

# Lecture des incrémentations journalières sur des otolithes d'anchois adulte :

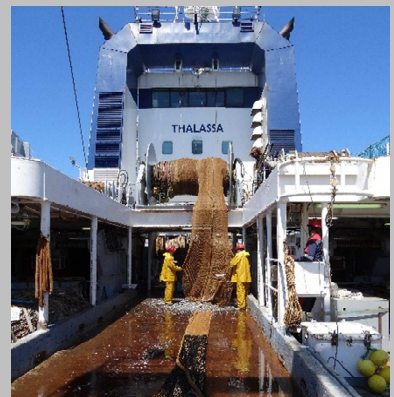
Pourquoi et comment faire ?

Auteur : **Charles Loiseau** - Master Sciences de l'Univers, Environnement, Ecologie - Spécialité Océanographie, Environnements Marins

Encadrants : **Pierre Petitgas, Patrick Grellier** - Laboratoire d'Ecologie et Modèles en Halieutique Ifremer centre Atlantique, Nantes

## Résumé

La population d'anchois du Golfe de Gascogne présente une grande variabilité dans le recrutement de jeunes individus à la population, si bien que le stock a quasiment disparu en 2005. Bien qu'aujourd'hui la population soit revenue à un niveau démographique satisfaisant, les mécanismes qui interviennent dans le succès du recrutement sont toujours mal connus. Le but de cette étude est d'estimer plus précisément un intervalle de temps, à l'intérieur de la période de ponte de l'anchois européen, dans lequel sont nés des anchois d'un an, donc recrutés à la population. La détermination d'âge annuel des poissons par la lecture des otolithes est commune, mais le rétro-calcul de la date d'éclosion d'individus adulte par lecture des stries journalières n'a, à ce jour, fait l'objet d'aucune publication. Nous mettons donc en évidence, sur des otolithes d'anchois échantillonnés lors de PELGAS 2004, la faisabilité d'une telle méthode. Les résultats obtenus indiquent, pour l'année concernée, un recrutement qui a lieu sur une courte période de temps (un mois), et en dehors du pic de ponte. De plus, la taille des individus d'un an, très variable, ne dépendrait pas de leur nombre de jours de croissance. Ces premiers résultats, obtenus par une méthode inédite, posent les bases d'une réflexion sur les premiers stades de vie de l'anchois et les facteurs qui régissent sa croissance et sa probabilité de recrutement à la population.



## **Lecture des stries journalières sur des otolithes de poissons adultes : Pourquoi et comment faire ?**

Les otolithes sont des pièces calcifiées, situées par paires dans la tête des poissons téléostéens (Campana 1999). Ils servent à la perception des sons, à l'équilibre et à l'orientation. La lecture de leur microstructure est communément admise comme la méthode la plus efficace pour estimer l'âge d'un individu (Begg *et al.* 2005 ; Bedford 1983) depuis plus d'un siècle (Campana 1999). De l'éclosion (et même avant) jusqu'à la mort, les otolithes enregistrent en continu la croissance journalière et annuelle, ainsi que la température et la composition des eaux dans lesquelles il a évolué (Campana 1999, Jolivet *et al.* 2013). Ces informations relatives à l'histoire de vie des individus sont précieuses pour le suivi des populations (structures en âge, taux de croissance, recrutement) en lien avec la variabilité climatique et leur exploitation (Cermeno *et al.* 2006 ; Homer *et al.* 2015). Ainsi, de nombreuses études ont pour but d'identifier les facteurs responsables de la grande variabilité du recrutement de l'anchois (*Engraulis encrasicolus*) dans le Golfe de Gascogne (Wilhelm *et al.* 2005).

Cette population de petits poissons pélagiques, du fait de son court cycle de vie et des variations environnementales, fluctue beaucoup, à tel point qu'elle a quasiment disparu en 2005 (Aldanondo *et al.* 2010). L'anchois européen pond préférentiellement d'avril à août, dans les zones à haute productivité biologique comme les panaches fluviaux de la Gironde ou de l'Adour. Au début de la ponte, la rétention des larves est favorisée par le régime des vents dominants dans les zones côtières (Huret *et al.* 2010). Puis, en avançant dans la saison, les vents dominants de nord-est transportent des larves hors du plateau continental. (Aldanondo *et al.* 2010, Huret *et al.* 2010 ; ICES. 2010). On observe le même mécanisme pour l'anchois en Méditerranée (Ospina-Alvarez *et al.* 2015). Le recrutement des anchois est généralement interprété selon les mécanismes de la triade de Bakun (1996) : rétention, enrichissement et concentration. Selon ce principe, l'advection des larves vers le large entraînerait leur perte pour la population. Or, on retrouve des grandes larves et des petits juvéniles au large, les plus gros juvéniles et les adultes étant près des côtes (Aldanondo *et al.* 2010 ; Boyra *et al.* 2013 ; Irigoien *et al.* 2007). Cette niche spatiale serait avantageuse car à faible pression de prédation, et pourrait donc constituer une nurserie océanique pour les jeunes juvéniles d'anchois (Irigoien *et al.* 2007 ; Ospina-Alvarez *et al.* 2015).

Cependant, d'autres résultats montrent que la croissance des juvéniles d'anchois est favorisée sur le plateau continental, comparé à ceux échantillonnés en zone océanique, et qu'une part importante des juvéniles est bel et bien présente en zone côtière, leur rétention étant favorisée par les courants, comme le soutient la modélisation basée sur l'hydrodynamisme dans cette région (Allain *et al.* 2003). La sélection des larves serait alors taille-dépendante : les juvéniles retrouvés en septembre dans le golfe de



Gascogne étant issus des larves ayant eu la croissance la plus rapide. En effet, plus les individus grandissent rapidement, moins ils sont vulnérables à la prédation (Allain *et al.* 2003).

Ces résultats opposés mettent en exergue la nécessité d'avoir une résolution plus précise sur le cycle de vie de l'anchois européen, plus particulièrement sur les paramètres qui régissent la survie des larves et des juvéniles jusqu'à la première reproduction. L'anchois européen est mature dès la première année. Les individus d'un an constituent le recrutement (ICES, 2010). Bien que de nombreuses études valident la détermination de l'âge d'éclosion par lecture des stries journalières sur les otolithes de larves et juvéniles d'anchois (Aldanondo *et al.* 2008 et 2010 ; Allain *et al.* 2003 ; Cermeno *et al.* 2008 ; Brothers *et al.* 1976), ou d'autres espèces (A. B. Dougherty 2007 ; Mendiola *et Alvarez* 2007 ; Nakaya *et al.* 2008), il n'existe aucune méthode appliquée à la lecture de ces stries journalières chez un individu adulte, recruté à la population. Estimer une ogive de naissance des recrues par rétro-calcul de leur date d'éclosion pourrait nous indiquer de quelle sous-cohortes sont issus les adultes d'un an dernièrement recruté, et aider à la compréhension de la variabilité de leur croissance avant le premier hiver, période déterminante pour la dynamique de la population (Petitgas *et al.* 2012). Ainsi, nous évaluerons ici la faisabilité d'une telle méthode, puis on rétro-calculera la date d'éclosion d'un petit échantillon d'anchois adulte, pour enfin nous permettre d'avancer des hypothèses sur la variabilité du recrutement chez l'anchois.

## **Matériel et méthodes**

**Echantillonnage** : Les otolithes étudiés sont issus de la campagne PELGAS 2004, mené par l'Ifremer à bord du N/O Thalassa. Des radiales sont effectuées de la côte vers le large, jusqu'au talus continental (Figure 1). L'utilisation combinée des échosondeurs mono-faisceau/multifréquences et multifaisceaux/mono-fréquence permet de repérer en temps réel les bancs de poissons et supporte la décision de mise en pêche. Les espèces remontées au chalut sont ensuite triées. Pour l'anchois, 50 individus, répartis sur toutes les classes de taille mesurées (par pas de 0,5 cm), sont conservés, sur lesquels on prélèvera les otolithes (Doray *et al.* 2015).

**Sélection et préparation des otolithes** : Les otolithes sont extraits par la section ventrale de la tête à travers les branchies, ou « *up through the gills method* » (Secor *et al.* 1992 ; Panfili *et al.* 2002). On trouve trois paires d'otolithes : les sagittales, les lapilus et les astericus. Seules les sagittales seront conservées, leur lecture étant la plus aisée (Aldanondo *et al.* 2008, Cermeno *et al.* 2008). Les otolithes sont montés individuellement sur une lame, le sulcus vers le bas, puis fixés avec une colle thermoplastique (Crystalbond®). Ils sont ensuite poncés manuellement avec des feuilles micro-abrasives d'oxyde d'alumine (grains décroissant de 30 à 1 µm). Lorsque le nucleus et les incrémentations sont assez visibles, on peut procéder à la lecture par microscopie optique, couplée à un



analyseur d'image qui permet de recréer une vue composite de l'otolithe en entier et en trois dimensions, le Keyence®.

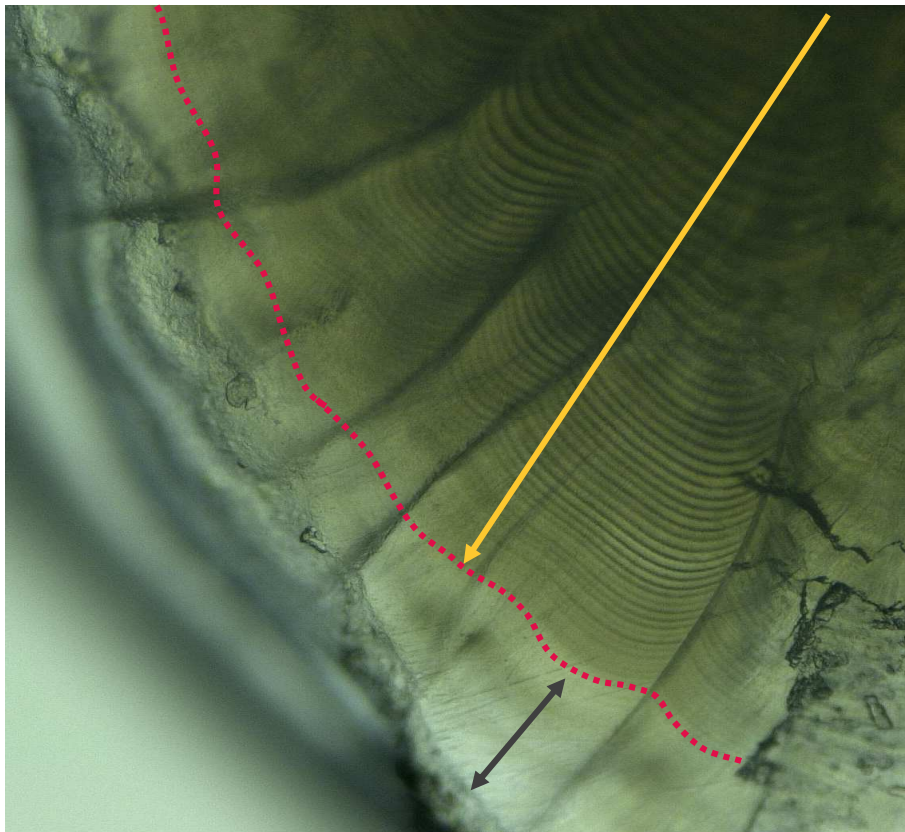
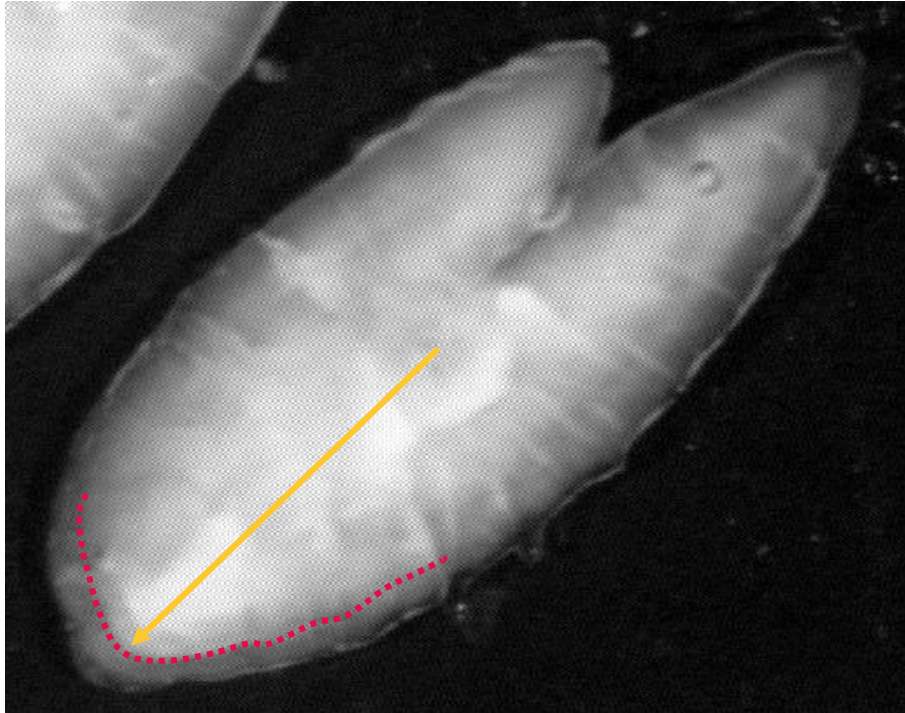
**Lecture des stries journalières :** On dénombre les stries journalières sur le rayon R1 allant du nucleus jusqu'au début de la première strie de croissance annuelle, marquant le début de l'hiver. Deux observateurs comptent deux fois chacun, au microscope optique, grossissement x100 pour les stries autour du nucleus, et x40 pour le reste. Lorsque des zones restent illisibles, on estime le nombre d'incrémentations manquantes en comptant le nombre de stries visibles dans une zone proche et de même taille. On prendra comme taille maximale de zone illisible 100 µm afin de ne pas rendre la part d'estimation trop importante. Au-delà de cette taille, l'otolithe concerné ne sera pas analysé. Pour améliorer le contraste entre les zones opaques et hyalines, on frotte les otolithes avec une solution à 0,1 N HCl pendant 30 secondes (Lee *et al.* 2009)

## Résultats

Après analyse des premiers otolithes préparés, il est rapidement apparu que toutes les incrémentations journalières, sur l'ensemble du rayon de l'otolithe, ne peuvent être lues. Il a donc été décidé de lire les stries sur le rayon R1, le nombre d'incrémentations correspond alors au nombre de jour de croissance de l'individu, de son éclosion jusqu'au ralentissement marqué de la croissance, correspondant au début de la période défavorable pour l'anchois (Figure 1). Les stries formées après la première marque saisonnière sont trop condensées pour être lisibles, et la structure en trois dimensions de l'otolithe complique encore plus la tâche.

Approximativement, le temps passé sur un otolithe, du collage sur une lame à la lecture, est de 4 heures, et un tiers des otolithes ne sont pas exploitables après leur préparation. Pour ceux qui peuvent être lus, le nombre de stries compté en moyenne par otolithe ne diffèrent pas significativement entre les deux lecteurs (Figure 2). Sur les individus B, D, E, les deux otolithes étaient exploitables, et on a pu constater aucune différence significative sur le nombre de stries comptées entre l'otolithe droit et l'otolithe gauche d'un même individu (Figure 3)

Les otolithes exploités appartiennent à 5 individus différents, de taille comprise entre 11,8 et 16,3 cm. Le nombre de jour de croissance entre leur date d'éclosion et le début de l'hiver a été calculé à partir de la moyenne des décomptes de stries journalières sur leur(s) otolithe(s) (2 lecteurs x 2 lectures pour les individus A et C, 2 lecteurs x 2 lectures x 2 otolithes pour les individus B, D, E). Les résultats ne montrent pas de relation entre le nombre de jour de croissance des individus et leur taille (Figure 4)



**Figure 1.** En haut, vu d'un otolithe d'anchois d'un an à la loupe binoculaire. En bas, vu au microscope après ponçage. La flèche en jaune marque le rayon R1, sur lequel les stries journalières seront comptées.. Les pointillés rouges marquent le début de la strie de croissance saisonnière, indiquant le début de l'hiver.

## Discussion

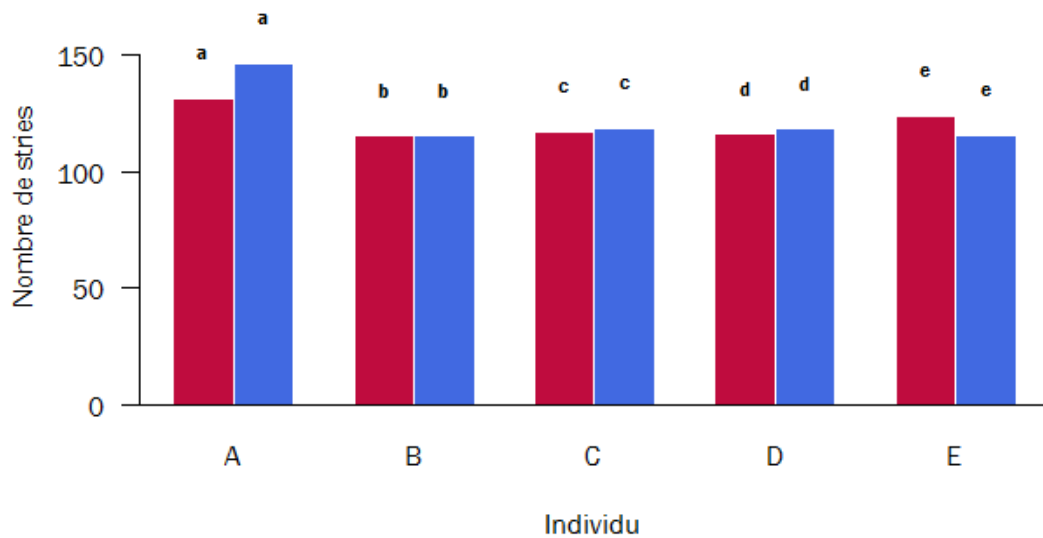
**Sur la méthode :** L'alternance de stries claires et sombres est due aux dépôts successifs des constituants de la matrice protéique et de celle de microcristaux d'aragonite sur les otolithes. Il a été démontré que cette incrémentation est journalière chez les juvéniles et les adultes de *E. encrasicolus* (Cermeno *et al.* 2003), avec toutefois des dépôts sous-journalier à prendre en compte (Cermeno *et al.* 2006). Rendre ces stries lisibles pour une interprétation de l'âge en jour d'un anchois adulte est donc envisageable.

Après préparation, les incrémentations journalières sont nettement visibles sur des otolithes d'anchois d'un an. Cependant, pour les rendre lisibles, la méthode utilisée ici est très couteuse en temps, et son rendement est assez faible, puisque beaucoup d'otolithes sont dégradés durant la procédure. Une étude de ce type sur un échantillon représentatif de la population d'anchois du Golfe de Gascogne serait donc difficile à réaliser. Des moyens pour augmenter le rendement et diminuer le temps de préparation des otolithes doivent être imaginés. Dans ce sens, plusieurs options restent à explorer : un microtome pourrait permettre une coupe sagittale des otolithes, ou bien l'utilisation d'un système servant à la réalisation de lame mince (comme le system *Abele*®) pourrait diminuer au maximum le travail de ponçage, qui est de loin la phase la plus longue du processus.

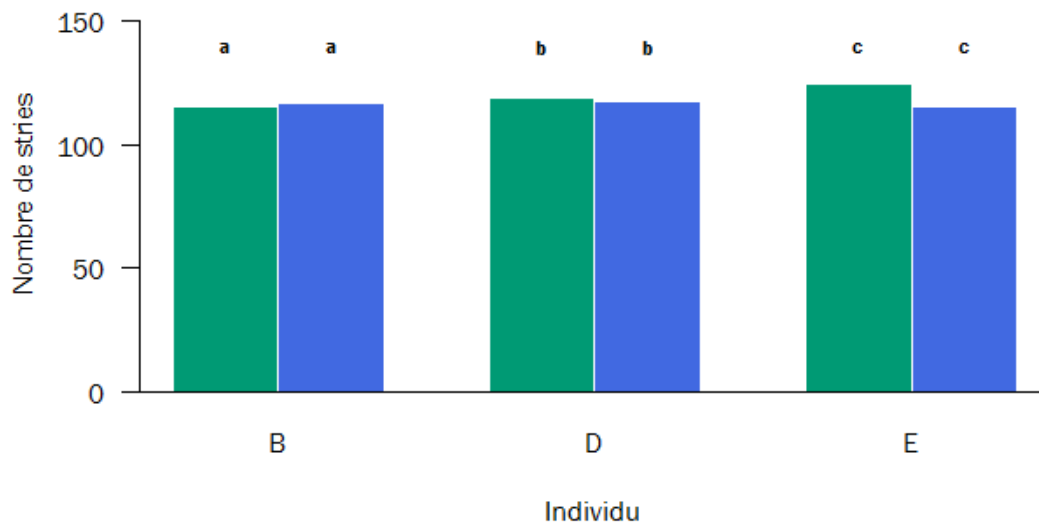
On n'observe pas de différence sur le nombre de stries comptées entre les lecteurs et entre deux otolithes issus d'un même individu, bien que des dépôts sous-journaliers puissent exister, ainsi que des incrémentations formées avant l'éclosion (Aldonando *et al.* 2008). Malgré cela, et en plus de la différence d'expérience dans la lecture d'otolithes entre les deux lecteurs, on retrouve des résultats très proches, la méthode apparaît donc comme étant fiable et peut fournir une indication sur le nombre de jours de croissance des individus avant l'hiver assez robuste.

**Sur les résultats :** La température joue un rôle majeur dans la formation des incrémentations dans les otolithes de poissons d'eaux tempérées, il s'agirait du principal facteur externe de contrôle (Panfili *et al.* 2002 ; Aldonando *et al.* 2008 ; Zhang et Runham. 1991). En s'appuyant sur le fait que la régulation de la formation des stries saisonnières, même si elle est mal connue, serait soumise aux variations environnementales qui ont lieu lors du changement de saison (Panfili *et al.* 2002 ), on peut donc présumer que le changement de saison vers l'hiver, qui ralentit la croissance de l'anchois, exerce le même effet sur les dépôts journaliers dans l'otolithe, qui sont alors très condensés et illisibles, comme on a pu le constater sur les otolithes préparés. Des élevages de juvéniles d'anchois à différentes températures ont d'ailleurs montré, aux températures les plus faibles, que la croissance de l'otolithe ralentit, que les incrémentations sont plus fines et qu'elles ne sont plus journalières, conduisant à une sous-estimation de l'âge de l'individu (Aldonando *et al.* 2008) La décision de compter les stries journalières du nucleus jusqu'au R1 a donc été prise, nous donnant alors le nombre de jours passés entre l'éclosion et le début de l'hiver, incluant ainsi le stade juvénile ou la croissance est la plus forte (ICES





**Figure 2.** Comparaison des nombres de stries moyens comptés par chaque lecteur (rouge et bleu) et pour chaque individu (A, B, C, D et E). Les lettres au-dessus des barres n'indiquent aucune différence significative entre les moyennes.

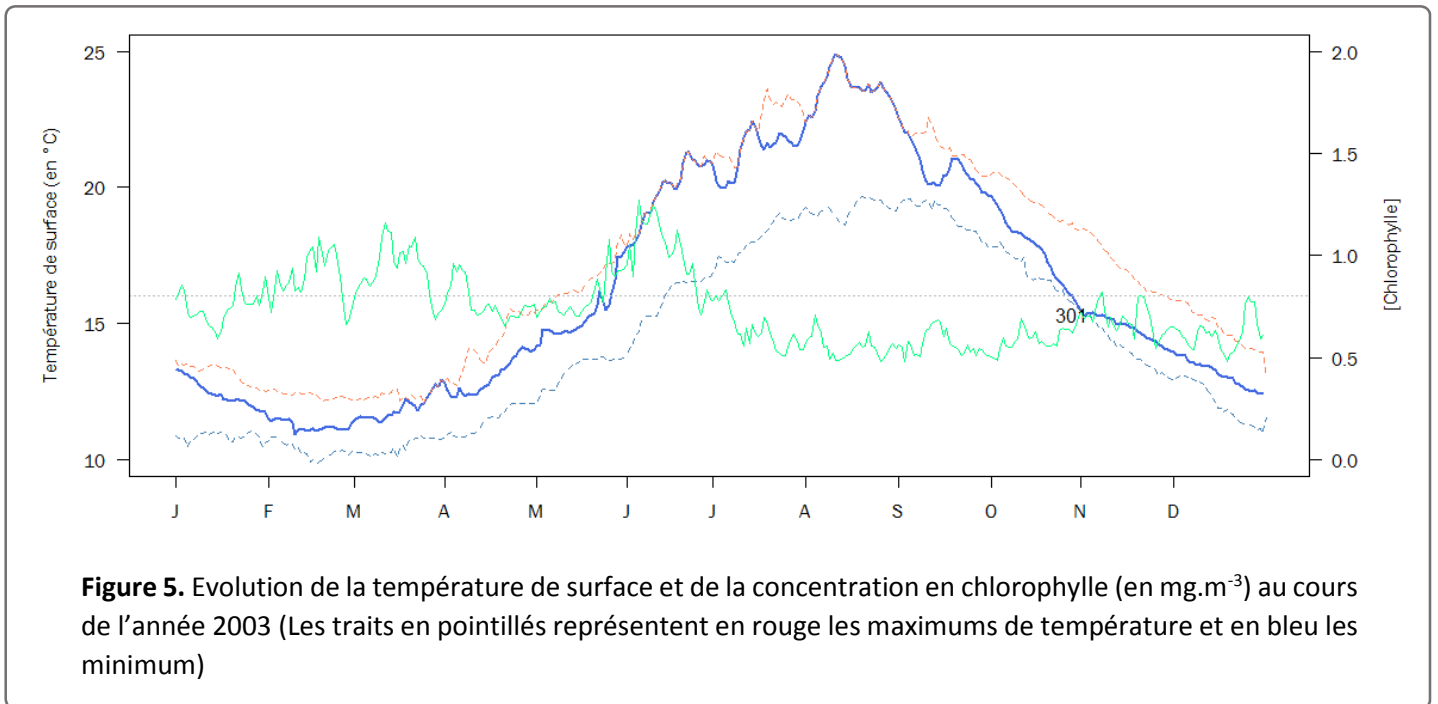
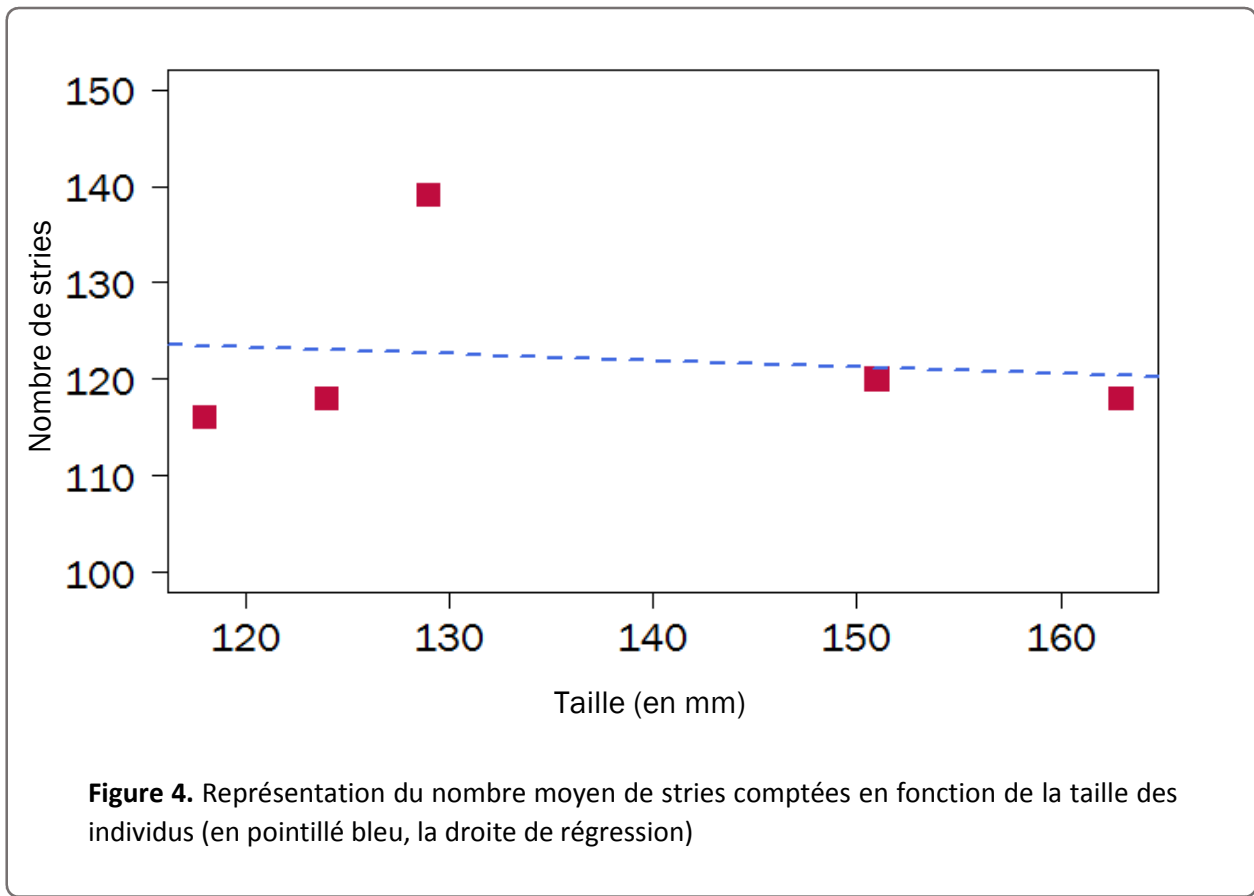


**Figure 3.** Comparaison des nombres de stries moyens comptés entre les otolithes droit et gauche (vert et bleu) appartenant à un même individu (B, D, E). Les lettres au-dessus des barres n'indiquent aucune différence significative entre les moyennes.

2000) et où les stries journalières sont bien visibles, et excluant l'hiver ou l'incertitude sur les dépôts dans l'otolithe est trop grande. Cette contrainte ajoute une incertitude sur l'estimation de la date d'éclosion, à savoir comment décider à quelle date commence l'hiver pour l'anchois ? Là encore, nous avons choisi la température comme facteur déterminant, et avons choisi un seuil de 16°C (Petitgas *et al.* 2012a), en dessous duquel on considérera que les conditions environnementales ne sont plus optimales pour permettre une forte croissance de l'anchois. En 2003, on suppose donc que l'hiver de l'anchois a commencé à la fin du mois d'octobre (au jour julien 301, figure). Cette figure met également en évidence que ce n'est pas la disponibilité en ressource qui limite la croissance, la concentration en chlorophylle restant constante d'août à décembre.

**Temps de croissance et rétro-calcul de la date d'éclosion :** la première conclusion à tirer de cet échantillon est clair : la taille des individus d'âge 1 ne dépend pas de leur temps de croissance, puisque 4 d'entre eux ont eu entre 116 et 120 jours de croissance avant l'hiver, un peu pour l'individu A, 139 jours. Ils sont donc tous nés dans un intervalle de moins d'un mois. Considérant que les incréments journalières sur l'otolithe ne sont plus lisibles à partir du mois de novembre, on remonte alors environ 120 jours plus tôt pour avoir la date d'éclosion de ces individus, ce qui correspond à la fin du mois de juin. Ces individus ne sont donc pas issus de pic de ponte, ce qui est surprenant, car on aurait pu penser que le pic de ponte de l'anchois est calé sur le maximum de probabilité de survie des larves et futurs juvéniles. Peut-être que les œufs et larves issus du mois de mai, en plein bloom écosystémique, sont finalement destinés à être consommés par d'autres espèces, et même par l'anchois lui-même, chez qui on observe du cannibalisme. De plus, si la période favorable à l'éclosion des larves destinés à être recrutés est si courte, des variations environnementales sur cette période auront d'autant plus d'impact et peuvent expliquer des années à faible recrutement, malgré une période de ponte très longue.

Evidemment, l'échantillon étudié ici ne permet pas de tirer des conclusions sur le recrutement de la population d'anchois en 2003 sur tout le golfe, mais la méthode de rétro-calcul de la date d'éclosion d'individus d'un an soulève plusieurs hypothèses : d'abord, aucun de ces individus n'est issu du pic de ponte, en mai. Que deviennent alors les œufs et les larves provenant de cette période ? Ensuite, on peut supposer que la variabilité du recrutement chez l'anchois peut venir de l'observation faite ici : seuls les individus nés dans un intervalle de temps assez restreint par rapport à la durée totale de la ponte sont recrutés. Ce qui nous amène à considérer quels facteurs définissent cette fenêtre favorable au recrutement futur de ces larves à la population. Enfin, il semblerait que la disparité des tailles des anchois d'un an n'est pas dépendante de leur âge, mais plutôt régie de manière intrinsèque, peut-être par la variabilité génétique. Améliorer la méthodologie utilisée dans cette étude pourrait donc fournir des indices précieux sur les paramètres qui contrôlent la croissance des jeunes anchois et leur recrutement à la population du Golfe de Gascogne.



## Bibliographie

- Aldanondo, N., Cotano, U., Etxebeste, E., Irigoien, X., Álvarez, P., de Murguía, A.M., Herrero, D.L., 2008. Validation of daily increments deposition in the otoliths of European anchovy larvae (*Engraulis encrasicolus* L.) reared under different temperature conditions. *Fisheries Research* 93, 257–264. doi:10.1016/j.fishres.2008.04.012
- Aldanondo, N., Cotano, U., Goikoetxea, N., Boyra, G., Ibaibarriaga, L., Irigoien, X., 2016. Interannual differences in growth and hatch-date distributions of early juvenile European anchovy in the Bay of Biscay: implications for recruitment. *Fisheries Oceanography* 25, 147–163. doi:10.1111/fog.12142
- Aldanondo, N., Cotano, U., Tiepolo, M., Boyra, G., Irigoien, X., 2010. Growth and movement patterns of early juvenile European anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.) in the Bay of Biscay based on otolith microstructure and chemistry: Growth and movement of juvenile European anchovy. *Fisheries Oceanography* 19, 196–208. doi:10.1111/j.1365-2419.2010.00537.x
- Allain, G., Petitgas, P., Grellier, P., Lazure, P., 2003. The selection process from larval to juvenile stages of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the Bay of Biscay investigated by Lagrangian simulations and comparative otolith growth. *Fisheries Oceanography* 12, 407–418.
- Bedford, B.C., 1983. A method for preparing sections of large numbers of otoliths embedded in black polyester resin. *Journal du Conseil* 41, 4–12.
- Begg, G.A., Campana, S.E., Fowler, A.J., Suthers, I.M., 2005. Otolith research and application: current directions in innovation and implementation. *Mar. Freshwater Res.* 56, 477–483.
- Boyra, G., Martinez, U., Cotano, U., Santos, M., Irigoien, X., Uriarte, A., 2013. Acoustic surveys for juvenile anchovy in the Bay of Biscay: abundance estimate as an indicator of the next year's recruitment and spatial distribution patterns. *ICES Journal of Marine Science* 70, 1354–1368. doi:10.1093/icesjms/fst096
- Brothers, E.B., Mathews, C.P., Lasker, R., 1976. Daily growth increments in otoliths from larval and adult fishes. *Fish. Bull* 74, 1–8.
- Campana, S.E., 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine ecology. Progress series* 188, 263–297.
- Cermeño, P., Morales-Nin, B., Uriarte, A., 2006. Juvenile European anchovy otolith microstructure. *Scientia Marina* 70, 553–557.
- Cermeño, P., Uriarte, A., De Murguía, A.M., Morales-Nin, B., 2003. Validation of daily increment formation in otoliths of juvenile and adult European anchovy. *Journal of Fish Biology* 62, 679–691.
- Cermeño, P., Uriarte, A., Morales-Nin, B., Cotano, U., Álvarez, P., 2008. Establecimiento de un criterio de interpretación para datar otolitos de juveniles de anchoa europea. *Scientia Marina* 72, 733–742. doi:10.3989/scimar.2008.72n4733
- Dougherty, A.B., 2008. Daily and sub-daily otolith increments of larval and juvenile walleye pollock, *Theragra chalcogramma* (Pallas), as validated by alizarin complexone experiments. *Fisheries Research* 90, 271–278. doi:10.1016/j.fishres.2007.10.021
- Homer, M.D., Peterson, J.T., Jennings, C.A., 2015. Evaluation of Three Aging Techniques and Back-Calculated Growth for Introduced Blue Catfish from Lake Oconee, Georgia. *Southeastern Naturalist* 14, 740–756. doi:10.1656/058.014.0417
- Huret, M., Petitgas, P., Woillez, M., 2010. Dispersal kernels and their drivers captured with a hydrodynamic model and spatial indices: A case study on anchovy (*Engraulis encrasicolus*) early life stages in the Bay of Biscay. *Progress in Oceanography* 87, 6–17. doi:10.1016/j.pocean.2010.09.023
- Irigoien, X., Fiksen, Ø., Cotano, U., Uriarte, A., Alvarez, P., Arrizabalaga, H., Boyra, G., Santos, M., Sagarminaga, Y., Otheguy, P., Etxebeste, E., Zarauz, L., Artetxe, I., Motos, L., 2007. Could Biscay Bay Anchovy recruit through a spatial loophole? *Progress in Oceanography* 74, 132–148. doi:10.1016/j.pocean.2007.04.011
- Jolivet, A., Bardeau, J.-F., Fablet, R., Paulet, Y.-M., de Pontual, H., Gillanders, B., 2013. How do the organic and mineral fractions drive the opacity of fish otoliths? Insights using Raman microspectrometry. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 70, 711–719. doi:10.1139/cjfas-2012-0298
- Mendiola, D., Álvarez, P., 2008. Validation of daily increments in the otolith microstructure of Northeast Atlantic mackerel fish larvae. *Fisheries Research* 89, 300–304. doi:10.1016/j.fishres.2007.10.018
- Nakaya, M., Morioka, T., Fukunaga, K., Sekiya, S., Jinbo, T., Nagashima, H., Ueno, Y., 2008. Validation of otolith daily increments for larval and juvenile Japanese halfbeak *Hyporhamphus sajori*. *Fisheries Research* 93, 186–189. doi:10.1016/j.fishres.2008.04.004
- Ospina-Alvarez, A., Catalán, I.A., Bernal, M., Roos, D., Palomera, I., 2015. From egg production to recruits: Connectivity and inter-annual variability in the recruitment patterns of European anchovy in the northwestern Mediterranean. *Progress in Oceanography* 138, 431–447. doi:10.1016/j.pocean.2015.01.011
- Panfili, Pontual H. (de), Troadec H., Wright P.J. (eds), 2002. *Manual of fish sclerochronology*. Brest, France: Ifremer-IRD coedition, 464 p.
- Petitgas, P., Alheit, J., Beare, D., Bernal, M., Casini, M., Clarke, M., Cotano, U., Dickey-Collas, M., Dransfeld, L., Harma, C., others, 2010. Life-cycle spatial patterns of small pelagic fish in the Northeast Atlantic. *International Council for the Exploration of the Sea*.
- Petitgas, P., Grellier, P., Duhamel, E., Masse, J., Doray, M., 2012. Variability and controls of otolith growth in the anchovy of the Bay of Biscay, in: *ICES Annual Science Conference*.