

**VALIDATION DE L'ESTIMATION DE L'AGE
DE L'ANGUILLE EUROPEENNE,
ANGUILLA ANGUILLA,
DANS LE BASSIN VERSANT DE LA VILAINE
(BRETAGNE) :
RESULTATS PRELIMINAIRES**

Béatrice MOUNAIX¹

RESUME

Le marquage (par injection de calcéine) en mai 1989, de 2000 anguilles européennes, stockées dans un étang du bassin de la Vilaine puis recapturées périodiquement, a permis de constater la mise en place d'une seule marque d'arrêt de croissance par an, en fin de période printanière. Ce résultat est en contradiction avec les travaux antérieurs.

**VALIDATION BY CALCEIN INJECTION OF AGEING EUROPEAN
EEL, ANGUILLA ANGUILLA, IN THE VILAINE RIVER
(BRITTANY): FIRST RESULTS**

ABSTRACT

*Ageing of fish is usually based on the counting of "arrested growth lines" on otoliths, and needs to know their periodicity. The date of deposition of those marks on eel otoliths (*Anguilla anguilla*) has been studied, in the river Vilaine, using injection of calcein, stocking of eels in a natural pond of the basin, and then periodic catches during more than one year. Using scanning electron microscopy, two lines were observed : one at the time of calcein injection (end of spring in 1989), the second, one year later, at the end of spring in 1990. By comparing with bibliographic descriptions, it is possible to state that those marks correspond to annual stop of growth, but their springer appearance on otoliths contradicts former results of many authors. As an hypothesis, this growth pattern may be related to abnormal climatic conditions, essentially no drastic thermic winter in 1989. But others hypothesis must be still envisaged : dephasing between fish growth and otolith patterns, more tardiv annual stop of growth of eel. Further analysis of catches will probably enable the test of these hypothesis.*

¹ Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Département Halieutique, 65, route de Saint-Brieuc, 35042 RENNES Cedex

INTRODUCTION

Dans le cadre de la mise au point d'un modèle de rendement par recrue adapté à l'Anguille pour un bassin versant, il est impératif de discriminer en âge le peuplement et les captures.

Les otolithes sont utilisés couramment pour estimer l'âge de cette espèce, mais peu d'études de validation ont été menées au préalable (Vollestad *et al.*, 1987).

Cette étape préliminaire de validation des méthodes d'estimation de l'âge de l'anguille a été conduite pour le bassin versant de la Vilaine (Bretagne) à l'aide d'une expérience de marquage vital à la calcéine (fluorescéine) et recapture.

MATERIELS ET METHODES

Un marquage vital par injection intrapéritonéale de calcéine à deux mille anguilles européennes (*Anguilla anguilla*) s'est déroulé à la fin du mois de mai 1989 ; la population marquée se répartissait en deux lots de poids distincts : < 60 grammes (LT < 350mm, n=1851) et > 100 grammes (LT > 450mm, n=239). Les doses de marqueur ont été calculées de façon à respecter la concentration moyenne de 40 milligrammes par kilogrammes de poisson (Meunier et Boivin, 1978).

Après cinq jours de surveillance et de jeûne en laboratoire, les anguilles ont été stockées dans un étang naturel, situé dans la partie amont du bassin versant (5 km à l'ouest de Rennes). Cet étang, d'un hectare et demi de surface, ne communique pas avec la Vilaine ou l'un de ses affluents. Lors de la mise en charge, il ne contenait pas de population autochtone d'anguilles.

Les recaptures, à l'aide de bosselles et de filets de type "verveux", ont débuté en 1990 et prendront fin à l'automne 1991 lors de la vidange de l'étang.

Après recapture, les anguilles sont mesurées (longueur totale LT en millimètres), les otolithes extraits, lavés et séchés à l'alcool à 70°, inclus dans de la résine (type Promodentaire) et poncés sur leur face convexe jusqu'à atteindre le plan passant par le nucléus (papier abrasif à l'eau, grain 280 à 1200, puis poudre d'alumine). Ils sont ensuite stockés à l'obscurité.

La révélation de la zone d'incorporation de la calcéine est effectuée à l'aide d'un microscope à épifluorescence (ultra-violet : 415-450 nm). Seule une partie de l'otolithe a été sélectionnée et photographiée, puis observée en microscopie électronique à balayage après décalcification de la surface de l'otolithe à l'EDTA (5%, 10 mn). L'accroissement de l'otolithe entre le moment du marquage (zone fluorescente) et la date de la recapture a été mesurée à l'aide d'un micromètre oculaire.

RESULTATS

ANALYSE DE LA ZONE D'INCORPORATION DE LA CALCEINE

Eclairée en lumière ultra-violette, la zone d'incorporation du marqueur se présente sur tous les otolithes (n=26) sous forme d'une bande verte (figure 1), de largeur variable ($20,2 \pm 6,5 \mu\text{m}$). L'accroissement de l'otolithe à partir de la zone marquée par la calcéine est sensiblement différent selon le secteur de l'otolithe.

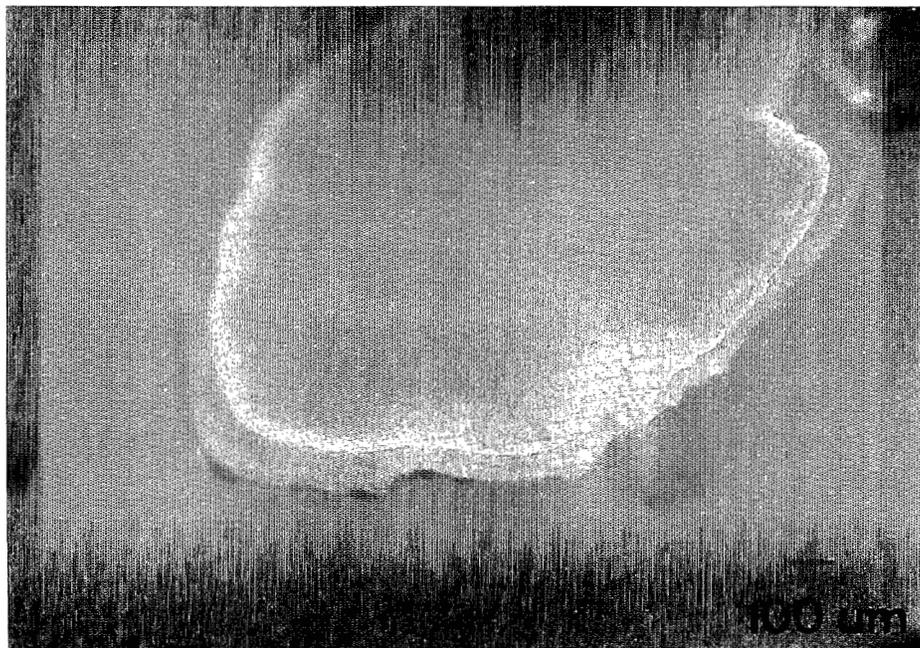


Figure 1. Exemple de révélation par épifluorescence de la zone d'incorporation de la calcéine sur un otolithe d'anguille (LT=304 mm) marquée le 29 mai 1989 et recapturée en septembre 1989. (Photo : Laboratoire de Microbiologie Pharmaceutique, Université de Rennes I).

La mesure de cet accroissement a été réalisée à l'extrémité du plus grand diamètre de l'otolithe (tableau 1, figure 2) et c'est ce secteur qui a ensuite été observé en microscopie électronique à balayage.

OBSERVATIONS EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE

Après décalcification, les lignes d'arrêt de croissance apparaissent sous forme de stries. Dans nos observations, la zone fluorescente coïncide systématiquement avec une strie d'arrêt de croissance.

Pour tous les otolithes des anguilles recapturées avant le mois de mai 1990, la zone d'accroissement marginal est régulière, sans aucune structure d'arrêt de croissance.

Chez les spécimens capturés au mois de mai, une deuxième strie est décelable en bordure de l'otolithe ; cette ligne d'arrêt de croissance est parfaitement mise en place dès le mois de juillet (figure 3).

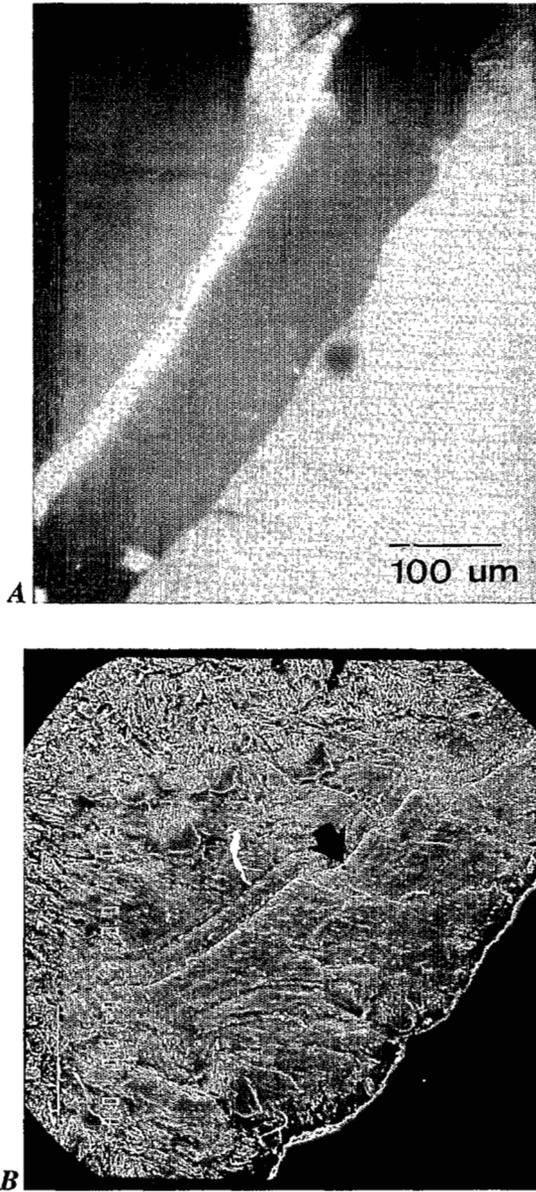


Figure 2. Comparaison des zones marginales de l'otolithe d'une anguille marquée à la calcéine le 29 mai 1989 et recapturée en mai 1990 (LT=384 mm). A : épifluorescence. Mesure de l'accroissement marginal de l'otolithe. B : M.E.B. La flèche indique la zone correspondant à l'anneau fluorescent. (Photos : Laboratoire de Microbiologie Pharmaceutique, Université de Rennes I - Laboratoire de Microscopie Electronique à balayage, Université de Rennes I).

Tableau 1. Caractéristiques individuelles des anguilles marquées à la calcéine le 29 mai 1989 et recapturées en 1990 et observées en microscopie électronique à balayage.

Date des captures	longueur totale LT (mm)	Diamètre de l'otolithe DM (μm)	Accroissement marginal (μm)
février 1990	337	2088	110
	516	2500	22
	327	1609	77
	316	1420	55
	349	1820	55
	334	1707	82
avril 1990	520	2576	83
	400	2264	66
	350	2176	66
	350	1946	83
	280	1644	99
	385	1972	55
mai 1990	384	2058	165
	364	1807	44
	615	3268	55
	634	3217	44
juillet 1990	360	2153	55
	373	2276	165
	358	1846	165
	342	2092	110
	349	1969	
	341	2153	200
	368	2246	151
	415	2338	110
	391	2123	96

DESCRIPTIONS DES STRUCTURES OBSERVEES

La structure correspondant à la zone fluorescente est une strie d'épaisseur moyenne $8,4 \pm 2,7 \mu\text{m}$. A fort grossissement (X 2000), elle se présente sous la forme d'un double sillon (deux stries fines séparées par un bourrelet protéique ; figure 4). Cette strie épaisse est parfois accompagnée de stries fines et peu marquées qui lui sont parallèles, formant un ensemble compact.

La deuxième structure, apparue l'été suivant, est du même type mais seule la strie épaisse est observée ; sa largeur moyenne est comparable à la première.

DISCUSSION

L'étang choisi, un milieu confiné, bénéficie de conditions climatiques et trophiques naturelles. Il s'agit donc d'une expérience en milieu simplifié, dont on peut espérer la mise en évidence et la compréhension des phénomènes majeurs.

L'injection de calcéine est sans effet à long terme sur la croissance des poissons (Meunier et Boivin, 1978 ; Tsukamoto, 1987). Une action éventuelle sur les mécanismes d'ostéogénèse reste cependant à préciser (Meunier et Boivin, 1978).

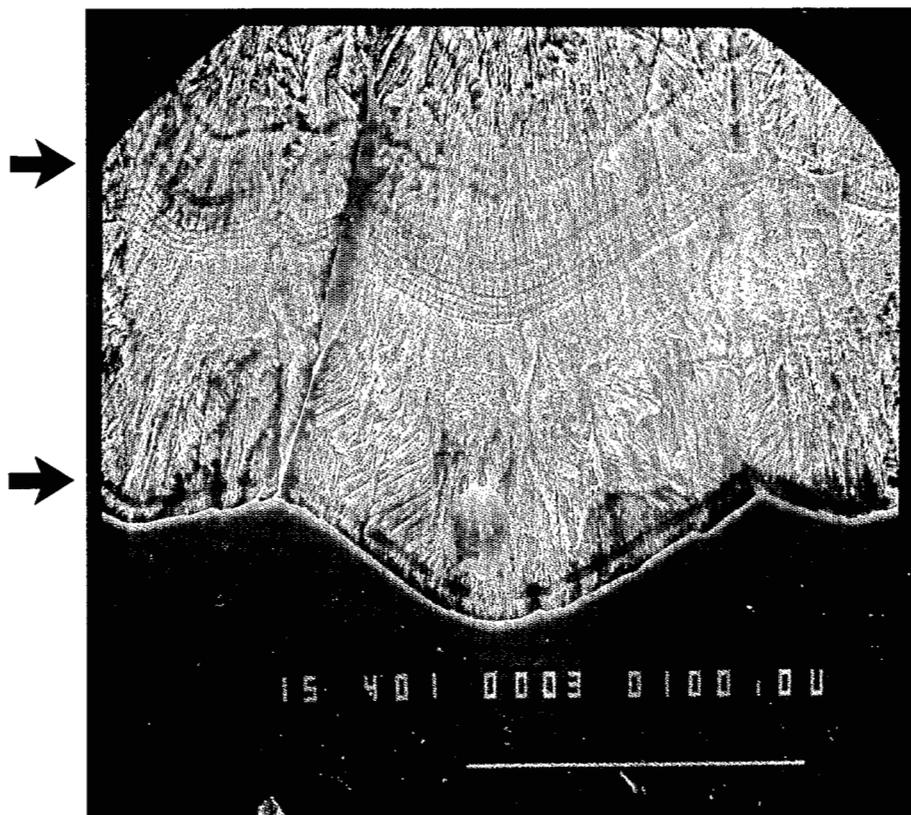


Figure 3. Observation (M.E.B.) des deux structures de ralentissement de croissance (flèche) sur l'otolithe d'une anguille de 391 mm marquée le 29 mai 1989 et recapturée en juillet 1990. (Photo : Laboratoire de Microscopie Electronique à balayage, Université de Rennes I).

La calcéine est utilisée pour des études de dynamique osseuse, plus rarement comme marqueur des structures calcifiées ; Tsukamoto (1987) considère en effet qu'il existe un risque de confusion à cause de l'autofluorescence de l'otolithe sous éclairage ultra-violet. Néanmoins le choix de l'axe de croissance principale diminue ce risque tout en standardisant les observations.

Plusieurs auteurs signalent l'enregistrement sur l'otolithe de lignes d'arrêt de croissance consécutives à la manipulation des poissons (Morales-Nin, 1987 ; Tsukamoto, 1987) ou même à un court jeûne (Liew, 1974). Mais ces structures sont alors décrites comme fines et profondes (Campana et Nielson, 1985) ou fines et peu profondes (Liew, 1974 ; Lee, 1979) et le plus souvent de l'ordre de grandeur des stries dites journalières.

Dans cette étude, la largeur de la strie observée et sa conformité aux descriptions antérieures des "arrêts de croissance principaux" (Liew, 1974 ; Berg, 1985) écartent l'éventualité d'une strie consécutive au stress résultant du marquage. Par ailleurs, elle présente des caractéristiques proches (largeur, aspect double) de la strie décrite sur le bord de l'otolithe de civelle par Lecomte-Finiger et Yahyaoui (1989) comme marquant la fin de la phase civelle et l'entrée en phase de vie continentale (anguillette et anguille). Ces éléments semblent corroborer l'identification de la strie observée comme significative de l'arrêt de croissance annuel.

Si l'on retient cette hypothèse, on a donc montré que la strie marquant l'arrêt de croissance annuel se met en place en fin de période printanière (mois de mai 1989 et 1990). Ce résultat est en contradiction avec le caractère hivernal généralement attribué à l'arrêt de croissance annuel (Lee, 1979) ou l'arrêt de l'alimentation chez cette espèce (Neveu, 1981). Les travaux antérieurs concernant l'anguille signalent souvent l'apparition en saison hivernale de la marque annuelle d'arrêt de croissance (Sinha et Jones, 1967 ; Lee, 1982 ; Aprahamian, 1987). Ces auteurs observent parfois une strie estivale mais l'attribuent à une forte augmentation de la température (Liew, 1974) ou à des conditions écologiques défavorables, telles les eaux rouges (Lee, 1982).

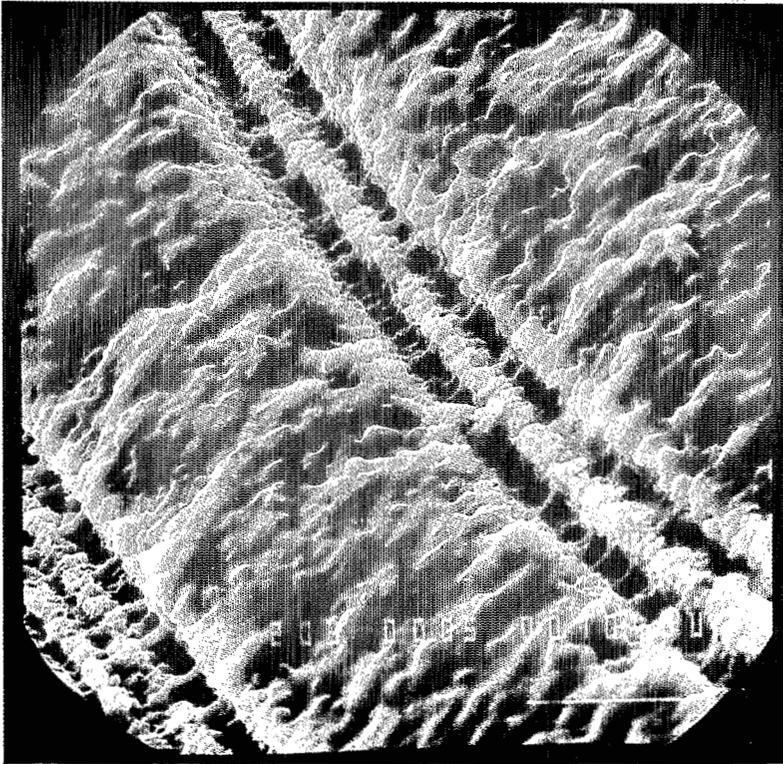


Figure 4. Détail de la structure en double sillon des stries d'arrêt de croissance (M.E.B.). (Photo : Laboratoire de Microscopie Electronique à balayage, Université de Rennes I).

La température est un élément explicatif important dans l'analyse des relations entre les structures enregistrées sur l'otolithe et les fluctuations de l'environnement (Liew, 1974 ; Simkiss, 1974 ; Campana et Nielson, 1985 ; Schramm, 1989).

L'année 1989 est caractérisée par une absence d'hiver thermique (figure 5) qui pourrait expliquer l'apparition tardive de la strie observée : la strie printanière correspondrait donc à une structure hivernale retardée en raison de la douceur exceptionnelle du climat.

Plusieurs problèmes restent encore à résoudre en ce qui concerne les causes physiologiques de l'arrêt de croissance hivernal, leur lien avec les fluctuations de l'environnement. Par ailleurs, l'éventualité d'un délai-retard dans la mise en place des structures sur l'otolithe n'est pas à rejeter ; ce délai a déjà été évoqué (Simkiss, 1974 ; Sinha et Jones, 1975) mais sa durée n'a jamais été précisée.

L'analyse des recaptures de l'année 1991 sera consacrée à fournir des éléments de réponse à ces questions.

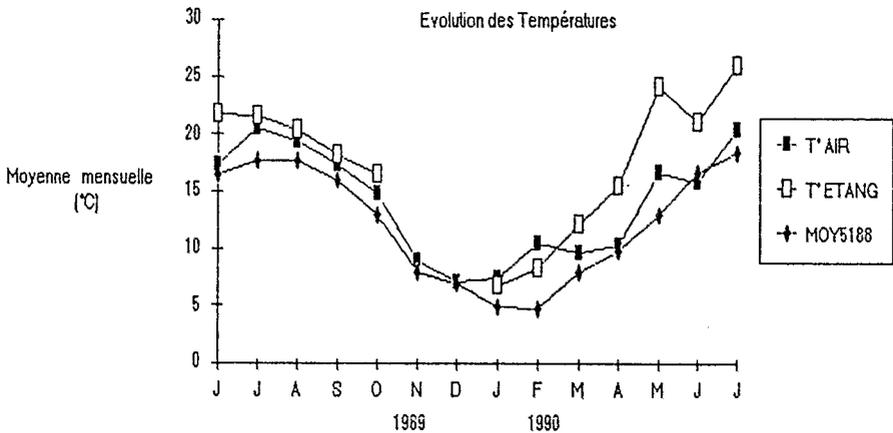


Figure 5. Evolution des températures moyennes atmosphériques enregistrées à la station de Rennes Saint-Jacques. Les moyennes mensuelles en 1989 et 1990 (T° AIR) sont comparées aux tendances saisonnières (moyennes de 1951 à 1988 : MOY5188). A titre indicatif, la température de l'étang est signalée (moyenne mensuelle mesurée quotidiennement à mi-profondeur : T° ETANG).

CONCLUSION

Les résultats préliminaires présentés ont mis en évidence, sur l'otolithe d'anguille européenne, l'existence d'une structure annuelle, dans les conditions climatiques locales de l'année 1989-1990. Les caractéristiques de cette structure et la datation de sa mise en place en font un élément utilisable pour la détermination de l'âge de l'anguille dans le bassin versant de la Vilaine. La comparaison avec des échantillons provenant d'autres sites devrait permettre une extension de ces résultats, essentiellement en ce qui concerne la caractérisation de la strie.

REFERENCES

- APRAHAMIAN M.W., 1987. Use of the burning technique for age determination in eels (*Anguilla anguilla*, L.) derived from the stocking of elvers. *Fish. Res.*, 6 : 93-96.
- BERG R., 1985. Age determination of eels, *Anguilla anguilla* (L) : comparison of field data with otolith ring patterns. *J. Fish Biol.*, 26 : 537- 544.
- CAMPANA S.E., NIELSON J.D., 1985. Microstructure of fish otoliths. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42(5) : 1014-1032.
- LECOMTE-FINIGER R., YAHYAOUÏ A., 1989. La microstructure de l'otolithe au service de la connaissance du développement larvaire de l'Anguille européenne *Anguilla anguilla*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 308(3) : 1-7.
- LEE T.W., 1979. Dynamique des populations d'anguilles (*Anguilla anguilla*) des lagunes du bassin d'Arcachon. *Thèse 3eme cycle*, Univ. Montpellier, 218 p.
- LEE T.W., 1982. Ageing and growth of eel population, *Anguilla anguilla*, in the lagoons of Arcachon bay (France). *J. Oceanol. Soc. Korea*, 17(2) : 83-91.
- LIEW P.K.L., 1974. Age determination of the American eel based on the structure of their otoliths. *In* : Ageing of fish (T. Bagenal, eds) : 124-136.
- MEUNIER F.J., BOIVIN G., 1978. Action de la fluorescéine, de l'alizarine, du bleu de calcéine et de diverses doses de tétracycline sur la croissance de la truite et de la carpe. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 18(6) : 1293-1308.
- MORALES-NIN B., 1987. The influence of the environmental factors on microstructure of otoliths of three demersal fish species caught off Namibia. *S. Afr. J. Mar. Sci.*, 5 : 255-262.
- NEVEU A., 1981. Variations saisonnières et journalières de l'alimentation de l'anguille (*Anguilla anguilla*, L.) dans des conditions naturelles. *Acta Oecologica/Oecologia Applicata*, 2(2) : 99-116.
- SIMKISS K., 1974. Calcium metabolism of fish in relation to ageing. *In* : Ageing of fish (T. Bagenal, eds) : 1-12.
- SINHA V.R.P., JONES J.W., 1967. On the age and growth on the freshwater eel (*Anguilla anguilla*). *J. Zool. Lond.*, 153 : 99-117.
- SINHA V.R.P., JONES J.W., 1975. The European freshwater eel. *Liverpool Univ. Pr.* : 146 p.
- SCRAMM H.J., 1989. Formation of annuli in otoliths of bluegills. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 118 : 546-555.
- TSUKAMOTO K., 1987. Age determination of ayu with otoliths. *Nipp. Suis. Gakkais.*, 53(11) : 1985-1997.
- VOLLESTAD L.A., LECOMTE-FINIGER R., STEINMETZ B., 1987. Age determination of *Anguilla anguilla* and related species. *In* : EIFAC, *Working Party on Eel*, Bristol.