

**MISE EN EVIDENCE DES STRUCTURES
DE CROISSANCE POUR L'ESTIMATION
DE L'AGE INDIVIDUEL DES POISSONS.
EXEMPLE DE *PROCHILODUS NIGRICANS*
(PROCHILODIDAE, CHARACIFORME)**

Jacques PANFILI¹, Gérard LOUBENS²

RESUME

Un protocole d'étude standard est proposé pour mettre en évidence les structures de croissance sur les pièces calcifiées d'une espèce nouvelle. Il débouche sur le choix d'une pièce, d'une méthode de préparation, et d'un mode de lecture, étapes préalables à une validation des marques pour une estimation de l'âge. L'exemple est donné pour *Prochilodus nigricans*, Prochilodidae sud-américain.

**STARTING AGE STUDY OF FISHES. EXAMPLE FOR
PROCHILODUS NIGRICANS (PROCHILODIDAE,
CHARACIFORME)**

ABSTRACT

*A standard study model is proposed to reveal growth structures on several calcified pieces of a fish, before attempting age validation. Piece selection and preparation technics have to be important. Result comparisons between readers and for each reader lead to the choice of a piece and a specific preparation. Application is shown on scale, otolith (macrostructures observed with whole, staining after slicing, and microstructures observed with scanning electron microscope), whole opercular bone and first fin ray slice (observed with whole, staining or microradiography) of *Prochilodus nigricans* (south-american Prochilodidae). Whole scale prevails as a good model. Image analysis treatments are developed at different levels.*

Quelle démarche adopter lorsque l'on désire estimer l'âge individuel de poissons appartenant à une espèce qui n'a jamais été étudiée ?

¹ CEMAGREF-ORSTOM, B.P. 5095, 34033 MONTPELLIER Cedex

² ORSTOM, CEMAGREF-Bordeaux, 50 avenue de Verdun, Gazinet, B.P. 3, 33610 CESTAS

L'une des solutions possibles est la squelettochronologie *sensus lato* (Meunier, 1988) qui comprend deux phases principales : la mise en évidence sur les pièces calcifiées de structures de croissance objectivement reconnaissables par tout observateur, et l'étude de la chronologie du dépôt de ces structures (validation). Nous nous intéressons ici à la première phase et proposons le protocole d'étude standard suivant.

ECHANTILLON D'UN LOT DE POISSONS

Les tailles, les dates de captures, les milieux d'origine et les stades sexuels seront les plus variés possibles, si l'étude est envisagée à une grande échelle (30 individus de l'espèce *Prochilodus nigricans* dans ce travail). Si l'étude est plus réduite, les tailles au moins devront être diversifiées. On s'attend ainsi à obtenir le maximum de patrons de marques de croissance sur les pièces calcifiées.

PRELEVEMENT ET CHOIX DES PIÈCES CALCIFIÉES

L'origine est variée parmi le dermosquelette (écailles et rayons des nageoires), le squelette interne *sensu stricto* et les otolithes. Ecaille, otolithe (astericus), premier rayon épineux de la nageoire dorsale et opercule ont été extraits sur *Prochilodus nigricans*.

MISE EN EVIDENCE DES STRUCTURES

La gamme des techniques actuelles (Meunier, 1988) est appliquée sur les pièces choisies précédemment, avec également des essais d'amélioration par analyse d'images. On révèle d'abord les macrostructures (à rythme saisonnier ou annuel), avant les microstructures (essentiellement sur les otolithes, à rythme plus court). Pour *Prochilodus nigricans*, les macrostructures sont observées de 7 façons (tableau 1) : écaille *in toto* ; otolithe *in toto* ; otolithe en coupe transversale après inclusion et coloration par le bleu de toluidine ; rayon en tranche (200µm) après inclusion ; rayon en tranche microradiographiée ; rayon en tranche colorée par l'hématoxyline d'Ehrlich ; et opercule *in toto*. Les microstructures des otolithes sont révélées par le microscope électronique à balayage sur des sections polies attaquées à l'acide. L'analyse d'images est utilisée à différents niveaux des préparations.

OBSERVATIONS

Deux ou plusieurs lecteurs font leurs observations séparément, sans connaître les identificateurs des échantillons.

Chaque pourcentage est le résultat de deux lectures séparées pour les mêmes poissons. Les chiffres en gras et encadrés concernent les comparaisons inter lecteurs pour la même méthode.

Tableau 1. Comparaisons inter lecteurs et inter méthodes par le Pourcentage de Concordance Relative entre diverses préparations de pièces calcifiées d'un échantillon de 30 *Prochilodus nigricans*.

		ECAILLE	OTOLITHE	OTOLITHE	RAYON	RAYON	RAYON	OPERCULE	
		in toto	in toto	coloré	tranche	microradio.	coloré	in toto	
ECAILLE	in toto	90%	83%	83%	73%	70%	73%	80%	COMPARAISONS DU LECTEUR 2
OTOLITHE	in toto	83%	80%	73%	83%	73%	83%	73%	
OTOLITHE	coloré	63%	73%	93%	70%	80%	90%	80%	
RAYON	tranche	67%	70%	73%	73%	73%	73%	70%	
RAYON	microradio.	70%	77%	83%	80%	83%	83%	67%	
RAYON	coloré	70%	73%	77%	67%	87%	73%	83%	
OPERCULE	in toto	47%	50%	50%	53%	50%	50%	50%	

COMPARAISONS DU LECTEUR 1

COMPARAISONS INTER-LECTEURS

Squeletochronologie (Poissons)

Les chiffres en italiques et ombrés concernent les comparaisons inter méthodes pour le lecteur 2. Les chiffres normaux concernent les comparaisons inter méthodes pour le lecteur 1.

INTERPRETATION ET CONFRONTATIONS DES OBSERVATIONS

Cette confrontation entre les divers lecteurs permet de choisir les critères de reconnaissance des marques de croissance sur chaque pièce et pour chaque technique.

VERIFICATION

A ce niveau, plusieurs lectures faites par plusieurs lecteurs débouchent sur des comparaisons intra lecteurs (même lecteur, plusieurs méthodes ou plusieurs lectures) et/ou inter lecteurs (lecteurs différents, même ou plusieurs méthodes).

Certains calculs permettent d'apprécier les différences d'interprétations :
Soient :

$$X_{ij} = \text{nombre de marques sur la } i\text{ème structure du poisson } j$$

$$R = \text{nombre d'observations pour un poisson}$$

$$X_j = 1/R \cdot \sum_{i=1}^R X_{ij} \text{ nombre moyen de marques du poisson } j$$

Valeurs influencées par le nombre de marques d'un poisson :

- *Pourcentage de Concordance* (Campbell et Babaluk, 1979) : PC
 $PC = [\text{nombre de déterminations identiques} / R] * 100$

- *Pourcentage de Concordance Relative* : PCR
 $PCR = [\text{nombre de déterminations identiques à 1 marque près} / R] * 100$

Valeurs non influencées par le nombre de marques d'un poisson :

- *Pourcentage d'Erreur Moyen* (Beamish et Fournier, 1981) : PEM
 $PEM = [1/R \cdot \sum_{i=1}^R (|X_{ij} - X_j| / X_j)] * 100$

- *Coefficient de Variation* (Chang, 1982) : CV
 $CV = [(\sum (X_{ij} - X_j)^2) / (R-1)]^{1/2} / X_j$

- *Indice de Précision* (Chang, 1982) : IP
 $IP = CV / \sqrt{R}$

REMARQUE : Pour l'ensemble de l'échantillon, on procède à la moyenne des valeurs de chaque poisson.

Les tableaux 1 et 2 donnent les résultats pour *Prochilodus nigricans*.

Tableau 2. Comparaisons pour un même lecteur et pour la même méthode de diverses préparations de pièces calcifiées d'un échantillon de 30 *Prochilodus nigricans*.

<i>MEME LECTEUR</i> <i>2 LECTURES</i>	ECAILLE in toto	OTOLITHE in toto	OTOLITHE coloré	RAYON radio.	RAYON coloré
POURCENTAGE DE CONCORDANCE ABSOLUE	83 %	50%	60%	60%	70%
POURCENTAGE DE CONCORDANCE RELATIVE (+ - 1 annulus)	87%	80%	73%	83%	90%
POURCENTAGE D'ERREUR MOYEN	15%	15%	24%	9%	10%
COEFFICIENT DE VARIATION	0,024	0,217	0,225	0,121	0,09
INDICE DE PRECISION	0,017	0,109	0,159	0,085	0,063

ESTIMATION DES CONTRAINTES DE L'ETUDE

Après toutes ces démarches, en fonction du but de l'étude, de son temps, de la précision souhaitée, de l'investissement, on débouche finalement sur :

- le choix d'une pièce calcifiée ;
- le choix d'une technique de préparation ;
- le choix des critères de lecture.

Ces choix sont fonction des difficultés rencontrées lors de la préparation des pièces et de l'interprétation des structures. La comparaison des paramètres de la vérification permet de choisir une structure calcifiée et son mode de préparation. Pour cela, il est préférable de se baser sur les comparaisons inter lecteurs avec le PCR (tableau 1) et sur les comparaisons intra lecteurs avec le PEM, le CV ou l'IP (tableau 2). Néanmoins, ces choix peuvent être modifiés en fonction des contraintes de l'étude et en particulier des résultats attendus (en terme de rapports coût-investissement/résultats) ; c'est à dire que l'on pourra par exemple augmenter l'échantillon en utilisant une méthode de lecture simple et peu coûteuse, pour espérer compenser les variations, par rapport à une autre méthode précise mais complexe et coûteuse. Finalement, le choix sera une combinaison optimale des investissements et de leur utilisation.

Les étapes de validation, d'essais d'automatisation et de lectures des échantillons complets peuvent alors débuter.

Pour *Prochilodus nigricans*, l'écaille observée *in toto* a été choisie pour la détermination de l'âge.

REFERENCES

- BEAMISH R.J., FOURNIER D.A., 1981. A method for comparing the precision of a set of age determination. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 38 : 982-983.
- CAMPBELL J.S., BABALUK J.A., 1979. Age determination of walleye, *Stizostedion vitreum vitreum* (Mitchill), based on the examination of eight different structures. *Fish. Mar. Service, Tech. Rep.*, 849 : 23 p.
- CHANG W.Y.B., 1982. A statistical method for evaluating the reproducibility of age determination. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39 : 1208-1210.
- MEUNIER F.J., 1988. Détermination de l'âge individuel chez les Osteichthyens à l'aide de la squeletteochronologie : historique et méthodologie. *Acta Oecologica, Oecol. Gener.*, 9(3) : 299-329.