

**VALIDATION DE L'AGE  
DE L'ANGUILLE EUROPEENNE  
DANS LES LAGUNES  
MEDITERRANEENNES FRANÇAISES  
(CAMARGUE) :  
RESULTATS PRELIMINAIRES**

Jacques PANFILI<sup>1</sup>, Marie-Claude XIMENES<sup>1</sup>,  
Alain J. CRIVELLI<sup>2</sup>, Thang DOCHI<sup>3</sup>

---

## RESUME

Dans le but de valider l'estimation de l'âge de l'anguille européenne vivant dans les lagunes méditerranéennes françaises, des poissons marqués à la tétracycline ont été déversés dans un étang clos au printemps et à l'automne 1989. Des captures régulières ont permis de dater la formation des anneaux sur l'otolithe : les arrêts de croissance principaux sont formés en hiver; les zones opaques apparaissent à l'automne et surtout au printemps, et les zones hyalines en été. Ces deux derniers résultats diffèrent de ceux de la littérature existante.

## **AGE VALIDATION OF EUROPEAN EEL IN THE FRENCH MEDITERRANEAN LAGOONS (CAMARGUE): PRELIMINARY RESULTS.**

### **ABSTRACT**

*In order to validate european eel (*Anguilla anguilla* L.) aging, in the french mediterranean lagoons, two groups of eels were injected with tetracycline for otolith labelling and were marked externally, before release in a Camargue (South of France) pond, in spring 1989, and in autumn 1989. Monthly samples and total harvest in spring 1990 allowed to age the rings formed on the otolith : major growth stop appears in winter, while large opaque zones are formed in autumn and particularly in spring. Large translucent zones are formed during the summer. These last results are in disagreement with litterature. Supernumerary zones may occur in the year and reveal an important individual variability.*

-----  
<sup>1</sup> CEMAGREF-ALA, B.P. 5095, 34033 MONTPELLIER Cedex

<sup>2</sup> Station Biologique de La Tour du Valat, Le Sambuc, 13200 ARLES

<sup>3</sup> FAO/FIRM, Dept. Pêches, via Delle Terme di Caracalla, 00100 ROME, Italie.

## INTRODUCTION

L'exploitation de l'anguille européenne, *Anguilla anguilla* L., dans les milieux continentaux porte sur différents stades de développement de ce poisson. La chute des captures et l'intensité de la pêche suscitent des questions quant à l'état actuel des stocks (Bruslé, 1989). Un des paramètres utilisés pour la gestion des stocks, l'âge, reste toujours un problème d'actualité. Si l'on s'accorde pour utiliser les otolithes pour déterminer l'âge, les synthèses exhaustives récentes n'ont pas permis de conclure sur le choix d'une méthode de préparation (Vollestad *et al.*, 1987) ; les essais de validation ont été infructueux (Boetius, 1985; Dekker, 1986) ou peu convaincants (Arahamian, 1987 ; Vollestad et Naesje, 1988). Jusqu'à présent, seul Dekker (1986) a tenté une validation par marquage vital à la tétracycline, mais s'est heurté ensuite aux problèmes des recaptures et aux difficultés d'observation des otolithes. En fait, la diversité des techniques d'examen des structures et le manque de validation des résultats ne font qu'accroître l'incertitude de leur interprétation.

L'objectif de la validation de l'estimation de l'âge à l'aide des otolithes est de trouver un repère annuel fixe. Pour cela, le marquage vital de l'otolithe par la tétracycline (Meunier, 1974 ; McFarlane et Beamish, 1987 ; *inter alia*) est utilisé ici. Le marqueur se dépose sur l'otolithe instantément après son injection et il est observable ensuite en fluorescence, constituant ainsi une marque repérable à posteriori. Le but de la présente expérimentation est de valider l'âge de l'anguille vivant dans les "lagunes" méditerranéennes françaises, où l'espèce subit une forte pression de pêche. On se propose de décrire la séquence de formation des zones de croissance (opaque et hyaline) de l'otolithe au cours du cycle annuel et de comparer quelques techniques de préparation.

## MATERIEL ET METHODES

En mars, puis en octobre 1989, deux lots d'anguilles de tailles variées allant de 6 à 69 cm, issues des pêches professionnelles des lagunes du Languedoc, sont marquées : par marquage interne (chlorhydrate de tétracycline ou CHTC à 75 mg/kg de poids vif) et par double marquage externe (ablation partielle de la pectorale droite ou gauche selon le lot et injection ventrale, sous cutanée, de bleu alcian). Les individus marqués sont ensuite déversés dans un étang clos de 2,1 ha (Les Garcines, Camargue), dont les mouvements d'eau sont contrôlés et où le peuplement de poissons est parfaitement connu depuis 2 ans, après une mise en assec.

A partir du premier déversement, des échantillonnages mensuels sont réalisés et une pêche plus intense est pratiquée avant le second déversement. En fin d'expérience (juin 1990), des pêches intenses ont précédé la vidange partielle de l'étang et l'empoisonnement à la roténone pour des captures exhaustives. Le calendrier et les caractéristiques des opérations sont récapitulés à la figure 1.

Les otolithes (sagittae), extraits à chaque période échantillonnée, sont montés face convexe vers le haut sur un support de résine polyester noire, puis inclus dans de la résine transparente. Ceci permet une observation directe en lumière réfléchie sur fond noir : les zones hyalines apparaissent ainsi noires et les zones opaques lumineuses. Ensuite, le ponçage (papiers abrasifs fins à l'eau) est l'étape la plus délicate car il doit suivre un plan particulier (figure 2). Après ponçage, trois images macrostructurales de l'otolithe sont observées : en lumière réfléchie sur fond noir, en épifluorescence

(microscope Olympus BH, lampe HBO 100W, UVB à 490 nm) et en lumière réfléchi après coloration (EDTA à 5% pendant 3-5 mn, puis bleu de toluidine à 1% pendant 3-5 mn). La marque de CHTC fluorescente se distingue donc des anneaux opaques et hyalins, et des anneaux colorés.

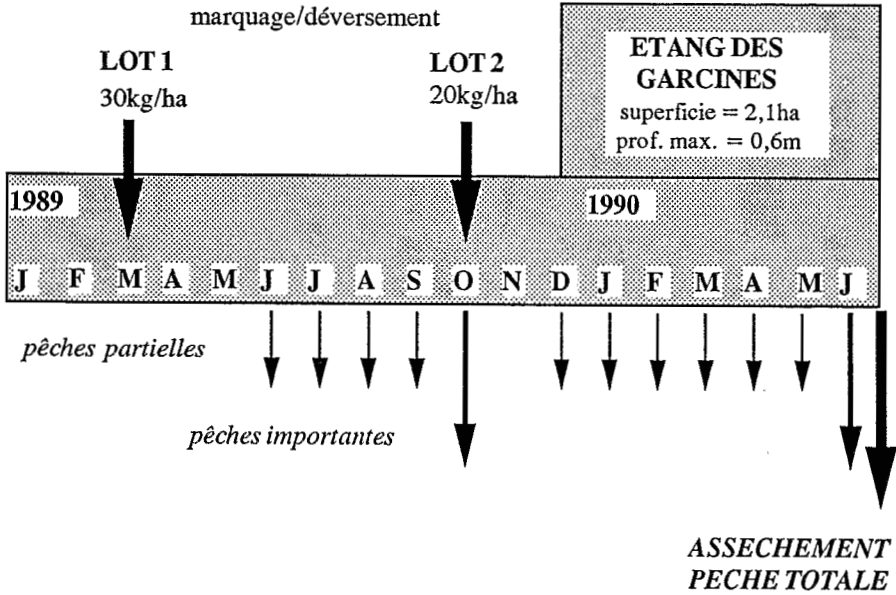


Figure 1. Calendrier des marquages et des pêches dans l'étang

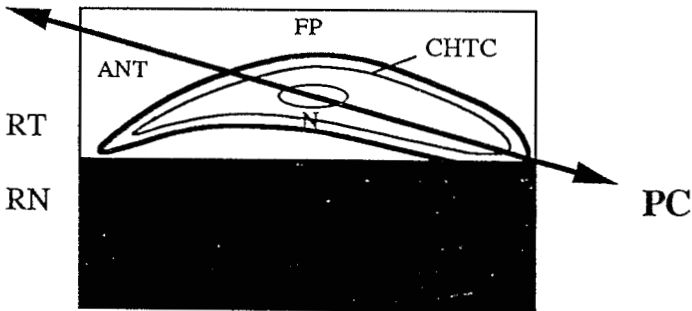
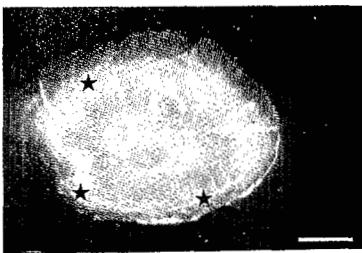


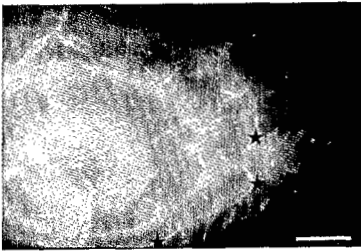
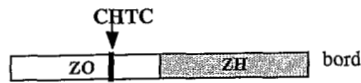
Figure 2. Inclusion et ponçage de l'otolithe (vu en coupe longitudinale). Le plan de ponçage (PC) doit respecter le bord dans le plus grand rayon et dégager suffisamment le nucleus. RT = résine transparente, RN = résine noire, N = nucleus, CHTC = marque de tétracycline, ANT = antérieur, FP = face proximale.

## RESULTATS

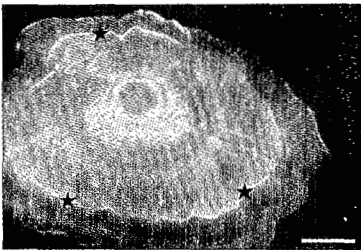
En fin d'expérience, 35,1% des anguilles du premier lot (mars 1989) et 41,9% du second (octobre 1989) ont été recapturées. Après un an, la régénération de la pectorale est importante ; cette marque est donc peu distincte pour le premier lot. Elle reste en revanche très nette pour le second lot, laissant la distinction des lots aisée. Le tatouage au bleu alcian constitue un bon marqueur externe qui est visible sans ambiguïté, au moins 15 mois après l'injection. La zone fluorescente des otolithes est bien lisible.



a



b



c



Figure 3. Otolithes en lumière réfléchi sur fond noir, avec éclairage en épifluorescence UV, et schémas interprétatifs des zonations entre la marque CHTC et le bord. ZO = zone opaque, ZH = zone hyaline, CHTC = tétracycline (\*).

Barre = 300  $\mu$ m.

a. Anguille marquée en mars 89 et pêchée en octobre 89.

b. Anguille marquée en mars 89 et pêchée en février 90.

c. Anguille marquée en mars 89 et pêchée en juin 90.

Compte tenu de la petite taille des otolithes et de leur morphologie (figure 2), l'une des difficultés techniques est de respecter un plan de ponçage qui doit dégager, sans excès, le bord et le nucleus.

Pour une période donnée, l'accroissement marginal, mesuré par la distance entre la marque de CHTC et le bord de l'otolithe, est très variable entre les individus, quelque soit la taille des anguilles.

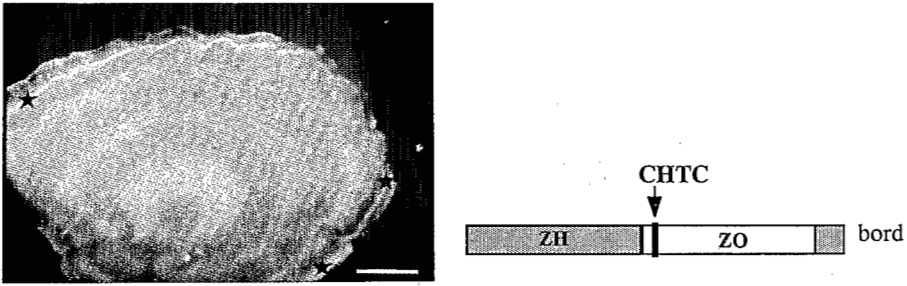


Figure 4. Otolithe en lumière réfléchie sur fond noir, avec éclairage en épifluorescence UV, et schéma interprétatif des zonations entre la marque CHTC et le bord. Anguille marquée en octobre 89 et pêchée en juin 90. ZO = zone opaque, ZH = zone hyaline, CHTC = tétracycline (\*).  
Barre = 300  $\mu$ m.

La marque de CHTC se dépose, en mars 89, dans une zone opaque (figure 3) et celle d'octobre 89 à la fin d'une zone hyaline ou au début d'une zone opaque (figure.4). Il faut remarquer que les schémas interprétatifs accompagnant les photographies sont synthétiques, sensés représenter des cas généraux, et ne sont pas à la même échelle que les photographies. Au cours d'une année, un anneau opaque et un anneau hyalin se sont déposés (figure 3.c). De mars à octobre (figure 3.a), la zone opaque finit de se mettre en place et une zone hyaline apparaît. En fin d'hiver, le bord de l'otolithe reste hyalin pour le cas présenté figure 3.b, alors que le CHTC d'octobre (figure 4) est déjà dans une zone opaque. Au printemps, la figure 3.c montre le dépôt d'une zone opaque supplémentaire.

Par coloration, certains anneaux apparaissent colorés plus intensément et ont souvent été décrits comme des arrêts principaux de croissance (Albrechtsen, 1968; Richter et McDermott, 1990) ou plutôt des périodes de "fort ralentissement" de croissance (Liew, 1974) ; d'autres anneaux colorés d'intensité plus faible sont parfois visibles, et avaient déjà été mentionnés par Liew (1974).

La marque de CHTC (figure 5) est toujours superposée avec une marque de colorant, signe d'un certain stress dû à la manipulation (Liew, 1974).

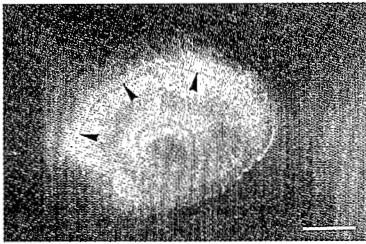
En mars 89, la marque de CHTC se situe dans une zone opaque. Elle est juxtaposée avec un anneau de coloration ou le suit (figures 5.a et 5.b). En juin 90 (figure 5.b), un second anneau coloré est mis en évidence dans une zone opaque à proximité du bord de l'otolithe. La marque de CHTC de mars 89 se situe donc entre 2 marques de coloration (hiver 89 et hiver 90).

En dehors des cas généraux présentés ici, il existe de nombreux cas particuliers : anneaux diffus ou anneaux colorés supplémentaires. La formation automnale de la zone opaque n'est pas systématique : elle n'est pas visible sur les figures 3.a et 3.b.

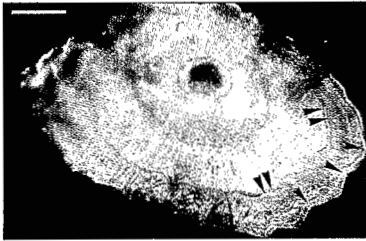
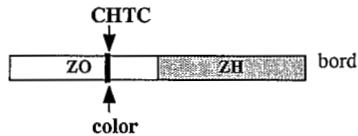
L'accroissement marginal printanier semble faible, comme le démontrent deux exemples : faible accroissement des otolithes du lot 2 (figure 4) et anneau hivernal coloré près du bord en juin 90 (figure 5.b).

Finalement, le schéma de croissance de l'otolithe est le suivant :

- il se dépose chaque année sur les otolithes une zone opaque et une zone hyaline, larges et plus ou moins homogènes ;
- la zone opaque, qui peut se déposer dès l'automne, apparaît surtout au printemps. Quant à la zone hyaline, elle se forme au cours de l'été ;
- l'arrêt ou le ralentissement de croissance, hivernal, se manifeste sous forme d'une fine zone hyaline, fortement colorable par le bleu de toluidine, et située en limite ou début d'une zone opaque large.



a



b

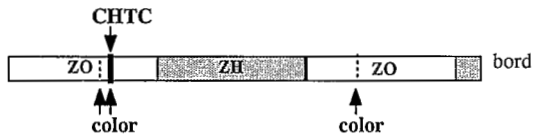


Figure 5. Otolithes colorés et schémas interprétatifs des zonations entre la marque CHTC et le bord. ZO = zone opaque, ZH = zone hyaline, CHTC = tétracycline, color = marque de coloration par le bleu de toluidine ( ).

Barre = 300  $\mu$ m.

a. Anguille marquée en mars 89 et pêchée en octobre 89 (identique à la figure 3a).

b. Anguille marquée en mars 89 et pêchée en juin 90 (identique à la figure 3c).

## DISCUSSION

Le schéma d'apparition des zones de croissance sur l'otolithe dégagé dans cette étude diffère de celui proposé par certains auteurs. En effet, pour Sinha et Jones (1967), Liew (1974), Lecomte-Finiger (1985), *inter alia*, la zone hyaline est hivernale et la zone opaque se forme autour de l'été. Cependant, il semblait déjà que ce phénomène soit légèrement différent en Méditerranée (Panfili, 1988).

Deux hypothèses peuvent expliquer ces observations. La première se base sur le fait que l'étude de la chronologie d'apparition des anneaux sans repère particulier est difficile (Sinha et Jones, 1967). Dans l'observation *in toto*, l'oeil procède par

comparaison de densités optiques (Mina, 1968) et ne peut détecter une zone en bordure de l'otolithe que si sa formation est suffisamment avancée, d'où des difficultés dans les zones peu denses. Ceci peut expliquer l'absence éventuelle du bord opaque sur les figures 3.a et 3.b. De même, l'étude par coloration est extrêmement délicate compte tenu de la finesse du bord de l'otolithe et de l'importance du plan de ponçage (Ximénès, 1986 ; Panfili *et al.*, 1989). La deuxième hypothèse voudrait que la chronologie d'apparition des anneaux soit modifiée en Méditerranée, comme le proposent Vianet *et al.* (1989) pour des Pleuronectiformes. Cependant, l'observation des otolithes d'anguilles maintenues dans les milieux lagunaires conduit à nuancer cette interprétation. En effet, les zones hyalines et opaques sont larges et, comme il existe généralement une bonne corrélation entre la taille du poisson et celle des otolithes (Rossi et Villani, 1980 ; Fernandez-Delgado *et al.*, 1989), ces zones doivent en fait correspondre à des périodes de croissance au cours desquelles la calcification est différente, pour des raisons encore inconnues. Pour l'instant, l'importance des dépôts des cristaux d'aragonite, qui permettrait d'expliquer l'hétérogénéité des zonations, n'a pas pu être quantifiée.

Le schéma proposé pour les populations d'anguilles lagunaires ne remet pas en cause l'utilisation des zones pour donner un âge aux individus examinés, en retenant une zone opaque et une zone hyaline larges par année. Cependant, dans certains cas complexes, l'hétérogénéité de chaque zone peut perturber les lectures. Cette hétérogénéité, déjà mentionnée dans le cas de populations appartenant à des milieux différents (Panfili *et al.*, 1989), se retrouve aussi pour des individus maintenus dans le même milieu, ainsi que l'avait également observé Deelder (1981). Néanmoins en lagune, contrairement aux cours d'eau, le schéma observé comporte une alternance de zones larges faciles à détecter. De la même façon, la marque hivernale de coloration est utilisable pour donner un âge. Pour utiliser cet anneau comme un repère chronologique constant, on doit pouvoir : a) le distinguer d'autres moins marqués, ce qui semble le cas dans les lagunes méditerranéennes, et b) le dater quant à sa période de formation précise.

La variabilité de croissance individuelle est maintenant quantifiable par simple mesure du dépôt entre la marque de CHTC et le bord de l'otolithe. L'interprétation de la formation des zones pourra alors tenir compte de ces différences de croissance, ainsi que d'éventuels problèmes liés au sexe des individus.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions le Laboratoire d'Hydrobiologie Marine (U.S.T.L., Montpellier) qui a mis à notre disposition le microscope à épifluorescence.

## REFERENCES

- ALBRECHTSEN K., 1968. A dyeing technique for otolith age reading. *J. Cons. Perm. int. Explor. Mer*, 32(2) : 278-280.
- 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.

- BOETIUS I., 1985. Otoliths of eels of known age. *EIFAC, Working Party on Eels, Perpignan* : 12 p.
- BRUSLE J., 1989. L'anguille européenne (*Anguilla anguilla*), une espèce jugée commune jusqu'à la dernière décennie, mérite t-elle d'acquérir aujourd'hui le status d'espèce menacée ?. *Bull. Soc. Zool. France*, 114 : 61-73.
- DEELDER C.L., 1981. On the age and growth of cultured eels, *Anguilla anguilla* (Linnaeus 1758). *Aquaculture*, 26 : 13-22.
- DEKKER W., 1986. Age reading of european eels using tetracycline labelled otoliths. *ICES, Anadromous and Catadromous Fish Commitee, C.M. 1986/M:16* : 14 p.
- FERNANDEZ-DELGADO C., HERNANDO J.A., HERRERA M. ET BELLIDO M., 1989. Age and growth of yellow eels, *Anguilla anguilla*, in the estuary of the Guadalquivir river (South-West Spain). *J. Fish Biol.*, 34 : 561-570.
- LECOMTE-FINIGER R., 1985. L'âge de l'anguille européenne (*Anguilla anguilla*, L. 1758) : état actuel des connaissances et recherches nouvelles en Méditerranée. *J. Appl. Ichthyol.*, 1(4-5) : 178-192.
- LIEW P.K.L., 1974. Age determination of american eels based on the structure of their otoliths. In T.B.Bagenal (Ed.), *The ageing of fish*, Unwin Brother's Ltd, London : 124-136.
- MCFARLANE G.A. , BEAMISH R.J., 1987. Selection of dosages of oxytetracycline for age validation studies. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 44 : 905-909.
- MEUNIER F.J., 1974. La technique de marquage vital des tissus squelettiques des poissons. *Bull. Fr. Pisc.*, 255 : 51-57.
- MINA M.V., 1968. A note on a problem in the visual qualitative evaluation of otoliths zones. *J. Cons. Perm. int. Explor. Mer*, 32(1) : 93-97.
- 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. *DEA*, Univ. Montpellier : 24 p. + ann.
- PANFILI J., XIMENES M.-C., DO CHI T. , MIRALLES A., 1989. Age determination of eels in the french mediterranean lagoons using classical methods and an image analysis system. *EIFAC Working Party on Eel, Porto* : 6 p.
- RICHTER H., McDERMOTT J.G., 1990. The staining of fish otoliths for age determination. *J. Fish Biol.*, 36 : 773-779.
- ROSSI R., VILLANI P., 1980. A biological analysis of eel catches, *Anguilla anguilla* L., from the lagoons of Lesina and Varano, Italy. *J. Fish Biol.*, 16 : 413-423.
- SINHA V.R.P., JONES J.W., 1967. On the age and growth of freshwater eel (*Anguilla anguilla*). *J. Zool. Lond.*, 153 : 99-117.
- VIANET R., QUIGNARD J.P., TOMASINI J.A., 1989. Age et croissance de quatre poissons pleuronectiformes (flet, turbot, barbue, sole) du Golfe du Lion. Evolution de la structure de la sagitta. *Cybiium (3<sup>e</sup> Ser.)*, 13(3) : 247-258.



- VOLLESTAD L.A., LECOMTE-FINIGER R., STEINMETZ B., 1987. Age determination of *Anguilla anguilla* and related species. *EIFAC, Working Party on Eel, Bristol* : 15 p.
- VOLLESTAD L.A., NAESJE T.F., 1988. Reading otoliths of eels, *Anguilla anguilla* (L.), of known age from Kolderveen, The Netherlands. *Aquac. Fish. Manag.*, 19 : 397-391.
- XIMENES M.-C., 1986. L'anguille en Méditerranée française : aspects écobiologiques et halieutiques. *Minist. Mer, CEMAGREF Montpellier-ALA* : 166 p.