

## APPORT DE L'OSTEOCHRONOLOGIE A L'ETUDE DE LA DYNAMIQUE DES POPULATIONS DE GRENOUILLES VERTES DU COMPLEXE *ESCULENTA*

André NEVEU<sup>1</sup>

---

### RESUME

L'étude de la dynamique des populations de grenouilles vertes du complexe *esculenta* de l'ouest de la France nécessite un recours à l'ostéochronologie pour l'estimation des classes d'âge.

L'estimation de l'âge s'effectue sur des coupes prélevées au niveau de la diaphyse tibiale et colorées à l'hématoxyline. Les lignes d'arrêt de croissance hivernales se distinguent bien des autres marques plus diffuses.

La relation entre la taille des grenouilles et le diamètre du tibia est toujours linéaire, mais variable d'un biotope ou d'une année à l'autre. Le choix de formules proportionnelles s'avère nécessaire aux retrocalculs individuels, plus qu'à ceux concernant des moyennes de cohortes.

Les principaux résultats sur la croissance montrent :

- une forte croissance avant la maturité sexuelle,
- une taille finale plus forte chez *R. esculenta* que chez *R. lessonae* et chez les femelles que chez les mâles,
- une croissance plus forte des *R. esculenta* dans les biotopes en zone cultivée où elles sont dominantes en densité, une croissance plus faible dans les marais où *R. lessonae* est la plus abondante,
- les plus grands individus au début de la croissance restent les plus grands par la suite.

### OSTEOCHRONOLOGY CONTRIBUTION TO THE STUDY OF POPULATION DYNAMICS OF EUROPEAN GREEN FROGS OF *ESCULENTA* COMPLEX

### SUMMARY

*Green frogs of the esculenta complex were collected in western France.*

<sup>1</sup> Laboratoire d'Ecologie Hydrobiologique, INRA, 65 rue de St Briec, 35042 RENNES Cedex

*In order to study population dynamics it has been necessary to use osteochronological methods for age and growth determination. Green frogs of the esculenta complex were collected in western France. In order to study population dynamics it has been necessary to use osteochronological methods for age and growth determination.*

*Ageing was effected by analysis of hematoxyline-stained cross-sections of tibia diaphyses. Winter resting lines are very distinct from others ones.*

*The relationship between body size and tibia diameter is always a linear regression but it varies according to sites and years. Mean populations body sizes reached during previous winters can be back-calculated from resting lines diameters with these equations. However, more realistic proportional methods must be used for precise back-calculations of individual body sizes.*

*Main results about growth show that :*

- *growth is rapid before maturation,*
- *maximal body size is higher in *Rana esculenta* hybrids than in *Rana lessonae* and in females than males,*
- *individual size is larger in agricultural areas for *esculenta* where it is the dominant taxon, but a smaller growth occurs in marshes where *lessonae* is the dominant taxon,*
- *the largest individual frogs at the beginning of growth always remain the largest up to the end.*

## INTRODUCTION

Contrairement à certains groupes de vertébrés, tels que les poissons, il n'existe encore que peu d'études concernant l'âge des Batraciens anoures et plus particulièrement en ce qui concerne les espèces européennes (Interalia, Borkin *et al.*, 1979 ; Gibbons et Mc Carthy, 1983 ; Guyétant *et al.*, 1984 ; Francillon et Castanet, 1985 ; Guyétant *et al.*, 1988 ; Ryser, 1988). Ces travaux, surtout qualitatifs, concernent pour la plupart des rassemblements de géniteurs et ne s'intéressent pas à la structure en classes d'âge des populations locales, alors que la connaissance de cette structure est nécessaire pour une approche de la dynamique des populations. Cet état de fait peut s'expliquer par les difficultés de capture des individus immatures, bien que ce ne soit pourtant pas le cas pour les grenouilles vertes. De même, l'utilisation des structures osseuses pour des rétro-mesures demeure très limitée chez les anoures (Bruneau et Magnin, 1980 ; Smirina, 1983 ; Leclair et Castanet, 1987 ; Ryser, 1988).

Les premiers résultats de Régnier (1983) constituent donc un apport original grâce aux mesures d'âge effectués dans des populations naturelles *in situ* du complexe *esculenta* et surtout par l'introduction de rétro-calculs de croissance. Ces observations sur le "complexe" des grenouilles vertes de l'ouest de la France se poursuivent actuellement dans trois biotopes témoins : un marais (la Roche du Theil), un étang (Aumée), une mare (Gannedel) situés au Sud du département d'Ille et Vilaine. Les structures spécifiques s'avèrent d'ailleurs différentes selon les milieux, les marais sont à dominante *Rana lessonae*, tandis que les étangs et mares sont à dominante *Rana esculenta* (Régnier et Neveu, 1986). Compte tenu des données actuelles il est possible de faire état des principaux résultats déjà obtenus sur la croissance, mais aussi des contraintes et problèmes soulevés par les rétro-mesures sur les os.

## METHODES D'ETUDE

Les grenouilles sont capturées soit à la ligne de jour, soit à la main de nuit (sauf les grenouillettes de l'année). Après détermination, mensuration et marquage, la densité est estimée par capture-recapture. Une partie des animaux, proportionnelle à leur densité, est anesthésiée et fixée à l'alcool éthylique à 95° pour les études ultérieures. Le tibia (en fait tibio-fibulaire) est prélevé en tant qu'os long facile d'accès pour les rétro-mesures, compromis entre des phalanges trop petites et des fémurs trop gros et à plus forte résorption endostéale. Après déminéralisation à l'acide nitrique à 5 %, des coupes sont effectuées au cryomicrotome à 20-30 µm, puis colorées à l'hématoxyline d'Ehrlich pendant 10 à 15 mm.

Pour les rétro-mesures, le choix s'est porté sur le plus petit diamètre des coupes (plus ou moins elliptiques) mesuré sur croquis au tube à dessin (grossissement linéaire de 76) à partir des meilleurs éléments de chaque préparation. Pour éviter autant que possible des variations structurales dues à la position des coupes, celle-ci sont effectuées dans la même région de la diaphyse, proximale au trou nourricier. Les mesures sont effectuées sur des montages frais car le séchage du milieu de montage (aquamount) peut créer des tensions, de même qu'une pression trop forte de la lamelle.

Chaque hiver s'enregistre sous la forme d'une ligne d'arrêt de croissance (LAC) bien différenciée, effectuant le tour de l'os sans discontinuité. D'autres marques d'arrêt ou de ralentissement de croissance, généralement discontinues et/ou d'un aspect différent, plus diffuses, peuvent apparaître.

Le test t de Student est employé au seuil de 5 % pour valider les différents résultats sur la croissance.

## RESULTATS

L'évolution estivale des structures démographiques montre qu'entre juillet et septembre la cohorte des individus immatures nés l'année précédente s'incorpore progressivement au reste de la population (Neveu, 1991). Aussi toutes les données analysées ici sont relatives aux captures de septembre, juste avant l'entrée en hibernation pour la zone d'études.

### L'ESTIMATION DE L'AGE

#### Taille de l'os à la capture

En prenant un exemple chez *R. esculenta* et compte tenu des dates de capture, le diamètre mesuré à partir des bords externes du tibia peut être considéré comme une bonne estimation de la position de la future LAC de l'hiver suivant (tableau 1).

#### Résorption endostéale

Le diamètre (D en mm) de la cavité médullaire centrale est faiblement corrélé à la taille des individus (L en mm) : pour *esculenta* (n = 45 mâles)  
 $L = 0,3735D + 0,2974$  avec  $r = 0,32$  (significatif au seuil 5 %).

Quel que soit l'âge des grenouilles étudiées la résorption endostéale ne concerne au maximum que la LAC du premier hiver.

Tableau 1. Comparaison entre le diamètre externe du tibia à la capture et le diamètre de la ligne d'arrêt de croissance correspondante de grenouilles plus âgées (D en mm,  $\sigma$  écart type).

		Nombre d'hivers		
		2	3	4
Cohortes		1983	1982	1981
Diamètre externe	n	7	21	14
	D	1,155	1,307	1,322
	$\sigma$	0,078	0,129	0,144
Cohortes		1982	1981	1980
Diamètre de la LAC	n	21	14	3
	D	1,195	1,268	1,337
	$\sigma$	0,172	0,156	0,061
Test t		-	-	-

La cavité centrale peut donc fournir une approximation du diamètre externe de l'os au premier hiver lorsque la LAC correspondante est absente : pour *esculenta*  $D_1 = 0,5175$  ( $\sigma = 0,092$ ,  $n = 15$ ) pour le 1er hiver visible et  $D_2 = 0,5700$  ( $\sigma = 0,070$ ,  $n = 30$ ) pour la cavité centrale ayant résorbé le 1er hiver. La différence n'est pas significative ( $t = 1,92$ ).

### Exemples de structures démographiques

Les résultats de détermination de l'âge permettent de décomposer les structures en classes de longueur en classes d'âge (figure 1). Ces quelques exemples chez *R. lessonae* montrent l'incorporation progressive des jeunes individus au reste de la population au cours de l'été. A ce stade la structure démographique générale est assez homogène chez les mâles, beaucoup moins chez les femelles, sans pour cela laisser apparaître les modes des âges sans détermination ostéologique de ceux-ci.

L'âge maximum est de 5 ans pour *R. lessonae*. Pour *R. esculenta* quelques individus atteignent 6 ans. L'importance relative des différentes cohortes est très variable, ainsi le site Gannedel 1985 montre un déficit très net en individus d'un an. Cette mare proche d'un marais dépend en effet des migrations inter milieux, le brassage est important contrairement au site La Roche 1982 (canal en zone humide) où l'autoproduction des jeunes est plus régulière. L'évolution de la forme des histogrammes montre une croissance plus forte entre 1 et 2 ans.

### LES RETROCALCULS DE CROISSANCE

Il s'agit de reconstituer l'histoire des individus en estimant la croissance en longueur du corps à partir de la croissance en diamètre du tibio-fibulaire.

### Relation longueur du corps-diamètre du tibia

Cette relation est toujours de type linéaire (Figures 2 et 3). Les coefficients de corrélation sont très élevés, les analyses de variance donnent des résultats très hautement significatifs quant à la valeur de la régression.

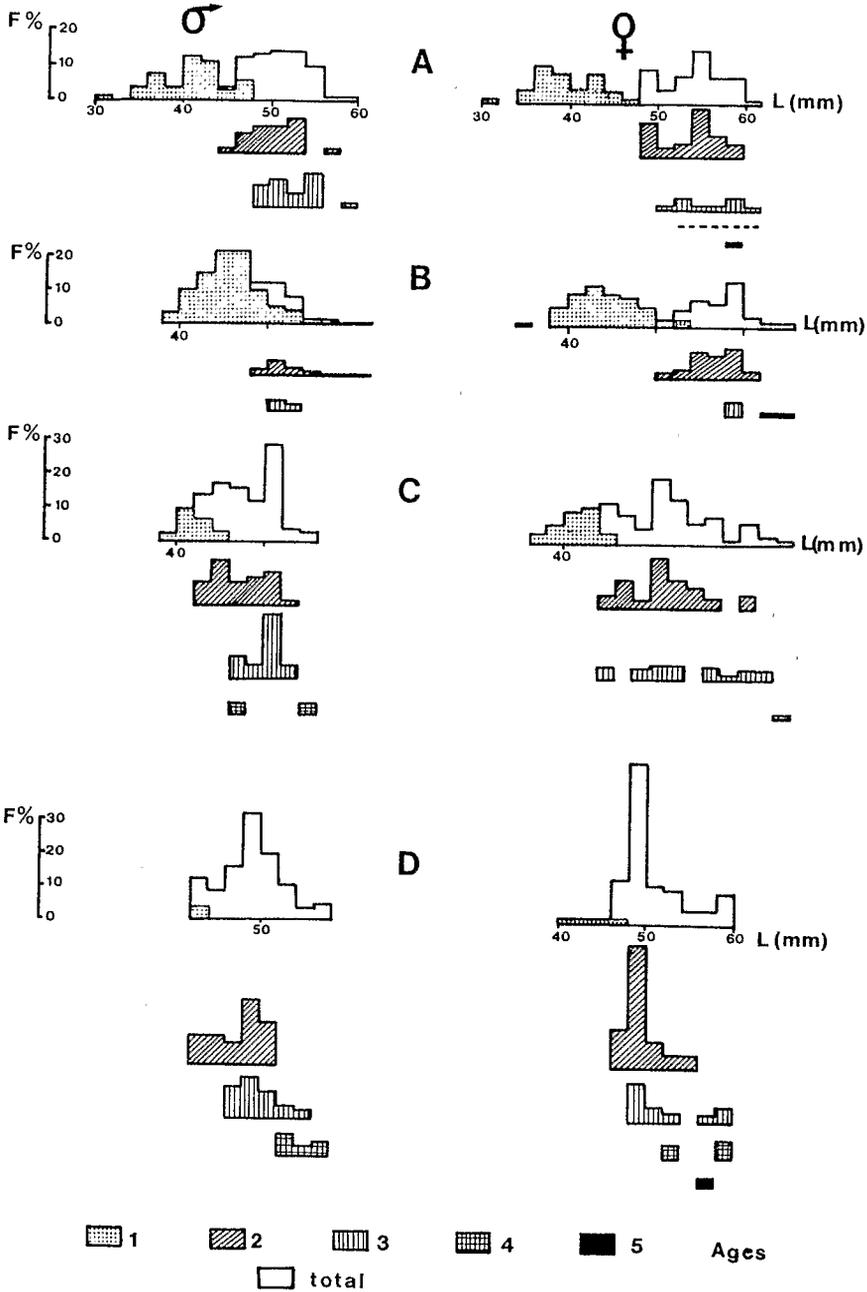


Figure 1. Structures démographiques de diverses populations de *R. lessonae* (La Roche du Theil : A juillet 1982, B septembre 1982, C septembre 1984 ; Gannedel : D septembre 1985 ; F : fréquence des tailles ; L : longueur du corps).

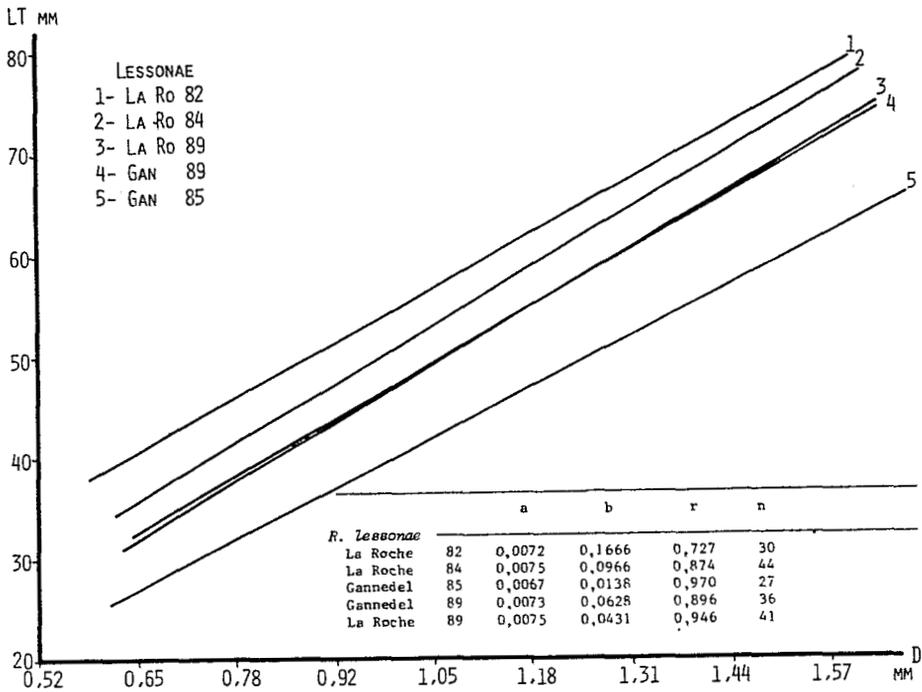


Figure 2. Régression linéaire entre la longueur totale du corps et le diamètre de la diaphyse tibiale chez *R. lessonae* (L et D en mm). Caractéristiques de la régression linéaire  $L = aD + b$  entre la longueur totale du corps (L) et le diamètre du tibia (D) pour divers échantillons (L en mm, D en mm, r coefficient de corrélation).

Par contre si aucune différence notable n'apparaît entre les sexes, il y a des variations entre *R. lessonae* et *R. esculenta*. De même, à l'intérieur d'un taxon, la régression change suivant les biotopes et les années. Les comparaisons 2 à 2 des différentes pentes montre que pour *esculenta* la plupart sont significativement différentes, contrairement à *lessonae*. Par contre pour les ordonnées à l'origine, la plupart sont différentes aussi bien chez *lessonae* que chez *esculenta*.

Ces différences peuvent s'expliquer par un cumul de variabilité dues au biotope, à l'année, mais aussi au mode d'analyse : niveau des coupes, biais, pression variable de la lamelle, etc.

### Formules de rétrocalcul

Dans le cas des poissons l'emploi direct des formules de régression est encore régulier, mais la majorité des auteurs s'accorde pour conserver une croissance proportionnelle au niveau individuel (Francis, 1990). Pour les rétrocalculs sur les grenouilles vertes Régnier (1983) utilise la formule de Fraser Lee, qui ne tient pas compte de la totalité de l'information de la relation  $L = f(D)$  puisque le coefficient de régression y est absent. Il semble préférable d'utiliser la relation de Whitney et Carlander (in Francis, 1990).

$$L_i = \frac{aD_i + b}{aD_c + b} L_c$$

$L_i$ : longueur totale en mm pour la LAC  $i$ ,

$D_i$ : diamètre de la LAC  $i$  (en mm),

$L_c$ : longueur totale à la capture (mm),

$D_c$ : diamètre du tibia à la capture (mm),

$a$  et  $b$  étant les coefficients de la régression  $L = aD + b$  établie pour l'échantillon.

Les résultats obtenus sur l'échantillon de 45 mâles *esculenta* (Aumée 1984) au niveau de la taille moyenne au 2ème hiver ne diffèrent pas significativement de ceux obtenus par la méthode directe (tableau 2). Par contre au niveau de la taille individuelle les différences peuvent être importantes (jusqu'à 6 mm).

### Expression des résultats sur la croissance

A partir des structures en classes d'âge telles que celles de la figure 1, il est possible de calculer la taille moyenne correspondant à chaque âge représenté alors par les cohortes réelles mais d'années différentes et successives. Il est aussi possible, par rétrocalculs, de reconstituer la croissance moyenne de chaque cohorte au cours des années.

Tableau 2. Comparaison entre la méthode proportionnelle et la régression directe pour les rétrocalculs sur un échantillon de *R. esculenta* (Aumée, 1984, 45 mâles) (explications dans le texte).

Cohortes		1983	1982	1981	1980	Moyenne
$aD_i + b$	$n$	7	21	14	3	45
$L_i = \frac{aD_i + b}{aD_c + b} L_c$	$L_i$	55,57	52,96	47,76	48,39	51,44
	$\sigma$	4,07	6,51	6,45	7,60	6,25
	$n$	7	21	14	3	45
$L_i = aDi + b$	$L_i$	55,57	52,01	48,76	48,40	51,31
	$\sigma$	2,74	6,01	6,08	7,38	6,15

Enfin l'ensemble de toutes les rétrocalculs peut servir à déterminer une taille corporelle moyenne caractéristique de la population pour chaque âge (tableau 3). Ce dernier cas donne une courbe de croissance pondérée (figure 5, courbe 3), dont chaque point est déterminé par un échantillon d'autant plus grand qu'il correspond à un âge faible (autre que le 1er hiver).

Dans tous les cas la comparaison (test  $t$ ) deux à deux des différentes estimations de la taille moyenne de l'os correspondant à un âge particulier, ne montre pas de différence significative. Autrement dit les différences de croissance interannuelles sont négligeables, au moins pour l'exemple étudié. Sur le plan pratique, pour comparer différents biotopes, il est donc possible d'utiliser la cohorte moyenne.

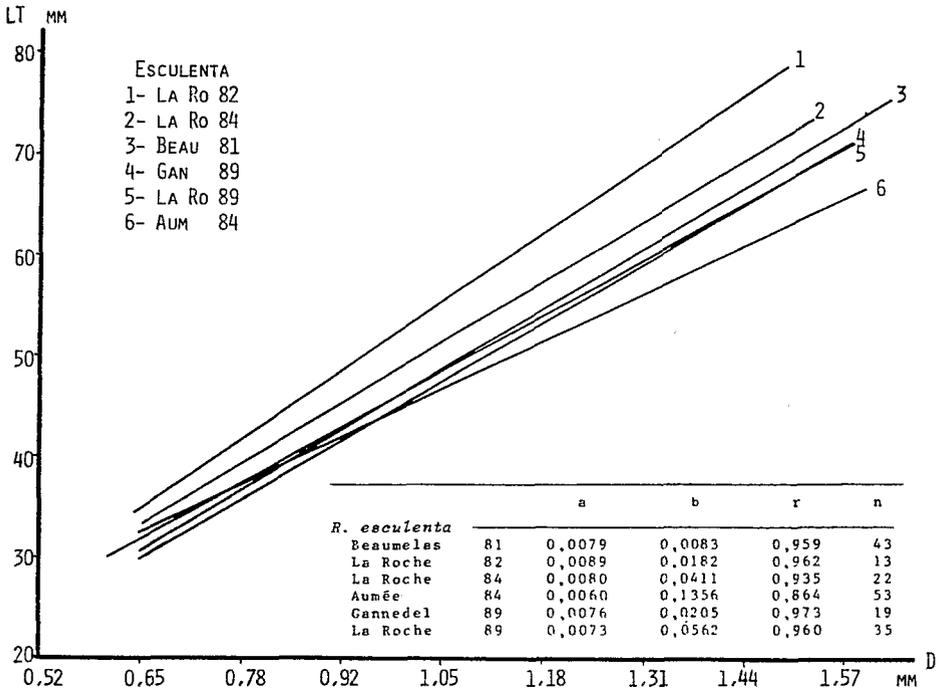


Figure 3. Régression linéaire entre la longueur totale du corps et le diamètre de la diaphyse tibiale chez *R. esculenta* (L et D en mm). Caractéristiques de la régression linéaire  $L = aD + b$  entre la longueur totale du corps (L) et le diamètre du tibia (D) pour divers échantillons (L en mm, D en mm, r coefficient de corrélation).

### Croissance comparée de *R. lessonae* et de *R. esculenta*

Les résultats obtenus, par exemple sur le marais de la Roche du Theil, montrent (réétalons sur la cohorte moyenne, figure 4) :

- une croissance très forte des deux taxons entre le 1er et le 2ème hiver, une croissance forte pour les femelles entre le 2e et le 3e hiver, alors que les mâles ont une croissance ralentie en relation avec une maturité sexuelle plus précoce,
- une taille plus forte des femelles à partir du 3ème hiver,
- une taille plus forte de l'hybride *esculenta*.

La comparaison 2 à 2 des différences de taille moyenne pour un âge donné donne cependant des résultats relativement hétérogènes au niveau des différences intersexes, plus significatifs au niveau des différences intertaxons. Les différences interannuelles sont rarement significatives (par exemple les femelles de 2 hivers capturées en 1984 sont significativement plus petites que celles de 1982).

En revanche les différences de croissance entre biotopes sont plus importantes, en particulier pour l'hybride *esculenta* (figure 5). Les sites 1, 2, 3 correspondent à des étangs et mares en zones cultivées, les populations y sont à dominante *esculenta* à forte croissance. Les autres sites correspondent à des marais à dominante *lessonae*, où

la croissance des *esculenta* est plus faible. Le record de croissance du site 1, mares abreuvoirs en prairies permanentes, peut s'expliquer par la triploïdie presque générale (90-95 %). De même le site 2 renferme un taux de triploïdes notable (10-15 %) alors que le site 3 en est pratiquement dépourvu (0-3 %).

En prenant les individus ayant 4 hivers (les plus âgés) il est possible de les partager en deux catégories différentes : les grands et les petits, la limite de séparation étant variable suivant les biotopes et les taxons. La reconstitution de la croissance de ces 2 groupes, à partir des rétro-mesures, montre que les différences de taille restent généralement significatives au cours du temps. Autrement dit les individus qui dès le départ ont un avantage au niveau de la taille le conservent. Par contre il n'est pas possible de dire si une plus grande taille initiale augmente significativement la survie.

Tableau 3. Différentes possibilités de mesure de la croissance osseuse à partir des différentes cohortes (échantillon : Aumée, 1984, 45 mâles, *R. esculenta*).

		Nombre d'hivers				
		1	2	3	4	5
Cohortes réelles			(83)	(82)	(81)	(80)
	n	.	7	21	14	3
	D	.	1,155	1,307	1,322	1,377
	$\sigma$	.	0,078	0,129	0,144	0,053
Cohorte 1980	n	.	3	3	3	3
	D	.	1,092	1,201	1,337	1,377
	$\sigma$	.	0,211	0,144	0,061	0,053
Cohorte 1981	n	2	14	14	14	
	D	0,585	1,098	1,268	1,322	
	$\sigma$	0,158	0,177	0,156	0,144	
Cohorte 1982	n	6	21	21		
	D	0,625	1,195	1,307		
	$\sigma$	0,080	0,172	0,129		
Cohorte 1983	n	7	7			
	D	0,631	1,155			
	$\sigma$	0,079	0,078			
Cohorte moyenne		(81 à 83)	(80 à 83)	(80 à 82)	(80 + 81)	(80)
	n	15	45	38	17	3
	D	0,617	1,150	1,284	1,325	1,377
	$\sigma$	0,092	0,168	0,140	0,131	0,053

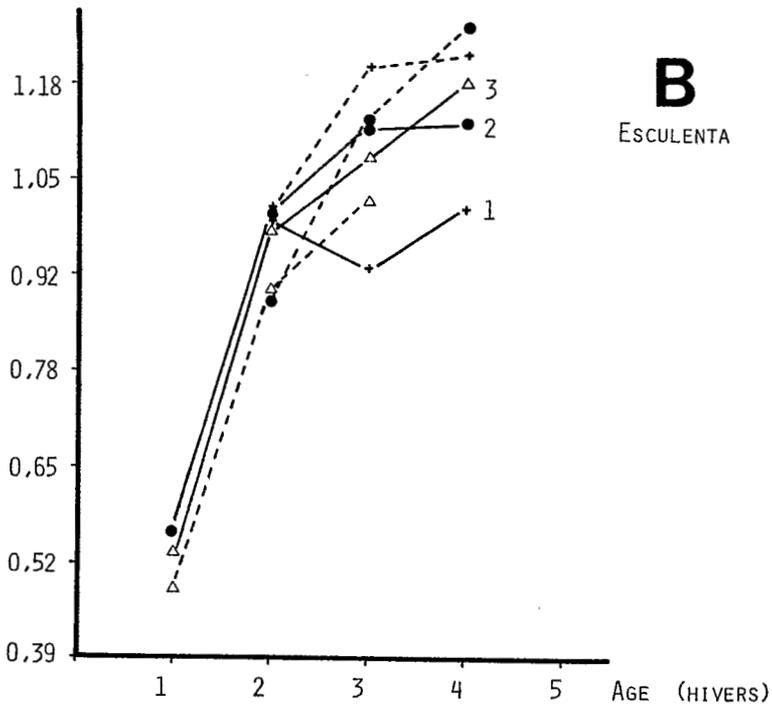
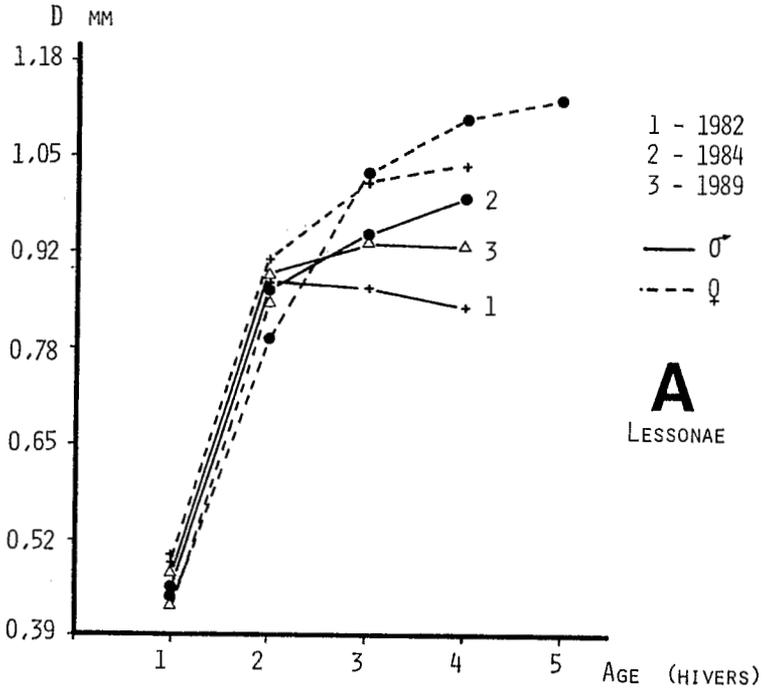


Figure 4. Croissance du diamètre du tibia chez *R. lessonae* et *R. esculenta* en fonction de l'âge (marais de la Roche du Theil).

## DISCUSSION ET CONCLUSION

Pour les études de dynamique des populations de grenouilles vertes, la connaissance des structures en classes d'âge est indispensable. En l'absence de critères d'âge externes, l'obtention de cette donnée nécessite le recours à l'ostéochronologie.

Le choix du tibia, plus généralement d'un os long, permet d'envisager des rétro-mesures de croissance.

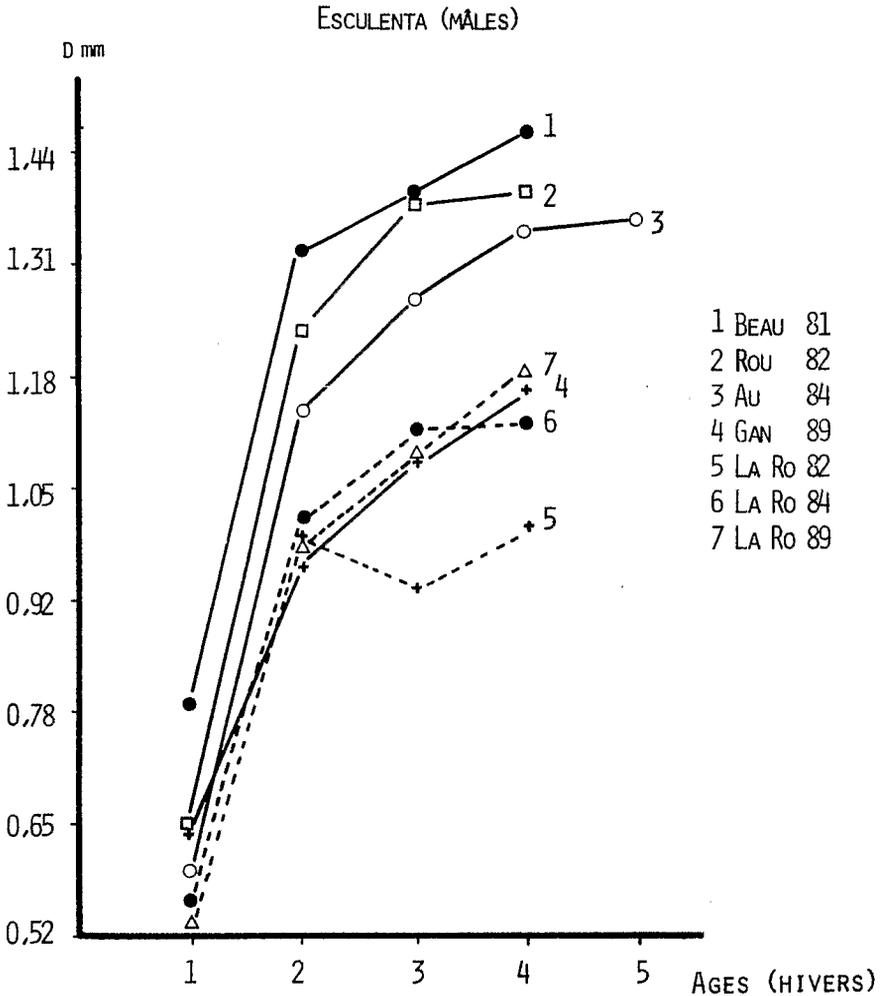


Fig. 5. Comparaison de la croissance osseuse (augmentation du diamètre du tibia) chez les mâles de *R. esculenta* de divers biotopes.

L'inconvénient majeur de cette méthode est la nécessité de sacrifier les grenouilles, mais le choix des phalanges qui permettrait leur sauvegarde présente des inconvénients quant à la précision des rétro-mesures.

La lecture de l'âge s'effectue sur les lignes d'arrêt de croissance correspondant aux

hivers qui se distinguent des autres marques par leur continuité et leur contraste. Quelques rares individus ne permettent pas de lecture faute d'une empreinte hivernale suffisante (ou chromophile), en particulier lors des hivers doux (1989-1990).

Pour les rétrocalculs, la relation entre le diamètre de la diaphyse tibiale et la longueur totale des grenouilles est toujours linéaire, mais très variable suivant les échantillons. Aussi est-il nécessaire de calculer la régression pour chaque prélèvement, faute d'une maîtrise de la variabilité dont les causes restent à cerner.

Le recours à des formules proportionnelles ne semble pas indispensable pour l'étude de la croissance moyenne de groupes d'âge. Par contre elles sont nécessaires à des comparaisons interindividuelles comme le montre aussi Ryser (1988) sur *R. temporaria*.

Les calculs à partir de la cohorte moyenne augmentent la taille des échantillons et permettent de reconstituer la croissance moyenne d'une population pour un biotope donné. L'approche par les cohortes annuelles ne permet pas de mettre en évidence des différences de croissance interannuelles.

La maturité sexuelle, plus précoce chez les mâles, freine fortement la croissance comme chez beaucoup de Batraciens (Loman, 1978 ; Gibbons et McCarthy, 1984 ; Hemelaar, 1985 ; Ryser, 1988).

De même que pour *Rana temporaria* (Ryser, 1988) la taille en fin de croissance est corrélée à celle du début ; les plus grands individus avaient déjà cet avantage de taille au départ. Ces différences peuvent être reliées à l'influence des divers facteurs de l'environnement sur le développement des têtards et/ou à la vitesse de croissance des grenouillettes au cours de leur 1ère année de vie terrestre.

## REFERENCES

- BORKIN L.J.A., GARANIN W.I., TICHENKO N.T., ZAUNE I.A., 1979. Some results in the green frogs survey in the USSR. *Mitt. Zool. Mus. Berlin*, 55 : 153-170.
- BRUNEAU M., MAGNIN E., 1980. Croissance, nutrition et reproduction des ouaouarons *Rana catesbeiana* Shaw (Amphibia, Anura) des Laurentides au nord de Montréal. *Can. J. Zool.*, 58 : 175-183.
- FRANCILLON H., CASTANET J., 1985. Mise en évidence expérimentale du caractère annuel des lignes d'arrêt de croissance squelettique chez *Rana esculenta* L. (Amphibia, Anura). *C.R. Acad. Sci. Paris*, 300 : 327-332.
- FRANCIS R.I.C.C., 1990. Back-calculation of fish length : a critical review. *J. Fish Biol.*, 36: 883-902.
- GIBBONS M., Mc CARTHY T.K., 1983. Age determination of frogs and toads (Amphibia, Anura) from North Western Europe. *Zool. Scr.*, 12 : 145-151.
- GUYETANT R., CASTANET J., PINSTON H., 1984. Détermination de l'âge de jeunes grenouilles *Rana temporaria* L. par l'analyse des marques de croissance de coupes transversales d'os compact. *C.R. Soc. Biol.*, 178 : 271-277.
- GUYETANT R., BROUSSE S., HEROLD J.P., PINSTON H., 1988. Etude de la croissance et du développement de grenouilles rousses *Rana temporaria* L. en altitude (Alpes du Nord). *C.R. Soc. Biol.*, 182 : 301-307.

- HEMELAAR A.S.M., 1985. An improved method to estimate the number of year rings resorbed in phalanges of *Bufo bufo* (L.) and its application to populations from different latitudes and altitudes. *Amphibia Reptilia*, 6 : 323-343.
- LECLAIR R., CASTANET J., 1987. A skeletochronological assessment of age and growth in the frog *Rana pipiens* Scheber (Amphibia, Anura) from Southwestern Quebec. *Copeia*, 2 : 361-369.
- LOMAN J., 1978. Growth of brown frogs *Rana arvalis* Nilsson and *R. temporaria* L. in South Sweden. *Ekol. pol.*, 26: 287-296.
- NEVEU A., 1991. Structures démographiques de populations adultes de grenouilles vertes du complexe *esculenta*. *Bull. Fr. Pêche Pisc.*, 321 : 13-29.
- REGNIER V., 1983. Etude écologique des grenouilles du complexe *Rana esculenta* en Pays de Vilaine (Bretagne). *Thèse Doct. 3<sup>è</sup> cycle*, Univ. Rennes : 115 p.
- REGNIER V., NEVEU A., 1986. Structures spécifiques des peuplements en grenouilles du complexe *Rana esculenta* de divers milieux de l'Ouest de la France. *Acta Oecologica, Oecol. Applic.*, 7 : 3-26.
- RYSER J., 1988. Determination of growth and maturation in the common frog, *Rana temporaria*, by skelettochronology. *J. Zool., Lond.*, 216 : 673-685.
- SMIRINA E.M., 1983. (Détermination de l'âge et évaluation de la taille corporelle par retromesure sur des crapauds vivants (*Bufo bufo*)). *Zool. Zh.*, 62: 437-444 (en russe).