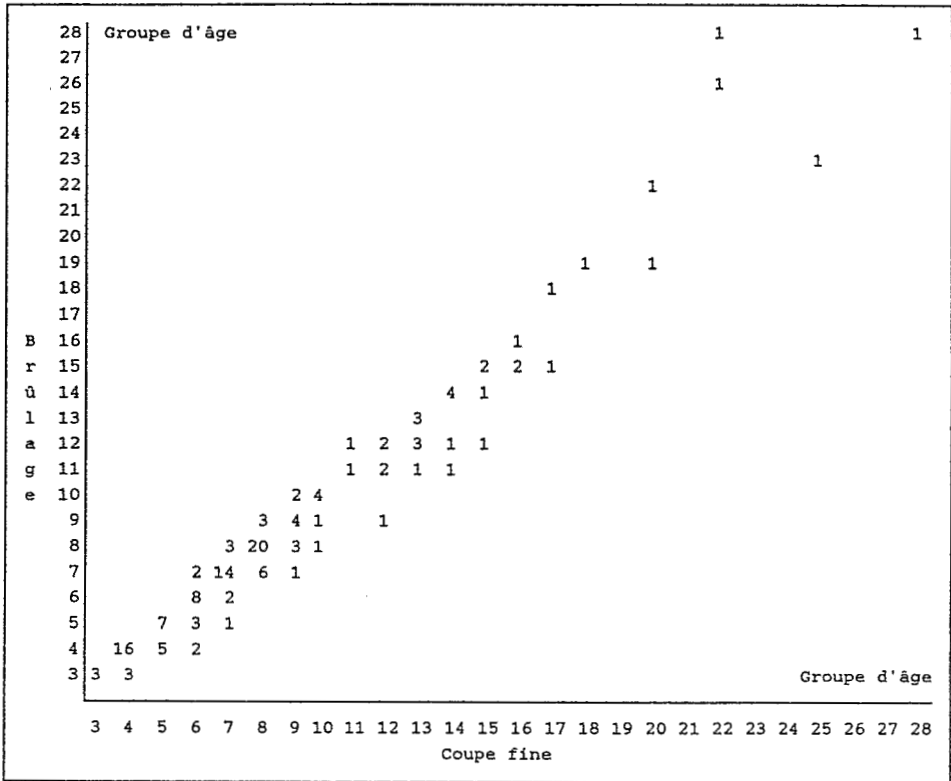


Figure 4. Comparaison des lectures d'otolithes de chinchard observés en coupe fine et par la technique "cassé-brûlé" (N = 152).

C'est pourquoi le développement des techniques nécessaires à la détermination des structures démographiques a été réalisé dès maintenant.

Dans cette optique, un programme international d'échanges d'otolithes entre différents pays a été mis en place en 1989, coordonné par le CIEM. Les résultats obtenus par les lecteurs ont été discutés lors d'un groupe de travail (Lisbonne, novembre 1990).

Cette confrontation devait permettre, non seulement de résoudre les problèmes d'interprétation spécifiques au chinchard, notamment ceux posés par le premier anneau, mais aussi de trouver une méthode commune de lecture.

Seule, la méthode de lecture sur section transversale de l'otolithe après cassage, polissage et brûlage a été retenue. Elle permet en effet d'observer, plus facilement les structures difficilement perceptibles sur l'otolithe entier. Cette méthode, "cassé-brûlé" a été décrite par Heltink et Kuitert (1989) et comporte deux étapes de préparation : 1) l'otolithe est cassé au niveau du noyau, puis poli à l'aide d'un papier abrasif et 2) il est ensuite légèrement brûlé afin de faire ressortir les anneaux hyalins.



La lecture se fait sous loupe binoculaire, en lumière réfléchie. L'otolithe posé sur fond noir est immergé dans l'alcool à 70 %. Suite aux recommandations du groupe de travail, tous les anneaux observés sont comptés ; on considère qu'il n'y a pas de "faux anneaux" chez le chinchard, bien que l'interprétation de premier anneau reste discutable. Cette méthode présente cependant des inconvénients, notamment son coût en temps. C'est pourquoi des lectures comparatives ont donc été entreprises de la même façon que chez la sole. Les deux otolithes ont été prélevés sur 152 chinchards collectés sur une période de 1 an en Manche orientale et couvrant la gamme de taille de 12 à 36 cm ; l'un des otolithes a été lu en coupe fine, le second a été lu en utilisant une technique "cassé-brûlé" modifiée. Au lieu d'être polis, les otolithes ont été coupés à l'aide de la tronçonneuse décrite plus haut. Cette technique, plus rapide, offre le même résultat qu'un polissage manuel. La réalisation des coupes fines suit les mêmes étapes que pour les gadidés ou la sole. L'épaisseur de chaque coupe (plusieurs sont réalisées sur un même otolithe) est de 0.4 mm. Avant lecture, sous loupe binoculaire en lumière réfléchie, ces coupes fines sont recouvertes de glycérine afin d'obtenir une meilleure diffusion de la lumière.

Les deux techniques de lecture ont donné un même nombre d'anneaux pour 90 paires d'otolithes, soit 59 % (figure 4). Un nombre d'anneaux plus élevé a été lu sur l'otolithe cassé et brûlé pour 16 individus, soit 11 %. Mais pour 13 poissons, cet écart ne dépassait pas un anneau. En lecture sur coupe fine, un nombre d'anneaux supérieur a été lu sur 46 otolithes, soit 30 %, dont 32 avec un écart de 1 anneau.

## DISCUSSION

La technique des coupes fines utilisée en routine depuis 7 ans pour les gadidés, nous a paru présenter un certain nombre d'avantages :

- gain de temps considérable : un technicien entraîné peut positionner, inclure et couper près de 1000 otolithes en 8 ou 10 heures de travail effectif,
- le plan de coupe est régulier et peut être positionné de façon précise,
- les lectures sont plus faciles, plus rapides et plus fiables (tous les anneaux sont observés, même quand ils sont superposés ou "enroulés" chez les individus âgés de certaines espèces),
- le stockage est plus aisé que celui des fragments d'otolithes brûlés.

Néanmoins, quelques contraintes techniques sont apparues :

- les produits nécessaires à la fabrication de la résine dégagent des vapeurs qui obligent à effectuer ces manipulations sous une hotte aspirante,
- le projecteur de profil doit être placé de façon à éviter les lumières parasites, réfléchies par le verre dépoli de l'écran,
- à la coupe, la résine produit une poussière très fine qui tend à s'agglomérer et à former des "boues" obstruant ainsi le circuit d'arrosage de la tronçonneuse ; nous avons donc installé un système de filtration et de décantation du liquide d'arrosage.

Cette technique est aujourd'hui employée en routine au laboratoire de Boulogne sur Mer pour les otolithes de soles de la Manche orientale et du sud de la mer du

Nord. L'interprétation des images obtenues ne pose aucun problème. De plus, le pourcentage de lectures attribuant un âge plus élevé (12 % en coupes fines contre 8 % par brûlage) peut indiquer un meilleur traitement du bord de l'otolithe où les anneaux noirs issus du brûlage peuvent être mal discriminés. Il pourrait cependant en être autrement sur d'autres stocks de soles. Ainsi, les otolithes de soles du golfe de Gascogne paraissent plus délicats à interpréter, des essais récents faisant apparaître des images moins nettes. Il est vrai que dans ce secteur la technique du brûlage connaît aussi parfois des difficultés.

Pour le chinchard, avec seulement 59 % de lecture identique, les résultats semblent *a priori* médiocres. Ce pourcentage relativement faible pourrait provenir de l'interprétation du premier anneau (Lourdes-Marecos, 1986) que ce soit en coupe fine ou en lecture "cassé-brûlé". De plus, les lectures d'otolithes donnent rarement des résultats strictement reproductibles et la variabilité des résultats offerts par une technique avec les écarts observés entre les deux méthodes n'a pas été testée ici. Ajoutons que le chinchard restera probablement une espèce chez qui la lecture d'âge est délicate ; l'otolithe est assez petit, les anneaux annuels fins et l'espèce vit de nombreuses années. Sous ces réserves, les deux méthodes sont satisfaisantes et les résultats comparables. L'amélioration des coupes fines peut être obtenue en optimisant l'épaisseur de coupe ou en incluant la coupe fine entre deux plaques de verre après l'avoir enduite de résine transparente ou liquide de montage qui augmente les contrastes. Ceci a déjà été expérimenté et permet en effet d'obtenir une image plus claire, sans reflet parasite.

## CONCLUSION

La technique de lecture des otolithes en coupe fine permet, pour l'étude des gaidiés, un travail plus rapide et de meilleure qualité. Son application à la sole, avec succès, depuis 1985 et au chinchard en 1990 laisse envisager un possible développement vers d'autres espèces. Elle a l'avantage de donner une image naturelle et réelle des structures composant l'otolithe et résout les problèmes liés aux superpositions d'anneaux ou aux enroulements des bords de la sagitta chez des individus âgés.

Les résultats comparatifs avec les techniques classiques ont démontré la fiabilité du procédé (mais cette méthode connaît aussi des limites) pour les espèces de la Manche et de la mer du Nord. Cependant, un essai de lecture des soles du golfe de Gascogne en janvier 1991 semble nous donner des images difficiles à interpréter mais le nombre restreint d'otolithes étudiés nous interdit de tirer des conclusions prématurées. En outre, le chinchard, dont les lectures d'âges sont un sujet de débat international, reste un cas difficile en coupe fine, mais ces essais sont encore trop récents et demandent une période d'adaptation.

La technique de lecture d'otolithes en coupes fines ne résout pas tous les problèmes liés à l'interprétation de l'âge des poissons mais permet, pour certaines espèces de remplacer des méthodes fastidieuses, à l'heure où l'évolution des programmes scientifiques exige une rapidité et une fiabilité accrues dans l'obtention des données.

## REFERENCES

- ANON., 1987. Report of the horse mackerel (scad) age determination workshop (Fisheries Laboratory Lowestoft 9-14 April 1987).
- ANON., 1989. Report of the working group of the assessment of pelagic stocks in divisions VIIIc and IXa and horse mackerel. ICES, C.M. 1989/ASSESS : 19.
- BEDFORD B.C., 1977. Further development of the technique of preparing thin sections of otoliths set in black polyester resin. ICES, C.M. 1977/F : 24.
- BEDFORD B.C., 1983. A method for preparing sections of large numbers of otoliths embedded in black polyester resin. *J. Cons. Int. Explor. Mer* , 41 : 4-12.
- BORGES M.F., 1989. Results of the horse mackerel (*Trachurus trachurus* L.) otolith exchange programme during 1988-1989. ICES, C.M. 1989/H : 13.
- CHRISTENSEN J.M., 1964. Burning of otoliths, a technique for age determination of soles and other fish. *J. Cons. Int. Explor. Mer* , 29(1) : 73-81.
- ELTINK A., KUITER C.J., 1989. Validation of ageing techniques on otoliths of horse mackerel (*Trachurus trachurus* L.). ICES, C.M. 1989/H : 43.
- LOURDES-MARECOS L., 1986. Preliminary analysis of horse mackerel (*Trachurus trachurus* L.) otolith ( $L_1$ ) measurements. ICES, C.M. 1986/H : 72.
- SOUPLET A., DUFOUR J.L., 1985. Developpement des techniques de lecture des otolithes en coupes fines. *Rapp. Techn. ISTPM* , n° 5, 1983 (IFREMER).

## Annexe 1. Références des produits et du matériel utilisés. Dosages.

## RESINE

La résine utilisée est une résine polyester "NORSODYNE" S-2010 V accélérée au "STRATYL" y 3 et catalysée par un peroxyde organique "BUTANOX" M 50. Les doses des différents produits ont été légèrement modifiées par rapport aux spécifications du fabricant. Pour 100 g de résine, correspondant à 1 couche pour 1 barre, il faut :

- 0.1 g d'accélérateur (au maximum),
- 2 g de catalyseur,
- 15 g de colorant noir.

**Tronçonneuse** : le fabricant est :

Ets DUX, Avenue de Scandinavie, Z.A. Courtaboeuf-Orsay, 91940 LES ULIS.

Il s'agit d'une tronçonneuse type D 15 avec les modifications suivantes :

- flasques de diamètre 100,
- platine avec fente de 0.6 mm,
- mors de l'étaux ouvrant à 50 mm.

**Meule diamantée** : elle est fabriquée par :

TRIEFUS Ltd, Napier Way, Crawley, Sussex, Grande Bretagne,  
sous la référence n° 108.

Elle peut être fournie par : TRIEFUS France, rue E. Billot, 28000 CHARTRES  
qui traite directement avec les Etablissements DUX.

**Projecteur de profil** : c'est un modèle standard NIKON V 12 obtenu auprès de :  
BRANDT, 16 rue de la Cerisaie, 94220 CHARENTON LE PONT

Note : Nous n'avons signalé ici que les matériels et produits que nous avons utilisés. Il ne peut en aucun cas s'agir d'une publicité pour ces matériels et produits ni d'une critique implicite d'autres matériels ou produits similaires existant sur le marché.