

Validation du rythme d'accrémentition des stries sur les otolithes de juvéniles de *Sicyopterus lagocephalus* – Première étude de la croissance eau douce et de l'âge de première maturation



HUE Thomas

**Stage effectué du 4 Mars 2013 au 18 Juin 2013 à
l'ARDA, B.P 16, Z.I Les sables, 97 427 Étang salé, La Réunion
sous la direction scientifique de Dr TEICHERT Nils & Mr LAGARDE Raphael**

**«LE PRESENT RAPPORT CONSTITUE UN EXERCICE PEDAGOGIQUE QUI NE PEUT
EN AUCUN CAS ENGAGER LA RESPONSABILITE DE L'ENTREPRISE OU DU
LABORATOIRE D'ACCUEIL»**

REMERCIEMENTS

Suite à ces 3 mois et demi de stage passés au sein du Centre des Eaux Douces de l'Association Réunionnaise pour le Développement de l'Aquaculture (ARDA), je tiens à remercier :

Pierre Bosc, directeur de l'ARDA, pour sa confiance et pour m'avoir accueilli au sein de la structure,

Nils Teichert, post-doctorant, chargé de Recherche ARDA et tuteur de stage, pour sa disponibilité et pour toute l'aide qu'il m'a apporté durant ce stage, tant théorique que pratique. Il aura partagé sa bonne humeur et ses connaissances durant toute la durée de ce stage.

Toute l'équipe de l'ARDA pour la bonne humeur générale durant ces quelques mois, leurs accueil chaleureux, et plus particulièrement :

Henry Grondin, technicien supérieur hydrobiologiste, pour avoir été toujours disponible pour répondre à mes questions, ainsi que pour son savoir-faire qu'il aura partagé avec moi durant ce stage,

Raphael Lagarde, chargé d'études écologie des milieux aquatiques, pour sa bonne humeur, son sens de l'humour, mais aussi pour m'avoir emmené sur le terrain plusieurs fois,

Pierre Lebrun, stagiaire M2 (Université de La Guadeloupe) pour m'avoir beaucoup aidé tout au long du stage sur les diverses manipulations, mais aussi pour sa bonne humeur et son sens de l'humour.

Et bien d'autres encore, **Lyne Payet**, **Dominique Hoarau**, ...

Enfin, je souhaite remercier toute l'équipe pédagogique de l'UPPA, pôle scientifique Montauray à Anglet (64600), pour m'avoir apporté toutes ces connaissances durant ces années de licence. Je tiens à remercier particulièrement **Jean-Claude Salvado** et **Matthias Vignon**, pour leur patience et leur sens de l'humour.

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Présentation de la structure d'accueil

Rapport de stage :

I) Introduction	p. 1
I.1) Contexte géographique de l'étude	p. 1
I.2) Peuplement piscicole de l'île	
I.3) Intérêt de l'étude	p. 2
 II) Matériel & Méthodes	 p. 3
II.1) Capture des post-larves et élevage en conditions expérimentales	p. 3
II.2) Traitement des otolithes	p. 4
II.3) Lecture des otolithes	p. 6
II.4) Détermination de l'âge de première reproduction	p. 7
II.5) Analyses statistiques	p. 8
 III) Résultats	 p. 10
III.1) Croissance et effet des marquages	p. 10
III.2) Validation du rythme de dépôt des stries	p. 10
III.3) Validation des méthodes de lecture	p. 11
III.4) Estimation de l'âge de première reproduction	p. 11
 IV) Discussions	 p. 12
IV.1) Croissance	p. 12
IV.2) Validation	p. 12
IV.3) Estimation de l'âge de première reproduction	p. 13
 V) Conclusion	 p. 15
 VI) Bibliographie	 p. 16

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Localisation de l'île de la Réunion (Géoportail, modifié)

Figure 2 : Carte schématique de la côte au vent et de la côte sous le vent de l'île de La Réunion (Géoportail, modifié)

Figure 3 : Carte du réseau hydrographique de la réunion (ARDA, modifié)

Figure 4 : Description des différentes formes de diadromie d'après McDowall 1997 (dans Teichert 2012)

Figure 5 : Photographie d'un mâle (gauche) et d'une femelle (droite) de l'espèce *Sicyopterus lagocephalus* (ARDA)

Figure 6 : Photographie d'une scène de pêche électrique à la Réunion (ARDA)

Figure 7 : Photographie de la pièce contenant les 4 fluvariums à l'ARDA (© Hue)

Figure 8 : Photographie du matériel utilisé pour les biométries (© Hue)

Figure 9 : Schéma de localisation des otolithes dans l'oreille interne du poisson (Secor et al. 1991)

Figure 10 : Photographie d'un otolithe de *Sicyopterus lagocephalus* post-recruté observé sous microscope optique (x400)

Figure 11 : Schéma explicatif de l'extraction des otolithes (Hoarau 2012)

Figure 12 : Photographie d'un otolithe de *Sicyopterus lagocephalus* post-recruté dont les stries marquées à l'ARS sont révélées par épifluorescence (© Hue)

Figure 13 : Photographie de la zone de l'otolithe où les marquages sont visibles. Les points bleus correspondent au dénombrement des stries (© Hue)

Figure 14 : Histogramme du nombre de poissons prélevés par fluvarium pour les différentes dates de biométries. (Format date: jj/mm/aa)

Figure 15 : Boxplot du suivi a) de la taille b) du poids c) de l'indice K en fonction des dates des biométries pour les poissons capturés à l'embouchure de la rivière du Mât (Nord-est de l'Île de La Réunion) le 12/12/12 et élevés en fluvarium

Figure 16 : Schéma de l'incrémentation des stries sur l'otolithe et zones de dénombrement de la vie larvaire et de la vie post-recrutement ainsi que la position des différents marquages (© Hue)

Figure 17 : Pourcentages cumulés croissants (PCC) des poissons matures et pourcentages cumulés décroissants (PCD) des poissons immatures en fonction de leurs tailles

Figure 18 : Pourcentages cumulés croissants (PCC) des poissons matures et pourcentages cumulés décroissants (PCD) des poissons immatures en fonction de leur âge total

Figure 19 : Pourcentages cumulés croissants (PCC) des poissons matures et pourcentages cumulés décroissants (PCD) des poissons immatures en fonction de leur âge post-recrutement, ou durée de vie en rivière

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des différents paramètres concernant les marquages à l'Alizarine RED S effectués sur les juvéniles de *Sicyopterus lagocephalus*

Tableau 2 : Résultat de l'analyse de variance visant à tester l'effet des différentes dates, l'effet des différents fluvariums sur l'indice K et l'effet de l'interaction des dates et des fluvariums sur l'indice K de condition de Fulton

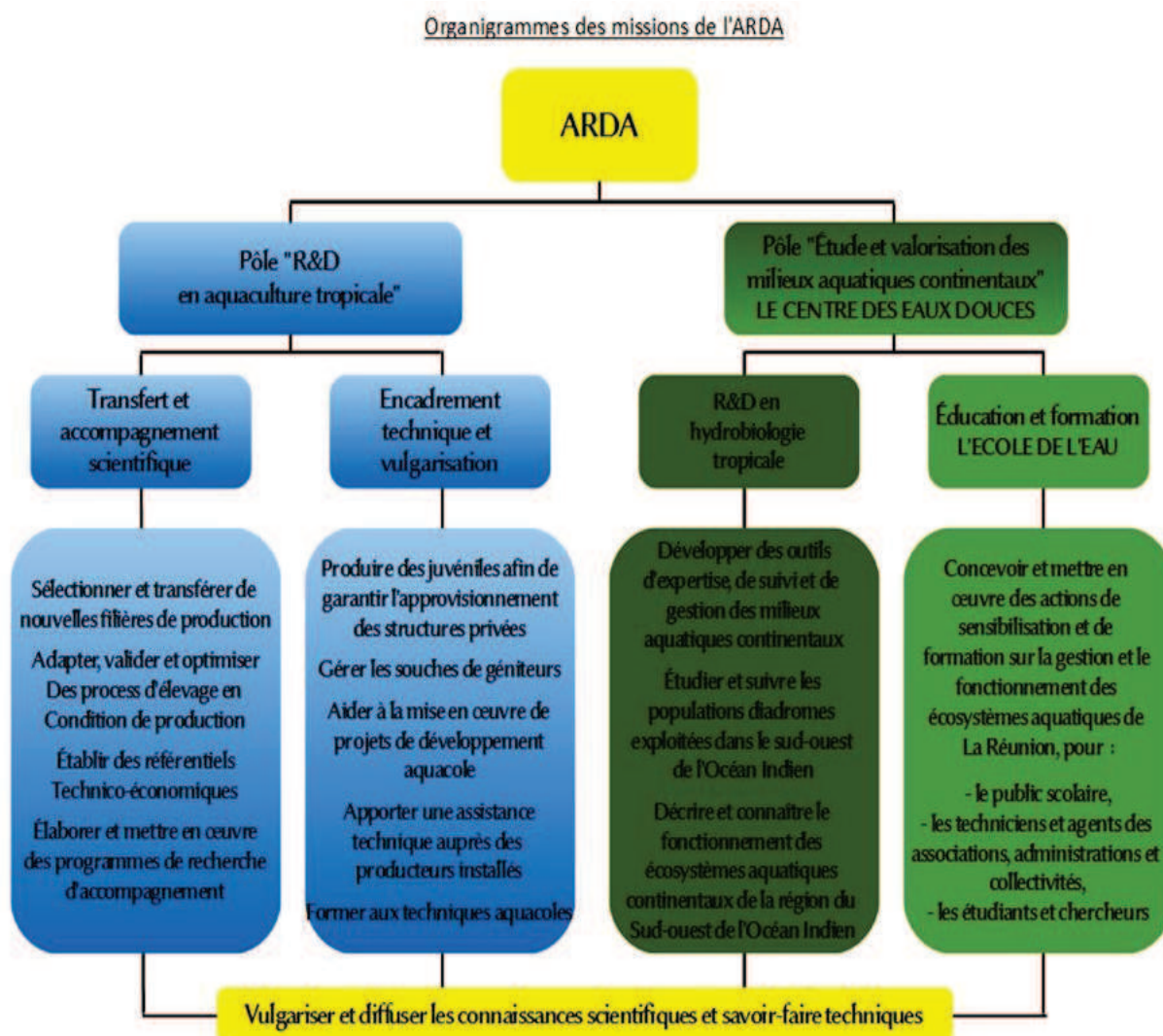
Tableau 3 : Tableau récapitulatif des marquages. Le tableau présente l'identifiant des poissons marqués, le nombre de marquages qu'ils ont reçu et l'espacement temporel de ces marquages. Les zones de dénombrements sont données, avec le nombre de stries comptées

Tableau 4 : Tableau récapitulatif des caractéristiques statistiques de la série de données (taille de l'échantillon, minimum, maximum, variance, écart type et écart moyen)

PRESENTATION DE LA STRUCTURE D'ACCUEIL

L'Association Réunionnaise pour le Développement de l'Aquaculture (ARDA), association de type loi 1901, a été créée à l'initiative du Conseil Régional de La Réunion en 1991. Cet organisme dirigé par M. Pierre Bosc, a pour principale mission de valoriser le développement des activités aquacoles de l'île et de valoriser les ressources aquatiques.

Dès sa constitution, l'ARDA s'est vue confier la gestion du Centre Régional d'Application Aquacole de l'Etang-salé qui regroupe le secteur professionnel et le domaine de la recherche. Puis, en réponse à une sollicitation des acteurs locaux, l'ARDA a diversifié ses activités de Recherche & Développement (R&D) en créant un nouveau pôle de compétences en 1995, le Centre des Eaux douces, consacré à l'étude et à la valorisation des milieux aquatiques continentaux.



I) INTRODUCTION

I.1) Contexte géographique de l'étude

L'île de La Réunion est située dans le sud-ouest de l'océan indien (21°5 de latitude sud et 55°29 de longitude est), à 700 km à l'est de Madagascar (figure 1). Elle fait partie de l'archipel des Mascareignes, avec les îles Maurice et Rodrigues, et couvre une superficie de 2512 kilomètres carrés. C'est une île d'origine volcanique relativement jeune, puisqu'elle a émergé il y a deux millions d'années. La Réunion est la partie émergée d'un volcan haut de 7000 mètres, formé de 2 cônes basaltiques jumelés. Le plus ancien est le Piton des neiges qui culmine à 3069 mètres au-dessus de la mer et qui est désormais éteint. Le Piton de la fournaise, dont le sommet est à 2631 mètres, est toujours en activité et c'est un des volcans les plus actifs au monde. L'île possède un climat voisin du climat tropical océanique austral avec un été austral chaud et humide, de décembre à avril et un hiver austral frais et sec, de mai à novembre. Le caractère insulaire de La Réunion, l'influence des alizés soufflant une bonne partie de l'année ainsi que le relief de l'île contribuent à maintenir une température élevée. L'île se découpe en trois zones (figure 2) : la cote «au vent» située à l'est, où il fait chaud (17 à 22°C en juillet, 22 à 27°C en janvier) et humide (2 à 4m de précipitations annuelles), la cote «sous le vent», à l'ouest, est plus sèche et possède très peu de cours d'eau pérennes (pluviométrie annuelle inférieure à 2m). Enfin, dans les parties hautes de l'île, dites «les hauts», règne une température plus basse (10 à 15°C en juillet, 15 à 20°C en janvier) et des précipitations qui peuvent être élevées (jusqu'à 8-9m/an pour les zones les plus soumises aux pluies, comme Takamaka) .

La répartition spatio-temporelle des pluies est contrastée et conditionne en grande partie le régime des cours d'eau de la région. Il y a donc d'importantes variations de débits au cours de l'année. Parmi les 750 rivières et ravines de l'île, seulement 13 d'entre elles sont pérennes (figure 3), les autres ne présentent que des écoulements périodiques liés aux épisodes cycloniques durant l'été austral (Keith et al. 1999). Ces conditions particulières ainsi que la topographie des lieux vont avoir une influence sur le peuplement des cours d'eau douce : les poissons présents sont caractéristiques des milieux instables et imprévisibles, ce sont des poissons diadromes qui passent une partie de leur vie en mer et l'autre en rivière.

I.2) Peuplement piscicole de l'île

I.2.1) Espèces présentes à La Réunion

Il y a 11 familles de poissons présentes dans les rivières de La Réunion (Keith et al. 2006). Parmi elles, on retrouve des espèces introduites et des espèces indigènes qui ne sont pas totalement affranchies du milieu marin. Parmi ces espèces euryhalines, les gobies sont les plus représentés (Keith 2003). En effet, les Gobiidae sont représentés par 5 espèces à La Réunion. Cette famille est caractérisée par une ventouse ventrale née de la fusion des nageoires pectorales, ce qui permet aux poissons de franchir la plupart des obstacles anthropiques et naturels rencontrés sur les rivières. Les espèces qui migrent entre les milieux marin et dulçaquicole au cours de leur vie sont appelées diadromes. Ces dernières composent majoritairement le peuplement piscicole de la Réunion (Keith 2006).

I.2.2) Diadromie

La diadromie est un cycle de vie migrateur : les poissons migrent entre le milieu marin et dulçaquicole durant leur cycle de vie (McDowall 1988). Ces migrations sont essentielles aux larves et aux juvéniles pour leur permettre d'atteindre leur maturité sexuelle et de se reproduire. Il semble que cette capacité ancestrale à changer de milieu contribue à favoriser la colonisation des milieux insulaires (McDowall 1988). Il existe plusieurs types de diadromie, définis par Myers (1949) : la catadromie, l'amphidromie, et l'anadromie (figure 4). L'amphidromie et la catadromie sont les cycles les plus répandus chez les espèces peuplant les îles océaniques tropicales et subtropicales, comme La Réunion (McDowall, 1992). La catadromie est un cycle caractérisé par une reproduction en milieu marin et une phase de croissance en eau douce : les anguilles sont un exemple d'espèce catadrome à La Réunion. A l'inverse, l'amphidromie correspond aux poissons qui subissent une dispersion en mer, puis une phase de croissance marine avant de remonter en rivière pour poursuivre leur croissance et se reproduire : chez ce type de poisson, les adultes passent toute leur vie en eau douce, ou ils se reproduisent. Les femelles pondent en rivière. A l'éclosion, les larves sont entraînées par le courant vers l'océan : c'est l'étape de la dévalaison. Vient ensuite une période de vie marine où les individus se développent jusqu'au stade de post-larve : cette période est de durée variable. Enfin, le recrutement en rivière désigne le moment où les post-larve repassent en eau douce et vont remonter le cours d'eau pour poursuivre leur développement. La présente étude portera sur une espèce amphidrome, *Sicyopterus lagocephalus* (Pallas 1770).

I.2.3) *Sicyopterus lagocephalus*

Sicyopterus lagocephalus, plus communément appelé «cabot bouche-ronde», est un gobie de la région Indo-pacifique, de la famille des Sicydiinae. Cette espèce partage son nom vernaculaire avec un autre gobie endémique des Mascareignes : *Cotylopus acutipinis*. C'est une espèce lithophile et rhéophile au stade adulte. Elle vit dans un environnement rocheux, dans des eaux plus ou moins profondes (20 à 40 cm). De plus, elle peut évoluer dans des eaux avec beaucoup de courant (130 à 160 cm/s) (Keith et al. 1999). Ce poisson racle le périphyton (diatomées et autres algues ainsi que diverses bactéries) sur les rochers pour se nourrir. Leur ventouse leur permet de se fixer sur les gros galets ou les rochers, leur conférant ainsi une très bonne capacité de franchissement. Le poisson adulte a une taille comprise entre 4,5 et 13 centimètres. Le mâle en période de reproduction possède des reflets bleus sur les flancs et la nageoire caudale rouge, alors que la femelle est terne, rayée de couleur brune (figure 5).

I.3) Intérêt de l'étude

Les post-larves de ces deux espèces sont appelées «bichiques», produit festif et très apprécié mais aussi coûteux (environ 40euros/Kg). Ceux-ci sont beaucoup pêchés aux embouchures des rivières lors du recrutement, principalement lors des quelques jours précédant une nouvelle lune. A terme, cette pêche intensive pourrait avoir des conséquences néfastes sur le stock d'adultes, et donc faire peser une menace sur ces espèces. De plus, des lacunes subsistent sur la connaissance de l'espèce, tant sur le plan biologique, le cycle de vie, ou encore le stock d'individus. L'association Réunionnaise pour le Développement de l'Aquaculture (ARDA) et plus particulièrement le Centre des Eaux Douces étudie ces poissons. Le but ici est d'estimer l'âge à partir duquel les poissons peuvent se reproduire à l'aide de la méthode de l'otolithométrie. Pour cela, il sera d'abord nécessaire de valider le rythme de dépôt des stries sur les otolithes des juvéniles. Il sera ensuite possible d'estimer l'âge des poissons échantillonnés, et connaissant leur stade de maturation sexuelle, il sera possible de recouper les informations pour estimer un âge de première reproduction. Certaines informations sont déjà connues, ou en partie, mais il s'agit désormais d'avoir une estimation précise de l'âge de première maturité sexuelle, afin d'augmenter les connaissances sur cette espèce dont le poids socio-économique est très important à La Réunion.

II) MATERIEL & METHODES

II.1) Capture des post-larves et élevage en conditions expérimentales

II.1.1) Capture par pêche électrique

Deux jeux de données ont été utilisés au cours de cette étude : un premier échantillonnage pour valider le rythme de dépôt de stries sur les otolithes et un second pour définir l'âge de première reproduction. Les poissons utiles à la validation ont été capturés le 12/12/12 dans la rivière du Mât située dans le nord-est de l'île. Pour cela, la méthode de pêche électrique a été utilisée à l'aide d'un appareil portatif autonome de type Hans Grassel IG200/2D. Deux électrodes (une anode et une cathode) sont placées dans l'eau par un premier pêcheur ce qui crée un champ électrique. Ce champ électrique va perturber le système nerveux du poisson qui se retrouve comme paralysé. Avec le courant, le poisson dérive, puis il est capturé à l'aide d'épuisettes tenues par les autres pêcheurs, en aval. La pêche se déroule donc avec quatre personnes : une qui utilise l'appareil de pêche et les trois autres qui ferment la zone avec les épuisettes, de sorte à ce que tout poisson qui se trouve dans la zone en question passe dans l'épuisette. La prospection d'une zone de pêche est réalisée de l'aval vers l'amont afin de ne pas piétiner la zone pêchée en suivant (figure 6). Cette pêche a eu lieu à l'embouchure, à la limite de salure des eaux. Les individus capturés sont des post-larves qui viennent juste de commencer leurs remontées en rivière. La taille totale de l'échantillon utilisé pour la validation est de 240 individus. Les poissons échantillonnés dans le but de valider le rythme de dépôt sont mis en élevage en fluvarium.

Dans un second temps vient l'échantillonnage utile à la seconde partie de l'étude : l'estimation de l'âge de première maturité sexuelle. Cet échantillonnage a été réalisé par pêche électrique, à la rivière des Marsouins à 2,2 kilomètres de l'embouchure. Ces échantillons ont été collectés initialement pour les besoins de la thèse de Teichert (2012) tout au long de l'année 2011. Les poissons utiles à l'estimation de l'âge de première reproduction ont été mortellement anesthésiés et conservés dans de l'alcool à 95°.

II.1.2) Élevage en fluvarium

Il faut garder les poissons en vie pour pouvoir marquer les otolithes à différentes dates, ce qui est nécessaire pour la validation du rythme de dépôt des stries. Les individus sont donc relâchés dans 4 fluvariums. Au début de la manipulation, il y a 60 poissons par fluvarium. Le but est de recréer artificiellement le milieu naturel des poissons. Ils sont placés dans 4 bacs contenant environ 1 mètre cube d'eau douce (250x60x50cm) dans une pièce dont la température est maintenue constante à 25°C +/- 1°C (figure 7). Les 4 bacs sont montés en parallèle, avec un bac tampon et une pompe d'une puissance d'environ 12 mètres cubes/heure. Environ 20% du volume d'eau est renouvelé tout les deux jours, le reste est évacué par un délestage.

A coter de cette première pièce, une seconde pièce dont la température oscille entre 30 et 35°C sert à la production du periphyton. Le periphyton est un mélange fait de micro-algues et de diverses bactéries dont les poissons se nourrissent. Des galetsensemencés de periphyton sont prélevés en rivière puis ils sont placés dans cette pièce, dans des bacs similaires à ceux décrits précédemment. Des carreaux de carrelage (45x30cm) sont ajoutés dans les bacs. Le periphyton se développe sur ces carreaux grâce à la température élevée de la pièce et à un éclairage continu. Ces mêmes carreaux sont ensuite placés dans les fluvariums contenant les poissons afin de les nourrir, et le niveau de broutage est suivi : les carreaux sont régulièrement vérifiés pour savoir si les poissons se nourrissent bien. En fonction du degré de broutage des carreaux, un ou deux nouveaux carreaux sont ajoutés, tous les 2 à 4 jours.

La première salle où les poissons sont présents est soumise à un éclairage 12h par jour, alors que la seconde, utile à la culture du périphyton est éclairée en permanence. L'éclairage est fait à l'aide de deux néons de 38 watts placés au dessus de chaque bac.

II.1.3) Biométrie des individus

Tous les mois, une biométrie est effectuée sur les individus des fluvariums pour analyser leur croissance et pour savoir si ce milieu artificiel répond bien aux attentes, correspondant ici à la croissance des poissons. Une sélection est faite aléatoirement pour les biométries. A chaque fois, 30 poissons sont prélevés au hasard dans chaque bac (qui en contiennent initialement 60). Plus tard dans la manipulation, le nombre de poissons mesurés à chaque biométrie diminue à 20 car il y a moins de poissons disponibles au total. Ceci permet de ne pas cibler les poissons qui sont mesurés de sorte à ce que le tirage soit vraiment aléatoire, pour avoir une vision objective de l'évolution de chaque cohorte. Les poissons sont capturés, puis anesthésiés dans des sceaux d'eau contenant une solution diluée d'eugénol ce qui facilite les mesures des variables biométriques. Ils sont ensuite mesurés (longueur totale +/- 1mm)(figure 8) et pesés (poids +/- 0,001g), puis réveillés dans un sceau d'eau claire et relâchés dans les fluvariums. Un indice est utilisé pour analyser la croissance des poissons : l'indice de condition de Fulton, K. Cet indice révèle l'état physiologique des poissons d'une même espèce. Il se calcule en divisant le poids d'un poisson par sa longueur au cube. Ainsi, plus un poisson est lourd pour une longueur donnée, plus son indice de condition est élevé. Ce coefficient est utilisé pour les calculs et interprétations des statistiques biologiques des populations de poissons.

$$\text{Indice de condition de Fulton : } K = \frac{\text{Poids}}{\text{Longueur}^3}$$

Le poids est mesuré en grammes (g) et la longueur en millimètres (mm)

De plus, des poissons sont régulièrement prélevés, anesthésiés mortellement puis conservés dans de l'alcool à 95°. Ceci a pour but de limiter la densité dans les fluvariums et d'extraire leurs otolithes, utiles à la validation.

II.2) Traitement des otolithes

II.2.1) Otolithométrie

L'otolithométrie est une discipline qui permet, entre autre, l'estimation de l'âge des Téléostéens par l'analyse d'otolithes (Stevenson & Campana 1992). D'après son étymologie grecque, le mot otolithe vient d'*oto*, l'oreille et *lithos*, la pierre. C'est en effet une pièce calcifiée de l'oreille interne des vertébrés. Formé d'une concrétion de carbonate de calcium CaCO_3 et métaboliquement inerte, l'otolithe participe à l'équilibre tridimensionnel du poisson ainsi qu'à son audition (Lecomte-Finiger 1999). Elle est de forme oblongue, enrobée dans une gangue gélatineuse. Il existe trois paires d'otolithes, les *asterici* (les plus petits), les *lapilli* et les *sagittae*. Dans le cadre d'études ichtyologiques, les *sagittae* sont préférentiellement utilisés car ce sont les plus gros et donc les plus pratiques à manipuler (figure 9). Ces pièces calcifiées ont une croissance continue tout au long de la vie de l'individu. Cette croissance se fait à partir du nucléus (ou primordium), présent dès l'éclosion de la larve (Lecomte-Finiger 1999). Elles sont composées d'accumulations successives de différents composés chimiques sur toute leur surface, formant des couches concentriques d'épaisseur variable. Ces anneaux sont alternativement clairs («L-zone») et sombres («D-zone»). Ils sont observables au microscope à lumière transmise (Wright et al 2002a). Le rythme de dépôt peut être annuel, saisonnier ou même journalier et il est susceptible de varier selon les stades de développement (Wright et al 2002a).

De plus, il faut savoir que le profil d'accrétion des stries autour de l'otolithe est susceptible de se modifier (Shen & Tzeng 2002). Les otolithes sont aussi considérés comme la «boîte noire» des poissons, car leur analyse peut révéler beaucoup d'éléments sur la vie et la biologie de l'individu. Plusieurs paramètres sont enregistrés durant la vie du poisson : la composition de l'eau, la croissance ou encore la métamorphose (Ah Yane et al 2006). En effet, lorsqu'un poisson migrateur diadrome recrute en rivière, une marque associée au changement de milieu se dépose sur l'otolithe. Cette transition est associée à des changements morphologiques, mais surtout métaboliques, qui permettent aux poissons de poursuivre leur développement en eau douce : c'est la métamorphose. Cette étape laisse une marque, une bande, ou les stries sont très resserrées (Shen & Tzeng 2002, Lord et al. 2009)(figure 10), comme si toute l'énergie du poisson était utilisée pour ces changements et non plus pour sa croissance. Cette marque permet de distinguer la phase de croissance marine de la phase de vie en rivière. Le dénombrement est le fait de compter les stries de l'otolithe. Après validation du rythme d'accrétion, le dénombrement permet d'estimer l'âge d'un poisson. Le rythme de dépôt étant déjà validé comme journalier pour la phase larvaire de *S. lagocephalus* (Hoareau et al. 2007, Lord et al. 2009), il est désormais nécessaire de le valider pour la vie post-recrutement.

II.2.2) Marquages à l'aide d'un fluoromarqueur : l'Alizarine RED S

Le marquage est une méthode de validation directe qui permet de connaître le rythme de dépôt des stries sur l'otolithe. Une fois celui-ci connu, le dénombrement de ces stries permet d'estimer l'âge d'un poisson à partir d'une pièce calcifiée (Morales-Nin et Panfili 2002a). L'objectif est de marquer les individus à plusieurs dates à l'aide d'un fluoromarqueur. Il est ensuite possible de valider le rythme de dépôt des stries une fois que les stries marquées sont révélées. Les poissons sont marqués plusieurs fois à différentes dates (Tableau 1). La méthode de balnéation est employée pour le marquage, c'est à dire que les individus sont simplement plongés dans la solution en question dans laquelle ils sont laissés un temps compris entre 16 et 19 heures (Tableau 1). Cette méthode est particulièrement utile pour les jeunes poissons auxquels il est impossible de faire des injections (Wright et al. 2002b). Les poissons sont marqués dans 3 litres d'eau contenant de l'Alizarine Red S à une concentration de 100mg/L. L'Alizarine RED S est un marqueur fluorescent dont la longueur d'onde d'excitation est environ de 556 nanomètres et la lumière d'excitation est le vert. Le marquage colore la strie correspondante au jour du marquage, qui est ensuite révélée par épifluorescence.

II.2.3) Extraction des otolithes

Chez *S.lagocephalus*, les otolithes se trouvent dans des capsules otiques situées de part et d'autre du cerveau du poisson (Hoareau 2005, Lord 2009). Pour les extraire, il faut d'abord réaliser une coupe transversale partielle du haut vers le bas au niveau de l'extrémité de la ride qui prolonge l'opercule (figure 11). Ensuite, la tête du poisson est rabattue contre son ventre, et les otolithes sont récupérés à l'aide de pinces fines de chaque côté de son cerveau, sous loupe binoculaire (OLYMPUS® SZ-ILLK200). Les otolithes sont ensuite nettoyés à l'alcool et conservés dans des tubes Ependorf® (0,5mL) numérotés.

II.2.4) Préparation des otolithes

Au cours de cette étude, deux types de préparation sont réalisés afin de permettre la lecture des otolithes.

II.2.4.a) Ponçage des otolithes

Tout d'abord, l'otolithe est collé sur sa face convexe sur une lame. Ceci est fait à l'aide d'une résine thermolabile type Crystalbond®, sous une loupe binoculaire. Une plaque chauffante est nécessaire pour cette étape.

Ensuite, l'otolithe est poncé sur des disques de ponçage, dans un centimètre d'eau et en formant un huit : ceci est nécessaire pour éviter des marques de ponçage trop franches qui nuiraient à la lecture des otolithes. Il existe différents disques de ponçage, à différents grains : le ponçage débute sur un disque d'un grain p1200 (correspondant à 9 micromètres), puis il faut ensuite basculer sur un disque d'un moindre grain, p800 (correspondant à 3 micromètres) pour affiner le ponçage.

La première face est poncée, jusqu'au nucléus, puis on retourne l'otolithe. Pour cela, la lame est posée sur la plaque chauffante et sous la loupe, on pousse la colle près de l'otolithe, ce qui aide à la retourner en la touchant le moins possible, car elle est désormais encore plus fine, donc plus fragile. Il faut ensuite poncer la seconde face de l'otolithe jusqu'au nucléus une fois de plus. L'otolithe sera donc utilisé sur son plan sagittal.

II.2.4.b) Observation directe (avec une goutte d'huile)

Hoareau (2005) a démontré la possibilité d'observer les stries d'accroissement sur des otolithes entiers de Sicydiinae en ajoutant une goutte d'huile à immersion lors de l'observation au microscope. Cette méthode rapide permet de limiter les dommages causés aux otolithes lors des manipulations de ponçage (Hoareau 2005). Les otolithes sont simplement déposés sur une lame avec une gouttelette d'huile à immersion puis observés au microscope.

Au cours de l'étude, des comptages sont réalisés avec et sans ponçage, puis les résultats sont comparés. Le but est de savoir s'il est possible d'utiliser uniquement la méthode de lecture sans ponçage, qui offre un gain de temps considérable.

II.3) Lecture des otolithes

II.3.1) Photographie et traitement d'image

Nous avons considéré que le nombre de stries est similaire pour les otolithes droit et gauche d'un même individu, donc un seul otolithe est examiné par individu (aléatoirement droit ou gauche). Les observations sont faites sous microscope à lumière transmise (OLYMPUS® CX41RF) au grossissement x400. Le microscope est équipé d'un appareil photographique numérique (OLYMPUS® E-5). Lors des observations, des photographies sont prises en faisant légèrement varier le point focal afin de révéler clairement les stries d'accroissement sur toutes les zones de l'otolithe, du primordium jusqu'au bord de l'otolithe. Les photographies les plus nettes sont ensuite traitées et combinées afin d'obtenir une image continue de l'ensemble de l'otolithe. Ces traitements sont faits à l'aide du logiciel Gimp 2.6.11© : il faut tout d'abord ajuster le contraste et la luminosité afin de faciliter l'observation des stries, puis combiner les différentes photos d'un même otolithe afin d'obtenir une image de l'otolithe en entier.

II.3.2) Révélation par épifluorescence

Les marques précédemment réalisées sur les otolithes sont révélées par épifluorescence. Les marqueurs fluorescents ont la capacité d'émettre une lumière fluorescente lorsqu'ils sont soumis à une longueur d'onde particulière. Lors des observations sous microscope, une lampe UV (Olympus U-RFLT50) est utilisée, qui envoie des rayons à travers la lame observée.

Les observations sont donc faites en tirant profit du phénomène de fluorescence en plus du phénomène de réflexion propre aux microscopes. De cette façon, les stries marquées apparaissent en rouge et peuvent ainsi être photographiées (figure 12).

II.3.3) Comptage des stries

Le comptage des stries est réalisé à l'aide du logiciel ImageJ 1.42q software (National Institute of Health, USA)(figure 13). Le nombre de stries d'accroissement est dénombré manuellement, assisté par le plugin Object J, afin de connaître l'âge des poissons en question.

Deux méthodes de comptage sont utilisées ici :

- Premièrement, pour la partie de validation, les stries sont comptées entre les marques fluorescentes précédemment réalisées. Le but est de comparer par la suite le nombre de stries séparant deux marques au nombre de jours séparant les marquages. Si ces valeurs correspondent sur une quantité suffisante d'échantillon, la validation du rythme journalier sera faite pour les poissons post-recrutement.

- Dans un second temps, les stries sont comptées du primordium jusqu'à bord de l'otolithe. En effet, pour la partie visant à estimer l'âge de première maturation sexuelle, il est nécessaire de connaître l'âge total du poisson. Cet âge est subdivisé en deux parties, la vie marine (développement larvaire) et la vie en rivière, séparées par la marque de métamorphose. Le comptage a donc lieu en deux étapes : d'abord du nucleus jusqu'au début de la marque de métamorphose pour la vie marine, puis du début de cette marque jusqu'au bord de l'otolithe pour la vie en rivière. La lecture est réalisée sur les zones où la distance entre les stries est la plus grande. Compter les stries suivant le même axe permet de minimiser les erreurs dues à la lecture.

Puis des tests sont réalisés pour confirmer la possibilité de lire les otolithes sans ponçage. Les valeurs des comptages avec et sans ponçage sont comparées à l'aide d'indices utiles à la vérification des comptages : le pourcentage moyen d'erreur (PME) et le coefficient de variation (CV) (Morales-Nin et Panfili 2002b).

II.4) Détermination de l'âge de première reproduction

II.4.1) Choix des échantillons

Les poissons utilisés ici sont ceux de la période de pleine reproduction (Février/Mars) et plus particulièrement les immatures et les plus petits des matures. Le choix se porte sur ces individus car le but est d'estimer l'âge de première maturité sexuelle, donc la limite entre les poissons immatures et matures. Une limite de taille est fixée (longueur totale inférieure à 60 millimètres) au-delà de laquelle le comptage de toutes les stries journalières devient difficile. En effet, plus la vie du poisson est longue et plus les stries au bord de l'otolithe sont resserrées et donc difficilement comptables. Le stade de maturité sexuelle de tous les individus est connu, grâce aux coupes gonadiques précédemment réalisées par Teichert (2012). Il est donc possible de connaître quels individus sont immatures, en développement, capables de se reproduire, ou s'étant déjà reproduit. Pour les besoins de l'étude présente, deux catégories sont distinguées : les immatures, et les matures qui regroupent les trois dernières catégories énoncées ci-dessus.

II.4.2) Estimation de l'âge de première reproduction

Afin de connaître l'âge de première reproduction, différents graphiques sont faits à l'aide d'un tableur (LibreOffice Calc.Ink). Tout d'abord, l'âge est analysé grâce aux effectifs cumulés croissants et décroissants en fonction de la taille des poissons, puis de leur durée de vie : d'abord la durée de vie totale, puis la durée de vie en rivière seulement. A l'aide de ces graphiques, l'âge de première maturité sexuelle peut être estimé le plus précisément possible.

Il faut pour cela trouver le moment où les poissons matures apparaissent et où les poissons immatures disparaissent. Sur les graphiques, cela correspond à la classe (de taille, ou d'âge) où les effectifs se croisent.

II.5) Analyses statistiques

Différentes analyses statistiques sont faites durant cette étude :

Concernant les poissons utilisés pour la validation de dépôt journalier des stries d'une part, le logiciel R (R 2.13.1) est utilisé pour tester si les marquages répétés ont un effet sur l'indice K des poissons.

Pour cela, une ANOVA est réalisée pour tester l'effet des différentes dates sur la croissance des poissons, ainsi que l'effet des différents fluvariums et enfin les deux combinés. Puis une analyse Quantile-Quantile est faite sur les résidus afin de vérifier qu'ils suivent bien une distribution normale.

Ensuite, les caractéristiques des poissons des fluvariums sont analysées sous forme de boxplot afin d'examiner la croissance des individus. Puis à l'aide d'un tableur (LibreOffice Calc.Ink), des tests sont réalisés pour confirmer la possibilité de lire les otolithes sans ponçage. Les valeurs des comptages avec et sans ponçage sont comparées à l'aide d'indices utiles à la vérification des comptages : le pourcentage moyen d'erreur (PME) et le coefficient de variation (CV) (Morales-Nin et Panfili 2002b).

$$\text{Pourcentage Moyen d'Erreur : PME} = 100\% * \frac{1}{R} \sum_{i=1}^R \frac{X_{ij} - X_J}{X_J}$$

où X_{ij} est la $i^{\text{ème}}$ estimation du $J^{\text{ème}}$ poisson, X_J est l'âge moyen du $J^{\text{ème}}$ poisson et R le nombre de fois que l'on donne un âge à chaque poisson

$$\text{Coefficient de Variation : CV} = 100\% * \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^R (X_{ij} - X_J)^2}{R-1}}}{X_J}$$

où X_{ij} est la $i^{\text{ème}}$ estimation du $J^{\text{ème}}$ poisson, X_J est l'âge moyen du $J^{\text{ème}}$ poisson et R le nombre de fois que l'on donne un âge à chaque poisson

Enfin, une analyse comparative est faite entre les jours comptés entre chaque marquage et les dates séparant ces marquages afin de valider le rythme d'accrétion.

D'autre part, les poissons utilisés pour déterminer l'âge de première maturité sont analysés : tout d'abord, une analyse descriptive des jeux de données est effectuée à l'aide d'un tableur (LibreOffice Calc.Ink). Le but de cela est de connaître la répartition des données ainsi que les caractéristiques principales de celles-ci (moyenne, étendue, variance ... etc).

Moyenne :

$$X = \frac{X_1 + X_2 + \dots + X_n}{n}$$

où $X_{1,2,\dots,n}$ représente la donnée concernée pour l'échantillon 1, 2, ... n, et n représente le nombre total d'échantillon

Étendue = $X_{\max} - X_{\min}$

où $X_{\max}$ représente la valeur maximale et $X_{\min}$ représente la valeur minimale

Variance :

$$Var(X) = \frac{1}{N} \sum (X_i - X)^2$$

où n représente le nombre total d'individu, X_i la variable associée à chaque individu et X la moyenne de cette variable

Écart type : $EC = \sqrt{Variance}$

Enfin, des graphiques de fréquences cumulées croissantes et décroissantes sont faits, comme expliqué dans la partie précédente, afin d'estimer l'âge autour duquel les poissons deviennent sexuellement matures.

III) RESULTATS

III.1) Croissance et effet des marquages

Tous les mois (voir toutes les deux semaines), 30 individus sont prélevés aléatoirement dans chaque fluvarium pour être mesurés. Comme expliqué dans la partie matériel et méthodes, au cours de l'étude, des poissons sont prélevés et conservés dans l'alcool, et donc la biométrie se fait sur un nombre de poissons décroissant dans le temps (Figure 14). Leurs poids, tailles et indice de condition sont analysés. La taille, le poids ainsi que l'indice K augmente au cours du temps (Figure 15). La taille a une valeur médiane de 35 millimètres au 13/12/12 (début de manipulation), les moustaches du boxplot allant d'environ 32 millimètres à 36 millimètres. En fin de manipulation (12/03/13) la valeur médiane est de 37 millimètres avec des moustaches allant de 32 millimètres à 44 millimètres. De même, le poids a une valeur médiane de 0,29 gramme en début de manipulation variant de 0,24 gramme à 0,38 gramme. En fin de manipulation, la valeur médiane du poids est 0,38 gramme, allant de 0,24 gramme à 0,6 gramme. Enfin, l'indice K a une valeur médiane de 0,7 en début de manipulation, allant de 0,58 à 0,8. En fin de manipulation, la valeur médiane est 0,75, et l'indice K varie de 0,6 à 0,9 (Figure 15). Les valeurs ici ne sont pas les valeurs extrêmes mais les limites de la boîte à moustaches, correspondant aux effectifs contenus entre le premier et le troisième quartile.

Il est intéressant de savoir si le marquage a un effet sur la croissance des poissons (positif, ou négatif). Une ANOVA est faite à l'aide du logiciel R pour tester l'effet des différentes dates, puis des différents fluvariums et enfin l'interaction des deux, tout cela sur l'indice K (indice de condition de Fulton). L'indice K varie de façon significative entre les dates de prélèvement au seuil de 5% ($P = 2e-16 < 0,05$) (Tableau 2). En revanche, les différents fluvariums ne semblent pas avoir d'effet sur la condition des poissons ($P = 0,31 > 0,05$). De même, l'interaction entre les dates et les fluvariums ne semblent pas avoir d'effet sur les poissons non plus ($p = 0,1058 > 0,05$) (Tableau 2). Ensuite, une analyse des résidus est faite selon un graphique quantile-quantile. Il apparaît que la distribution des résidus ne diffère pas visuellement d'une loi normale, l'utilisation de l'ANOVA est donc bien adaptée. Il est donc possible d'étudier la croissance des poissons sans les séparer par fluvarium.

III.2) Validation du rythme de dépôt des stries

Les poissons ont été capturés au moment du recrutement en rivière. Le premier marquage est confondu avec la ligne de métamorphose car les poissons sont marqués directement après la capture. Dans cette partie de validation directe, les otolithes de 10 individus prélevés dans les fluvariums 1 et 2 ont été analysés. En comptant d'un marquage à l'autre, c'est à dire de la strie de métamorphose marquée à la strie fluorescente suivante, le dénombrement est toujours égal à 14 (Tableau 3). Tous les marquages consécutifs sont séparés de 14 jours. Le nombre de stries compté correspond avec le nombre de jours séparant deux marquages (Tableau 3). Le rythme de dépôt des stries sur les otolithes de juvéniles est donc bien journalier.

De plus, la lecture des otolithes ne se fait pas au même endroit selon la partie concernée : la lecture de la vie larvaire se fait toujours le long d'un même axe (Figure 16). En revanche, pour la vie en rivière, il faut se concentrer sur les côtés de l'otolithe où les stries sont les plus espacées (Figure 16). En effet, les stries correspondant à la vie en rivière sont plus lisibles sur les côtés de l'otolithe que sur ses pôles. Celles-ci se resserrent aux pôles et se confondent ce qui les rend illisibles à cet endroit là (Figure 16).

III.3) Validation des méthodes de lecture

Les otolithes sont lus sans ponçage dans une gouttelette d'huile, puis avec ponçage. Deux indices sont utilisés pour comparer les valeurs de dénombrements des deux méthodes de comptage (avec et sans ponçage). Ces deux indices sont le Pourcentage Moyen d'Erreur (PME) et le Coefficient de Variation (CV).

La valeur moyenne du PME pour les dénombrements de la vie larvaire des poissons est 2,73%, et la moyenne du CV de 3,86%. Ensuite, pour le dénombrement de la vie en rivière, la valeur moyenne du PME est 4,19% et celle du CV est 5,93%. Puis la valeur moyenne du PME concernant les dénombrements de la vie totale des poissons est 1,66%, celle du CV est 2,35%. La moyenne de chacun de ces deux indices sur tous les individus utilisés dans la seconde partie de l'étude (estimation de l'âge de première reproduction, 31 poissons pêchés durant l'année 2011 dans la rivière ...) est inférieure à 5%, les deux méthodes de lecture donnent donc des résultats similaires. Le seul cas où cette moyenne atteint 5,93% est le coefficient de variation de la vie en rivière, car la vie en rivière étant bien plus courte que la vie en mer pour les poissons étudiés, une erreur sur celle-ci engendre un plus grand pourcentage d'erreur. Il apparaît aussi que le pourcentage est toujours plus fort pour le coefficient de variation. En effet, ce test est plus robuste que le pourcentage d'erreur moyen (Morales-Nin et Panfili 2002b). D'après les résultats qui montrent des comptages similaires, il est possible de lire les otolithes sans ponçage sans subir de biais significatif dans le dénombrement.

III.4) Estimation de l'âge de première reproduction

Les comptages étant réalisés avec et sans ponçage pour tous les individus, l'âge utilisé est la moyenne des résultats des comptages avec et sans ponçage. La vie larvaire et la vie en rivière sont analysées de façon séparée. La taille de l'échantillon considéré est 31 individus (17 au mois de Mars et 14 au mois de Février). Il y a au total 14 individus immatures, et 17 matures, regroupant les individus capable de se reproduire, en développement, ou s'étant déjà reproduit (Tableau 4).

III.4.1) Taille à la première reproduction

Les 14 poissons immatures ont une taille moyenne de 37,4 millimètres, allant de 33 mm à 43 mm. Les poissons matures ont eux une taille moyenne de 52,2 mm, allant de 44 mm à 59 mm (Tableau 4). Les individus sont divisés en 6 classes, chacune de 4 mm d'amplitude, allant de 32 à 59 mm. Il ressort que les effectifs des poissons immatures diminuent et que ceux des poissons matures augmentent quand la taille augmente (Figure 17). Au niveau de la 3^{ème} classe, les effectifs se croisent : c'est à partir de là qu'on retrouve des poissons matures, et que l'on ne trouve presque plus de poissons immatures. La limite de taille entre les poissons immatures et les poissons matures semble être située entre 42 et 46 mm (Figure 17).

III.4.2) Age total à la première reproduction

Les poissons immatures ont une vie totale moyenne de 228,21 jours, allant de 180,5 jours à 247,5 jours. Les poissons matures ont une vie totale moyenne de 236,73 jours, allant de 197,5 jours à 280,5 jours (Tableau 4). Les individus sont répartis en 5 classes qui correspondent à la durée de vie totale (Développement larvaire + Vie en rivière). Ces classes vont de 180 à >260 jours de vie. Une fois de plus, les effectifs se croisent au sein de la 3^{ème} classe, mais cette fois cela est moins net que dans les deux autres cas (Figure 18).

On remarque que dans la fourchette 220-239 jours de vie, les poissons immatures deviennent moins nombreux que les poissons matures. Mais il y a encore des poissons immatures dans les classes suivantes, ce qui montre que la séparation est moins nette cette fois.

III.4.3) Age post-recrutement de première reproduction

Les poissons immatures ont une vie moyenne en rivière de 29,35 jours, allant de 11,5 jours à 48,5 jours. Les poissons matures ont une vie moyenne en rivière de 92,38 jours, allant de 50 jours à 157,5 jours (Tableau 4). Les individus sont répartis en 7 classes. Chaque classe correspond à 20 jours en rivière, allant de 0 à >120 jours. Les effectifs des poissons matures et immatures se croisent une fois de plus dans la 3^{ème} classe. Il est donc possible de dire que la limite de durée de vie en rivière entre les poissons matures et les poissons immatures se situe entre 40 et 59 jours de vie en rivière (Figure 19).

IV) DISCUSSION

IV.1) Croissance

Les poissons mesurés dans cette étude ont une croissance bien visible d'après les suivis de leur taille, poids et indice de condition K. Entre le début de manipulation et la seconde date, il est possible de remarquer une légère diminution de la taille. En effet, quand le poisson vient juste de recruter, il utilise son énergie pour opérer les changements associés au recrutement en rivière. Pendant cette période, l'énergie n'est plus utilisée pour sa croissance et donc les poissons ne grandissent pas. L'indice de condition K est judicieux à utiliser ici car il reflète la condition physiologique du poisson et pas seulement sa taille ou son poids. Après un test statistique, il est confirmé que les différentes dates ont un effet sur cet indice K : à chaque date, les poissons grandissent et grossissent, donc le K varie. En revanche, les différents fluvariums n'ont pas d'effet sur l'indice K. Le test démontre que les marquages répétés n'ont pas d'effet sur la croissance des poissons. En effet, les poissons marqués 4 fois ont une croissance similaire à ceux ayant été marqués qu'une seule fois.

Au cours du temps, les boîtes à moustaches s'élargissent ce qui montre que l'amplitude des données mesurées augmente. Il y a aussi des valeurs extrêmes qui apparaissent, donc certains individus ont une meilleure condition physiologique que les autres. Cela pourrait s'expliquer par la présence d'une compétition entre les poissons dans les fluvariums. De plus, cette compétition pourrait conditionner l'accès à la nourriture, ainsi qu'engendrer un phénomène de territorialité entre les poissons (Keith 2003). Il y a un phénomène d'emballement : les poissons les plus gros ont un plus grand accès à la nourriture car ce sont de meilleurs compétiteurs, privant ainsi les plus petits de l'accès à la nourriture. De cette façon, les poissons les plus gros deviennent de plus en plus gros et inversement pour les petits, de sorte à ce que l'écart entre les valeurs extrêmes se creuse.

IV.2) Validation méthodologique

IV.2.1) Validation du rythme de dépôt des stries

Les stries des otolithes ont des rythmes de dépôt différents selon les espèces. Ils peuvent être journaliers, hebdomadaires, ou encore saisonniers (Wright et al. 2002a). Le rythme de dépôt des stries pour les stades précoces de *S.lagocephalus* était déjà validé comme journalier (Hoareau 2005). Comme il a été montré précédemment, le nombre de stries compté lors de la phase post-recrutement correspond bien au nombre de jours séparant deux marquages. Cela a été montré pour les différentes zones étudiées : de la marque de métamorphose à la première marque suivante et ainsi de suite. Tous les résultats concordent, ce qui permet de confirmer que le rythme de dépôt des stries sur les otolithes de juvéniles de *S.lagocephalus* est bien journalier. Il est désormais possible d'estimer l'âge d'un individu en comptant les stries du nucleus jusqu'au bord d'une de ses deux otolithes. De plus, il est possible de subdiviser cette vie en deux parties, la vie larvaire en mer qui se lit du nucleus (= primordium) jusqu'à la strie de métamorphose, et la vie en rivière qui se lit après cette même strie. Mais le comptage n'est pas possible partout sur l'otolithe. Les zones les plus propices aux comptages ont été définies : les comptages de la durée de vie larvaire ont été réalisés suivant la plus grande diagonale de l'otolithe, alors que les comptages de la durée de vie recrutement ont été réalisés sur les bords de l'otolithe et pas aux pôles. Toutefois, le comptage journalier semble être difficile à réaliser sur des individus adultes (> 1an) car la distance inter-stries est de plus en plus faible à mesure que le poisson grandit.

IV.2.2) Validation des méthodes de lecture

Pour valider la possibilité de lire les otolithes sans ponçage, les valeurs de dénombrement ont été comparées avec et sans ponçage. Aucune différence significative n'a été démontrée entre les deux méthodes. Il est notable que les indices de variation correspondant à la vie totale sont toujours moins élevés que les indices concernant seulement la vie en rivière ou la vie marine. Ceci s'explique par le fait que les comptages se compensent : entre les comptages avec et sans ponçage, il arrive qu'il y ait plus de stries comptées en DVL et moins en DVR selon l'une ou l'autre méthode.

Mais cela ne fait pas beaucoup varier le dénombrement total, ce qui explique que les indices concernant la vie totale soient plus faibles ($PME = 1,66$ et $CV = 2,35$). De plus, le nombre de strie compté est toujours plus élevé pour la vie totale et pour la vie en mer que pour la vie en rivière donc la moindre erreur sur le dénombrement de la vie en rivière engendre un indice de variation plus important que sur la vie marine. Par conséquent, les études futures nécessitant de dénombrer des stries post-métamorphose pourront être réalisées sans ponçage. Cela évite de casser l'otolithe lors des manipulations de ponçage et permet aussi un gain de temps non négligeable.

IV.3) Estimation de l'âge de première reproduction

La limite de taille entre les poissons immatures et matures se trouve entre 42 et 46 millimètres, ce qui concorde avec les 43-45 millimètres proposés par Delacroix (1987). Mais il semble que cet intervalle de taille puisse changer au cours de l'année, jusqu'à 55 millimètres en août (Teichert 2012). Cela pourrait être dû aux saisons de reproduction : les post-larves ayant recruté dans une période favorable arriveront rapidement à maturité, alors que celle ayant recruté dans des périodes moins favorables poursuivront leurs croissances plus longtemps avant de devenir mature sexuellement (Teichert 2012). L'acquisition de la maturité sexuelle semble plus influencée par la DVR que par la DVL, donc il faut se concentrer sur la DVR. En effet, il y a des poissons immatures qui ont une vie totale plus importante que certains poissons matures. Comme la durée de vie larvaire ou marine est variable, il est normal de retrouver des variations de ce type. L'âge total des poissons n'est donc pas un bon indicateur de l'acquisition de la maturité sexuelle. En effet, les moyennes d'âge total entre les poissons matures et immatures ne diffèrent que peu (228 contre 236), avec des poissons immatures qui ont un âge total supérieur à des poissons matures. En revanche, la durée de vie post-recrutement montre des différences très significatives entre les poissons immatures et matures (<30 jours de vie en rivière pour les poissons immatures, >90 pour les poissons matures, en moyenne). C'est donc sur la base de la vie en rivière qu'il est possible d'estimer au mieux l'âge de première maturité sexuelle. Le passage des poissons immatures aux poissons matures se fait entre 40 et 60 jours passés en rivière, ce qui correspond avec les 50 jours estimés dans une étude précédente (Teichert 2012). Une étude plus longue sur la totalité des échantillons récoltés par Teichert 2012 aurait permis une estimation plus précise de cet âge de première reproduction et de caractériser d'éventuelles variations saisonnières.

Cette espèce de gobie a une maturité sexuelle assez précoce, ce qui lui permet de coloniser rapidement les milieux avec des variations environnementales importantes. C'est le cas de l'île de la Réunion par exemple, où il y a des périodes cycloniques et des périodes d'assèchement, mais c'est aussi le cas pour toute la zone indo-pacifique. En effet, avoir une maturité sexuelle précoce permet aux individus de se reproduire avant qu'un événement hydrologique ne survienne et ne compromette la reproduction. De plus, la durée moyenne de temps passé en mer pour le développement larvaire est d'environ 160 jours pour les données récoltées au cours de la présente étude (145 jours pour les poissons matures, 180 jours pour les poissons immatures) (Tableau 4). Cela a plusieurs conséquences : une vie marine plus longue que *C. acutipinnis* permet visiblement aux *S. lagocephalus* de coloniser des zones plus éloignées.

Cela pourrait expliquer que les *S. lagocephalus* sont présents dans divers endroits, alors que l'autre espèce surnommée bichique, *Cotylopus acutipinnis*, est endémique à l'île de la Réunion.

Cet autre gobie amphidrome possède une durée de vie marine bien inférieure à celle du poisson étudié ici (Teichert 2012) qui pourrait expliquer que sa répartition est moins importante que celle de *S.lagocephalus*. De plus, la durée de vie post-recrutement avant la maturité sexuelle est bien plus importante chez *C.acutipinnis* (environ 100 jours)(Teichert 2012). *Sicyopterus lagocephalus* a donc une vie larvaire en moyenne plus longue et une vie en rivière avant la maturité sexuelle qui est plus courte que *C. acutipinnis*.

Le moment le plus incertain du cycle de vie de *S.lagocephalus* est la dévalaison, car il y a un fort taux de mortalité à ce moment-là. En effet, les larves n'ont que peu de temps pour atteindre la mer, ou elles mourront. L'espèce étudiée ici possède une stratégie de reproduction de type R. Cette stratégie consiste à produire beaucoup de jeunes, le plus tôt possible, pour palier au taux de mortalité élevé de ces jeunes. Cette stratégie permet de coloniser les milieux instables et imprévisibles, comme La Réunion par exemple. Cette espèce est aussi retrouvée en Polynésie Française, en Nouvelle Calédonie (etc.), qui sont aussi des milieux instables et imprévisibles, pour les mêmes raisons que l'île de la Réunion (climat, hydrologie...). Ces aptitudes de colonisation, tant physiques (ventouse) que métaboliques (durée de vie larvaire plus longue, reproduction précoce) contribuent certainement à en faire le Sicydiinae le plus largement réparti à l'échelle du globe (Lord 2009).

V) CONCLUSION

Sicyopterus lagocephalus est un gobie amphidrome retrouvé dans toute la région indo-pacifique. Cette espèce de poisson est retrouvée en abondance dans les cours d'eau de l'île de la Réunion, milieux insulaire soumis à des changements environnementaux réguliers. Le succès de la colonisation de ces milieux est en partie dû à une stratégie de reproduction de type R, qui consiste à avoir une maturité sexuelle précoce permettant de mener à terme son cycle de reproduction avant une éventuelle perturbation. Au cours de cette étude, le rythme de dépôt des stries sur les otolithes des juvéniles de *S.lagocephalus* a été validé comme journalier. Cette première étape a permis de connaître l'âge des poissons. Il a aussi été démontré la possibilité de dénombrer les stries d'un otolithe sans ponçage, par une simple observation dans une goutte d'huile à immersion, ce qui représente un gain de temps important et diminue aussi les risques de casser les otolithes durant le ponçage. Cela sera utile par la suite pour de futures études de croissance, par exemple. Enfin, les résultats montrent que les femelles de *S.lagocephalus* deviennent sexuellement matures après 40 à 60 jours passés en rivière, ce qui représente une durée de vie en rivière avant la maturité plutôt faible, par rapport à la centaine de jours déjà montrée sur *Cotylopus acutipinnis*. Il serait intéressant de connaître cet âge de première reproduction plus précisément. Pour cela, il faudrait analyser plus de poissons, prélevés tout au long de l'année, afin de rendre compte des supposées variations saisonnières de l'âge de première reproduction et de donner un intervalle d'âge de première maturité plus exhaustif.

VI) BIBLIOGRAPHIE

- Ah-Yane O. et Gimoneau G. (2006). Suivi de la métamorphose et étude du recrutement chez *Sicyopterus lagocephalus*. Rapport de stage de Maîtrise de Biologie des Populations et des Écosystèmes. Université de la Réunion, France. 36p.
- Delacroix P. (1987). Étude des «bichiques», juvéniles de *Sicyopterus lagocephalus* (Pallas 1770), poisson Gobiidae migrateur des rivières de la Réunion (Océan Indien) : Exploitation, répartition, biologie de la reproduction et de la croissance. Thèse de doctorat, Université de La Réunion, France.
- Hoareau T. (2005). Dynamique structurale des populations de bichiques (*Sicyopterus lagocephalus*), Gobiidae amphidromes des rivières de La Réunion. Thèse de doctorat, Université de la Réunion, France. 284p.
- Hoareau T., Lecomte-Finiger R., Grondi H.P., Conand C. et Berrebi P. (2007). Oceanic larval life of La Réunion «bichiques», amphidromous gobiid post-larvae. Marine Ecology Progress Series, 333:303-308.
- Hoarau P. (2012). Influence des patterns de traits d'histoire de vie larvaires sur le succès d'installation en rivière chez *Sicyopterus lagocephalus* à la Réunion. Rapport de stage Master 2, Université de Lorraine. France. 42p.
- Keith P. (2003). Biology and ecology of amphidromous Gobiidae of the Indo-Pacific and the Caribbean regions. Journal of Fish Biology, 63 : 831-847.
- Keith P., Marquet G., Valade P., Bosc P. et Vigneux E. (2006). Atlas des poissons et des crustacés d'eau douce des Comores, Mascareignes et Seychelles. MNHN. Paris, 250p.
- Keith P., Hoareau T.B., Lord C., Ah-Yane O., Gimonneau G., Robinet T. et Valade P. (2008). Characterisation of post-larval to juvenile stages, metamorphosis and recruitment of an amphidromous goby, *Sicyopterus lagocephalus* (Pallas 1770) (Teleostei : Gobiidae : Sicydiinae). Marine and Freshwater Research, 59 : 876-889.
- Lecomte-Finiger R. (1999). L'otolithe : La «boîte noire» des Téléostéens. Annales de Biologie 38 : 107-122.
- Lord C. (2009). Amphidromie, endémisme et dispersion : traits d'histoire de vie et histoire évolutive du genre *Sicyopterus* (Teleostei : Gobioidi : Sicydiinae). Thèse de doctorat. Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France. 237p.
- Lord C., Brun C., Hautecoeur M. et Keith P. (2009). Insights on endemism : comparison of the duration of the marine larval phase estimated by otolith microstructural analysis of three amphidromous *Sicyopterus* species (Gobioidi : Sicydiinae) from Vanuatu and New Caledonia. Ecology of Freshwater Fish, 19 : 26-38.
- McDowall R.M. (1988). Diadromy in fishes : migration between freshwater and marine environments. Groom Helm, London. 308 p.
- McDowall R.M. (1992). Diadromy : origins and definitions of terminology. Copeia, 1992(1) : 248-251.

- Morales-Nin B., Panfili J. (2002a) Manuel de sclérochronologie des poissons, Chapitre III Bases de la sclérochronologie, A) Estimation de l'âge.
- Morales-Nin B., Panfili J. (2002b) Manuel de sclérochronologie des poissons, Chapitre IV Méthodes de validation et de vérification, D) Vérification.
- Myers M.J. (1949). Usage of anadromous, catadromous and allied terms for migratory fishes. *Copeia*, 1949 : 89-87.
- Secor D., Dean J.M. et Laban E.H. (1991) Manual for otoliths removal and preparation for microstructural examination. Electric energy research institute and the belle a Baruch. Institute for Marine Biology and Coastal Research, University of South Carolina, Columbia, South Carolina.
- Shen K.N. et Tzeng W.N. (2002). Formation of a metamorphosis check in otoliths of the amphidromous goby *Sicyopterus japonicus*. *Marine Ecology Progress Series*, 228 : 205-211.
- Tabouret H. (2012). Les poissons migrateurs amphihalins des départements d'outre-mer : états des lieux. Synthèse générale sur les DOM insulaires : Rapport final ONEMA, 276p.
- Teichert N. (2012). Variabilité des traits d'histoire de vie chez les Gobiidae (Sicydiinae) amphidromes de l'île de la Réunion : *Sicyopterus lagocephalus* (Pallas 1770) et *Cotylopus acutipinnis* (Guichenot 1863). Thèse de doctorat. Université de Pau et des Pays de l'Adour. France. 329p.
- Wright P.J., Panfili J., Morales-Nin B. et Geffen A.J. (2002a) Manuel de sclérochronologie des poissons, Chapitre II Différents types de pièces calcifiées, A) Otolithes.
- Wright P.J., Panfili J., Folkvord A., Mosegaard H. et Meunier F.J. (2002b) Manuel de sclérochronologie des poissons, Chapitre IV Méthodes de validation et de vérification, A) Validation directe.

RESUME

Sicyopterus lagocephalus, plus communément appelé «cabot à bouche ronde» est un gobie amphidrome de la famille des Sycidiinae que l'on retrouve dans la région Indo-pacifique. Cette espèce partage son nom vernaculaire avec un autre gobie, endémique des Mascareignes, *Cotylopus acutipinis*. Les post-larves de ces deux espèces sont appelées «bichiques», produit festif et très apprécié à la Réunion mais aussi relativement coûteux. Ceux-ci sont beaucoup pêchés aux embouchures des rivières lors de leurs recrutements, principalement lors des quelques jours précédant une nouvelle lune. A terme, cette pêche intensive pourrait avoir des conséquences néfastes sur le stock d'adultes, et donc faire peser une menace sur ces espèces. De plus, elles sont encore méconnues, tant sur le plan biologique, le cycle de vie, ou encore le stock d'individus. L'objectif est de mieux connaître la biologie et l'écologie de ce poisson, afin de pouvoir mieux le conserver et de pouvoir développer des modèles de dynamique des populations. Pour ce faire, la connaissance de la croissance et de l'âge de première reproduction sont des paramètres incontournables. Il faut tout d'abord valider le rythme de dépôt des stries comme journalier pour les poissons juvéniles, ce rythme étant déjà validé pour les stades plus précoces. Ensuite, des tests seront faits pour déterminer s'il est possible ou non d'analyser les otolithes sans ponçage. Puis l'étude se portera sur l'estimation de l'âge de première reproduction à l'aide des méthodes d'otolithométrie. Après plusieurs tests, le rythme de dépôt des stries a été validé comme journalier pour les juvéniles de *S.lagocephalus*. De plus, la possibilité de lire les otolithes directement et sans ponçage a été démontrée à l'aide d'indice de vérification. L'analyse des caractéristiques de la première reproduction (taille, âge) a montré que la limite entre les poissons matures et immatures se situe entre 42 et 46 millimètres pour la longueur totale, et entre 40 et 60 jours pour la durée de vie en rivière. Ces résultats suggèrent que l'espèce étudiée possède une stratégie de reproduction de type R, avec une maturité sexuelle précoce. Ceci lui permet de coloniser les milieux changeants et instables comme l'île de la Réunion, la nouvelle Calédonie, ou encore d'autres systèmes insulaires de l'océan Indien.

Mots clefs : *Sicyopterus lagocephalus*, otolithes, marquages, stries, maturité sexuelle, validation

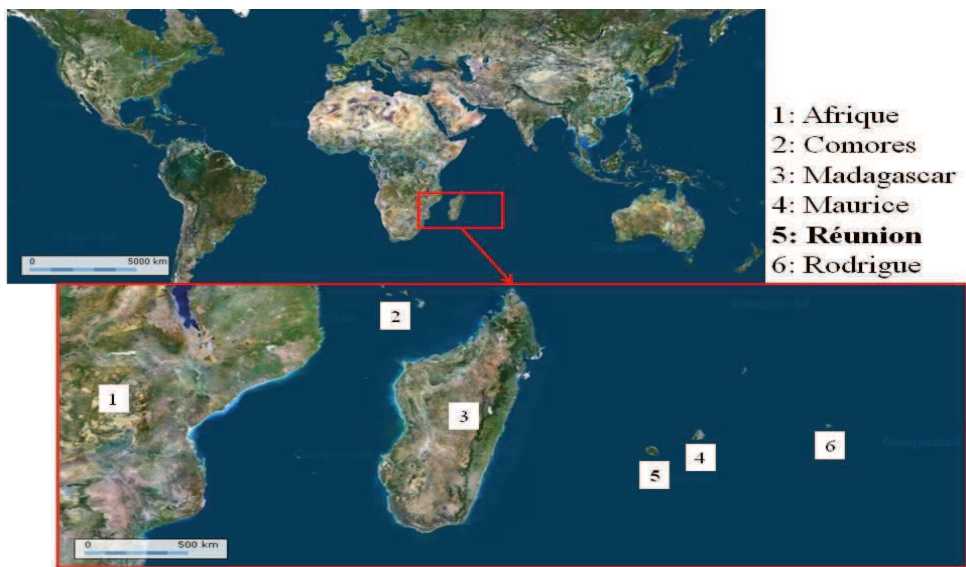


Figure 1 : Localisation de l'île de la Réunion (Géoportail, modifié)



Figure 2 : Carte schématique de la côte au vent et de la côte sous le vent de l'île de La Réunion (Géoportail, modifié)

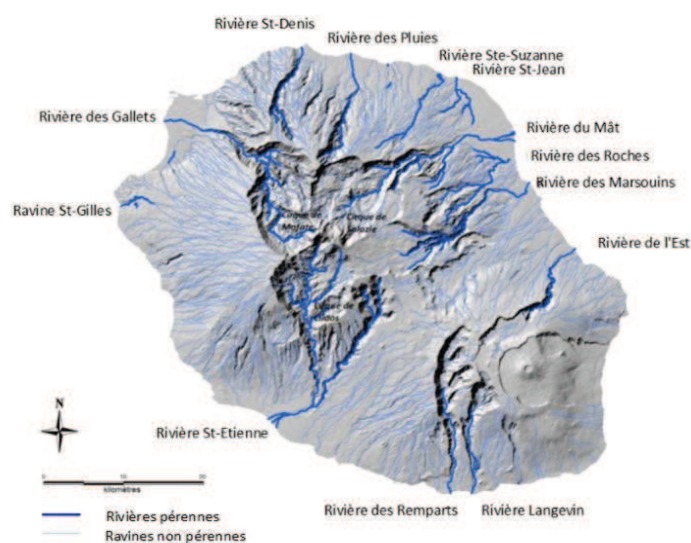


Figure 3 : Carte du réseau hydrographique de la réunion (ARDA, modifié)

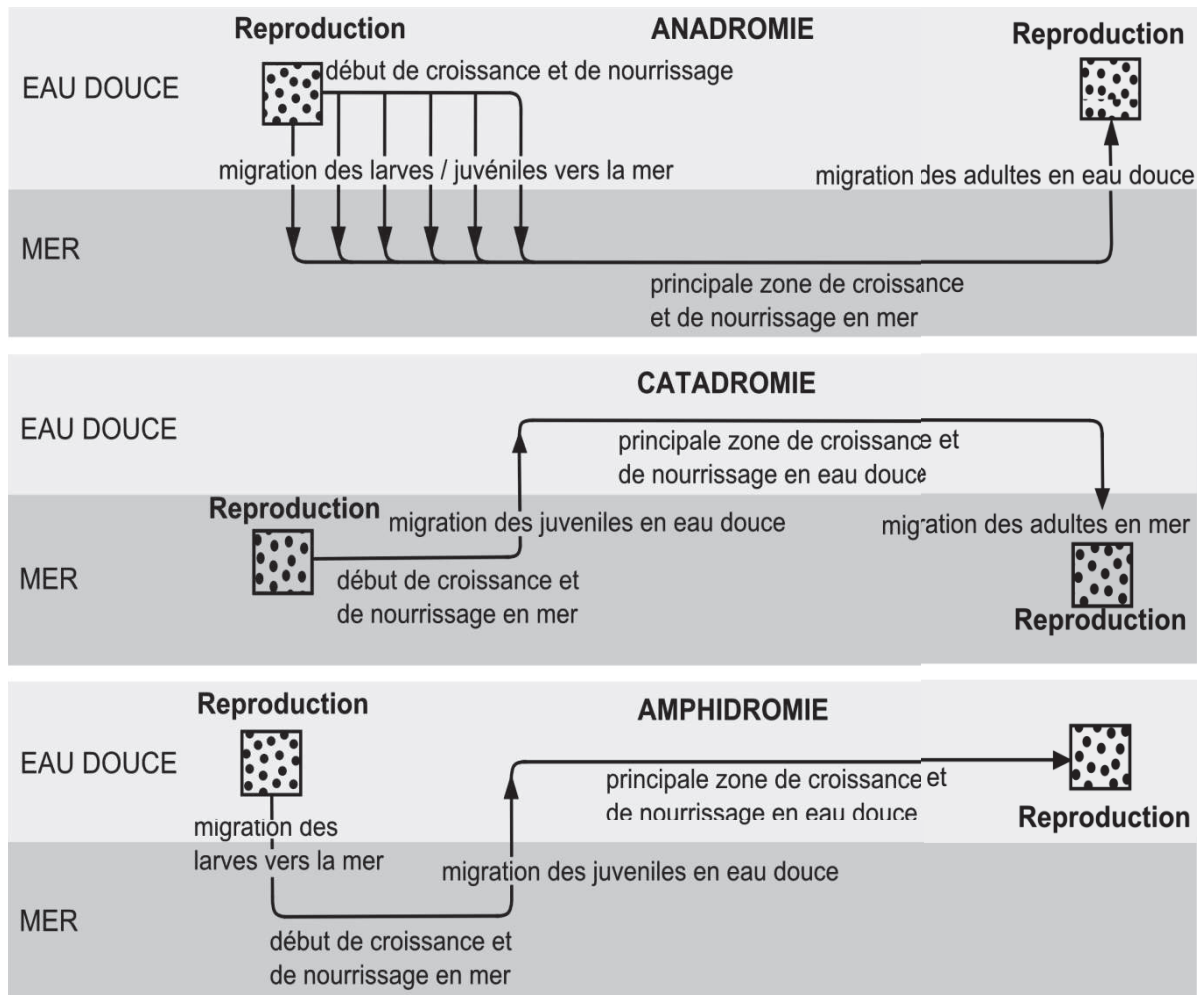


Figure 4 : Description des différentes formes de diadromie d'après McDowall 1997 (dans Teichert 2012)



Figure 5 : Photographie d'un mâle (gauche) et d'une femelle (droite) de l'espèce *Sicyopterus lagocephalus* (ARDA)



Figure 6 : Photographie d'une scène de pêche électrique à la Réunion (ARDA)



Figure 7 : Photographie de la pièce contenant les 4 fluvariums à l'ARDA (© Hue)

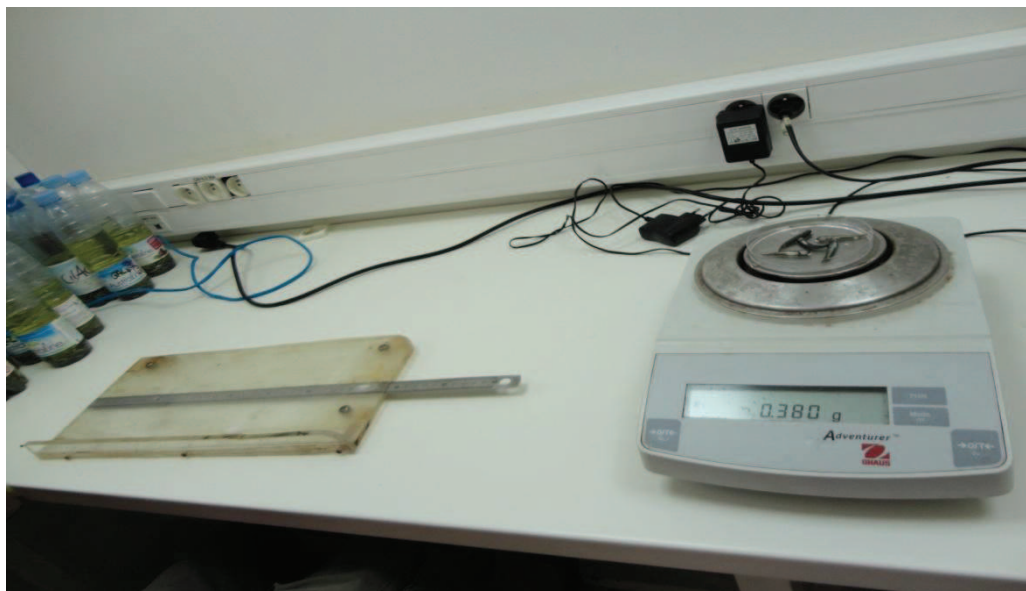


Figure 8 : Photographie du matériel utilisé pour les biométries (© Hue)

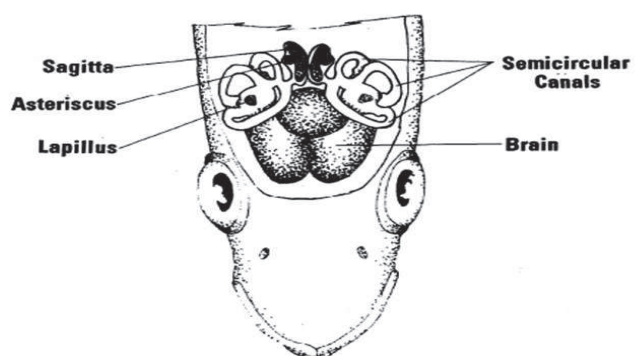


Figure 9 : Schéma de localisation des otolithes dans l'oreille interne du poisson (Secor et *al.* 1991)

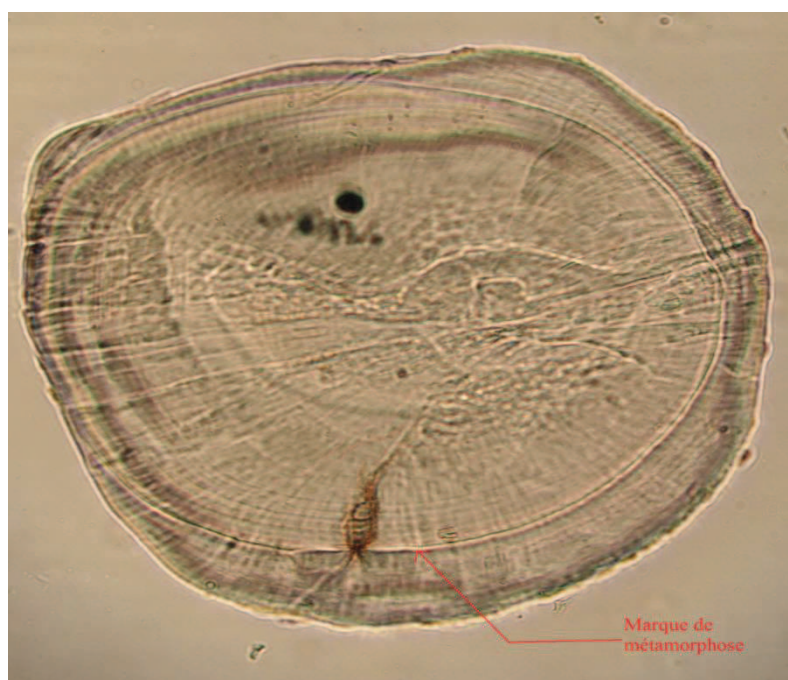


Figure 10: Photo d'un otolithe de *Sicyopterus lagocephalus* post-recruté observé sous microscope optique (x400) (© Hue)

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des différents paramètres concernant les marquages à l'Alizarine RED S effectués sur les juvéniles de *Sicyopterus lagocephalus*

Marquage ARS 100mg/L

Date	Fluvarium	Nombre de marque	Durée du marquage	Nombre de poissons relâchés	Nombre de poissons présents	Nombre de poissons conservés pour la validation
12/12/12	1	1	19:00:00	60	na	
12/12/12	2	1	19:00:00	60	na	
12/12/12	3	1	19:00:00	60	na	
12/12/12	4	1	19:00:00	60	na	
26/12/12	1	2	16:00:00	45	45	0
26/12/12	2	2	16:00:00	45	51	6
26/12/12	3	na	na	45	54	9
26/12/12	4	na	na	45	47	2
09/01/13	1	3	16:00:00	35	40	5
09/01/13	2	na	na	35	42	7
09/01/13	3	2	16:00:00	30	30	0
09/01/13	4	na	na	35	36	1
12/02/13	1	4	15:00:00	25	29	4
12/02/13	2	na	na	25	32	7
12/02/13	3	3	15:00:00	23	27	4
12/02/13	4	na	na	25	31	6

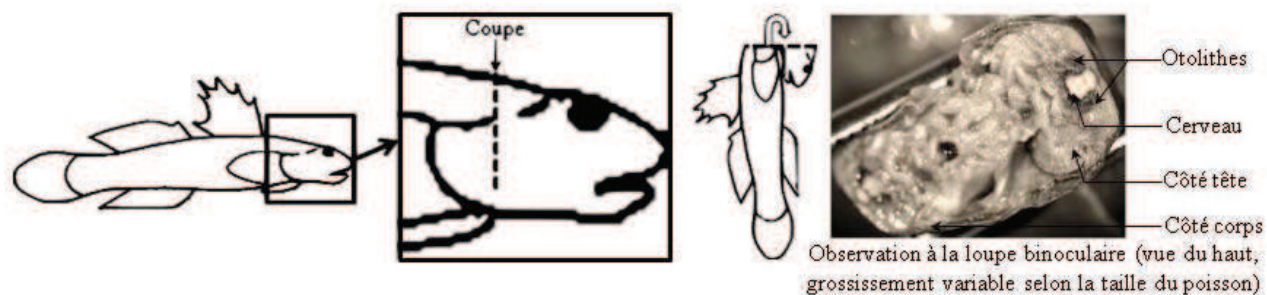


Figure 11 : Schéma explicatif de l'extraction des otolithes (Hoarau 2012)

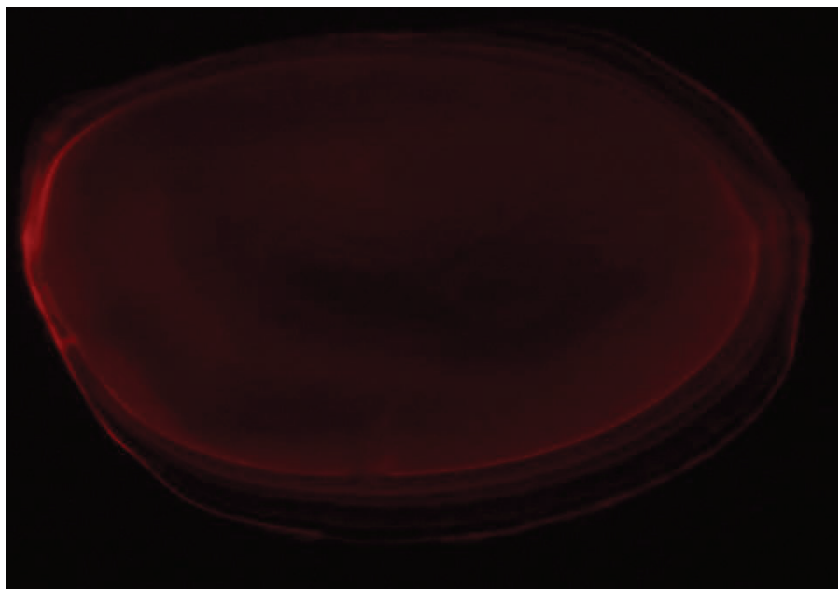


Figure 12 : Photographie d'un otolithe de *Sicyopterus lagocephalus* post-recruté dont les stries marquées sont révélées par épifluorescence (© Hue)

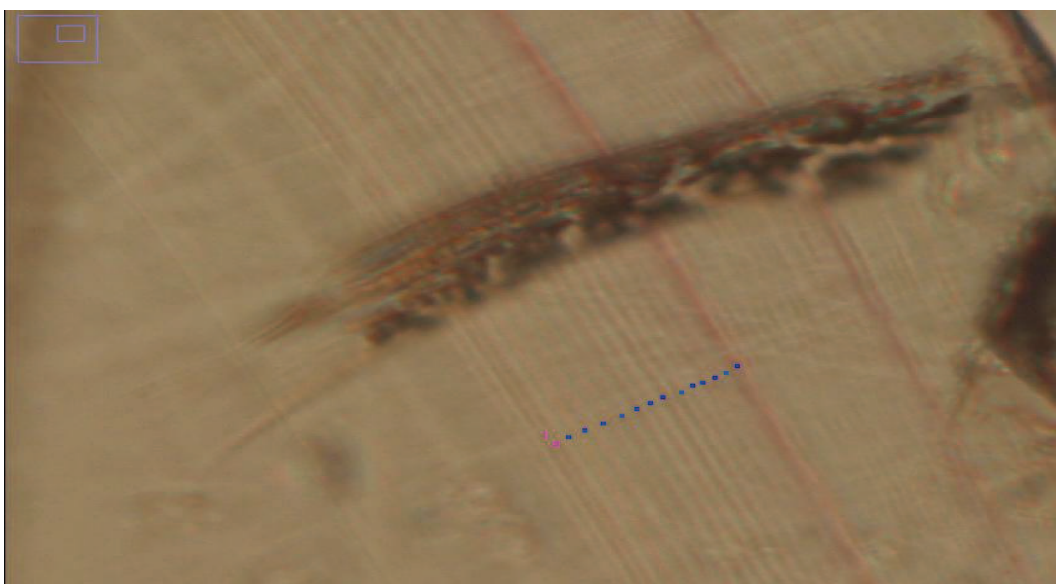


Figure 13 : Photographie de la zone de l'otolithe où les marquages sont visibles. Les points bleus correspondent au dénombrement des stries (© Hue)

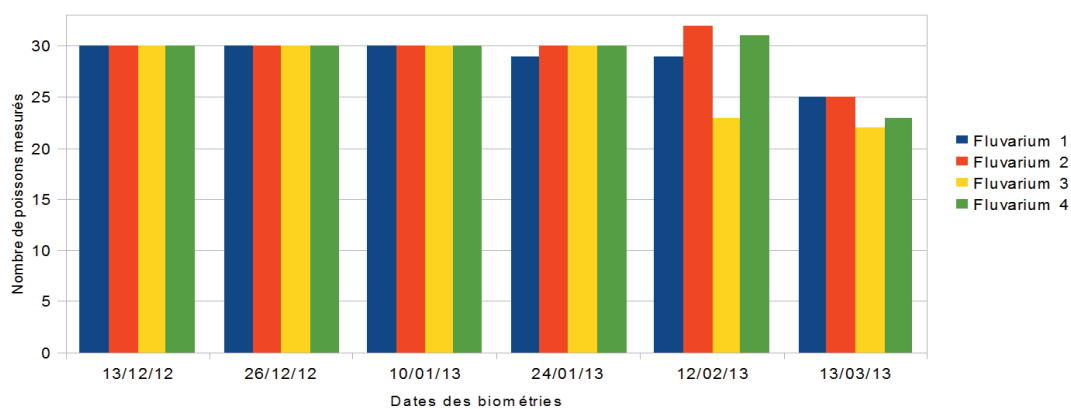


Figure 14 : Histogramme du nombre de poissons prélevés par fluvarium pour les différentes dates de biométries. (Format date: jj/mm/aa)

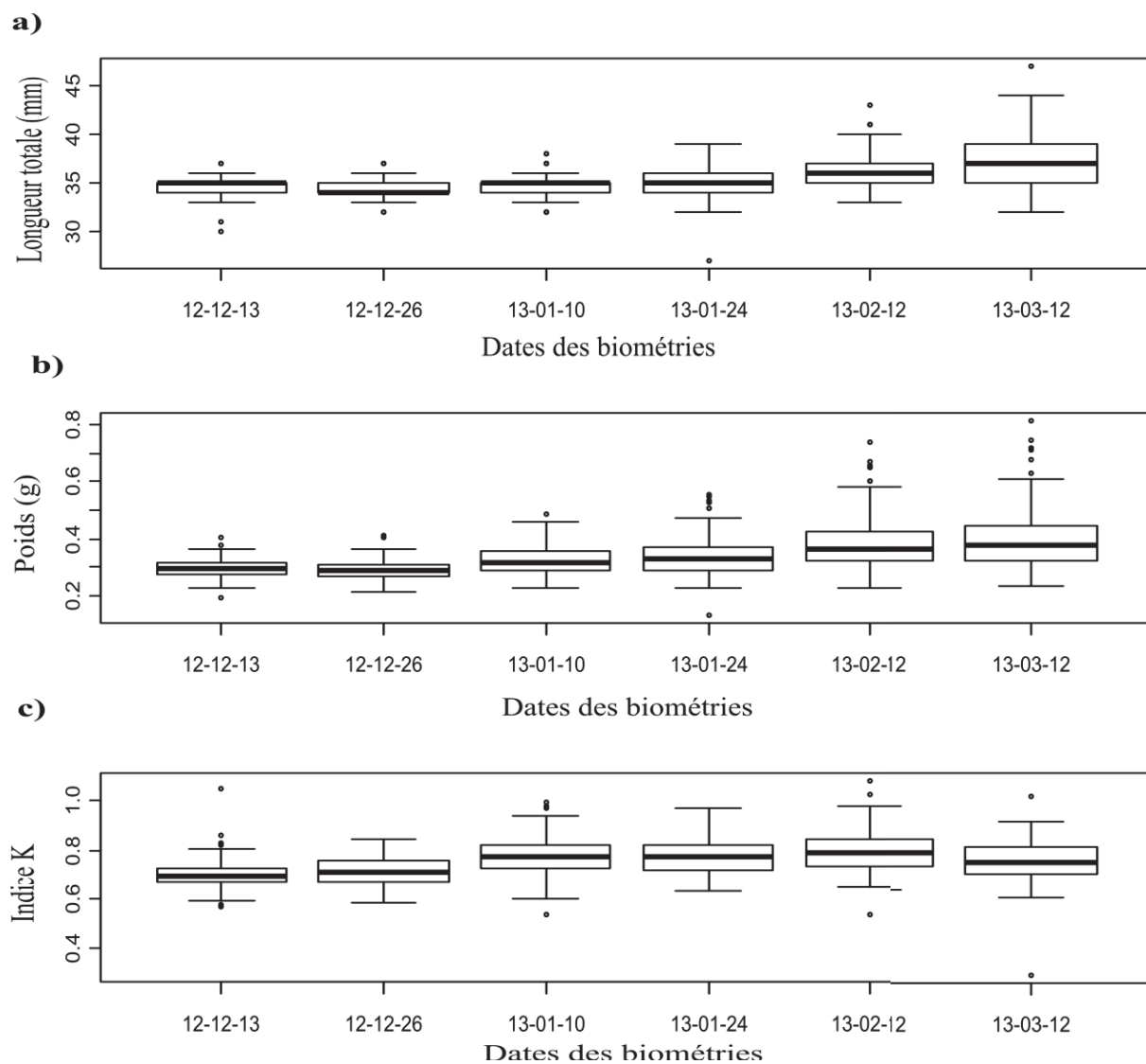


Figure 15 : Boxplot du suivi a) de la taille b) du poids c) de l'indice K en fonction des dates des biométries pour les poissons capturés à l'embouchure de la rivière du Mât (Nord-est de l'Île de La Réunion) le 12/12/12 et élevés en fluvarium. Le trait épais correspond à la valeur médiane, la boîte à moustache s'étend du premier quartile (25% des effectifs) au troisième quartile (75% des effectifs) et des moustaches qui s'étendent jusqu'aux valeurs maximum et minimum.

Tableau 2 : Résultat de l'analyse de variance visant à tester l'effet des différentes dates, l'effet des différents fluvariums sur l'indice K et l'effet de l'interaction des dates et des fluvariums sur l'indice K de condition de Fulton.

	Degré de liberté	Somme des Carrés des Écarts	Moyenne des Carrés des Écarts	Valeur de F	Pr(>F)
DATA\$Date	5	0,8753	0,175053	31,9213	<2e-16
DATA\$Fluvarium	3	0,0193	0,006427	1,172	0,3196
DATA\$Date:DATA\$fluvarium	15	0,1219	0,008126	1,4817	0,1058
Résidus	665	3,6468	0,005484		

Tableau 3 : Tableau récapitulatif des marquages. Dans l'ordre, le tableau montre l'identifiant des poissons marqués ainsi que le nombre de marquages qu'ils ont reçu, et l'espacement temporel de ces marquages. Ensuite, les zones de dénombrements sont données, avec le nombre de stries comptées. (M0 correspond à la marque de métamorphose, sur laquelle le premier marquage est superposé, puis M1, M2 et M3 désignent les différentes marques suivantes)

Id	Fluvarium	Nombre de marquage	Nombre de jours entre chaque marquage	Zone de dénombrement	Comptage
22	2	2	14	M0 => M1	14
11	1	3	14	M0 => M1=>M2	14 / 14
18	2	3	14	M0 => M1=>M2	14 / 14
21	2	2	14	M0 => M1	14
36	1	4	14	M0 => M1=>M2=>M3	14/ 14 / 14
37	1	3	14	M0 => M1=>M2	14 / 14 / 14
38	1	2	14	M0 => M1	14
42	2	2	14	M0 => M1	14
43	2	2	14	M0 => M1	14
44	2	2	14	M0 => M1	14

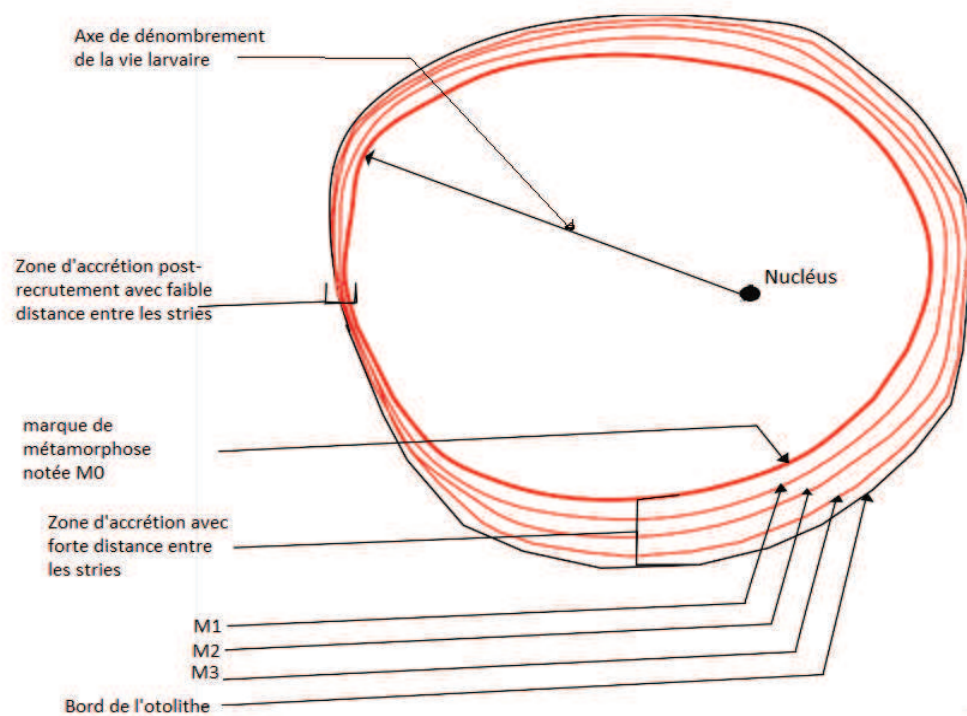


Figure 16 : Schéma de l'incrémentation des stries sur l'otolithe et zones de dénombrement de la vie larvaire et de la vie post-recrutement ainsi que la position des différents marquages (© Hue)

Tableau 4 : Tableau récapitulatif des caractéristiques statistiques de la série de données (taille de l'échantillon, minimum, maximum, variance, écart type et écart moyen)

	Moyenne	Minimum	Maximum	Variance	Écart type	Écart moyen
Poissons immatures						
N = 14						
Taille (mm)	37,4	33	43	13,95	3,73	3,12
DVL (jours)	178,89	146	209	385,12	19,62	16,53
VR (jours)	29,35	11,5	48,5	100,7	10,03	7,85
Vie totale (jours)	228,21	180,5	247,5	353,49	18,8	14,92
Poissons matures						
N = 17						
Taille (mm)	52,2	44	59	24,32	4,93	4,34
DVL (jours)	144,35	110	185	469	21,65	18,03
VR (jours)	92,38	50	157,5	898,33	29,97	24,17
Vie totale (jours)	236,73	197,5	280,5	566,5	23,8	18,48

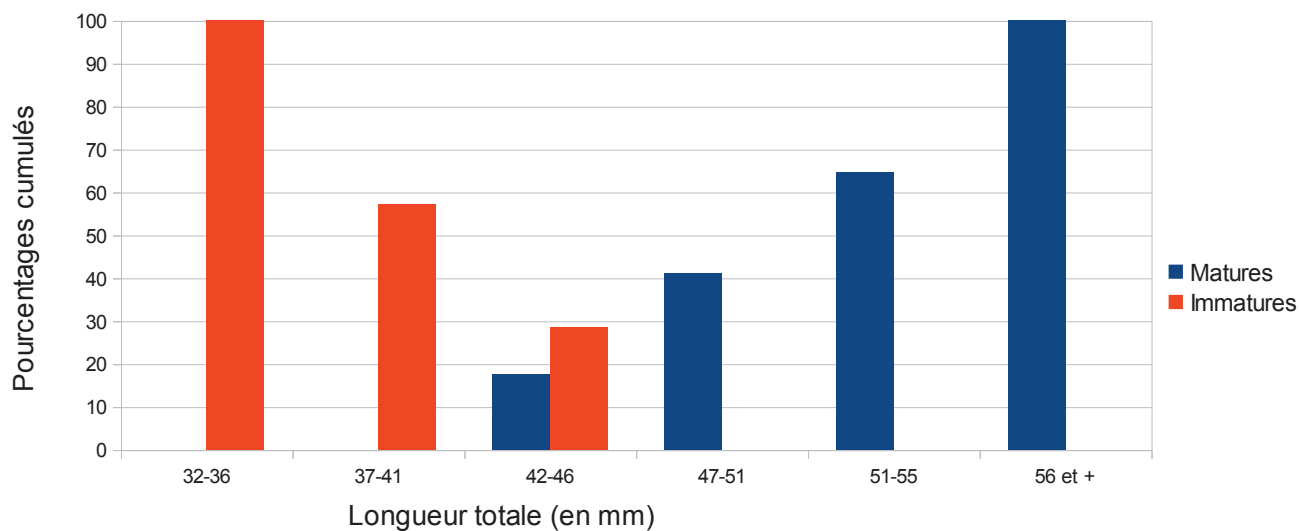


Figure 17 : Pourcentages cumulés croissants (PCC) des poissons matures et pourcentages cumulés décroissants (PCD) des poissons immatures en fonction de leurs tailles

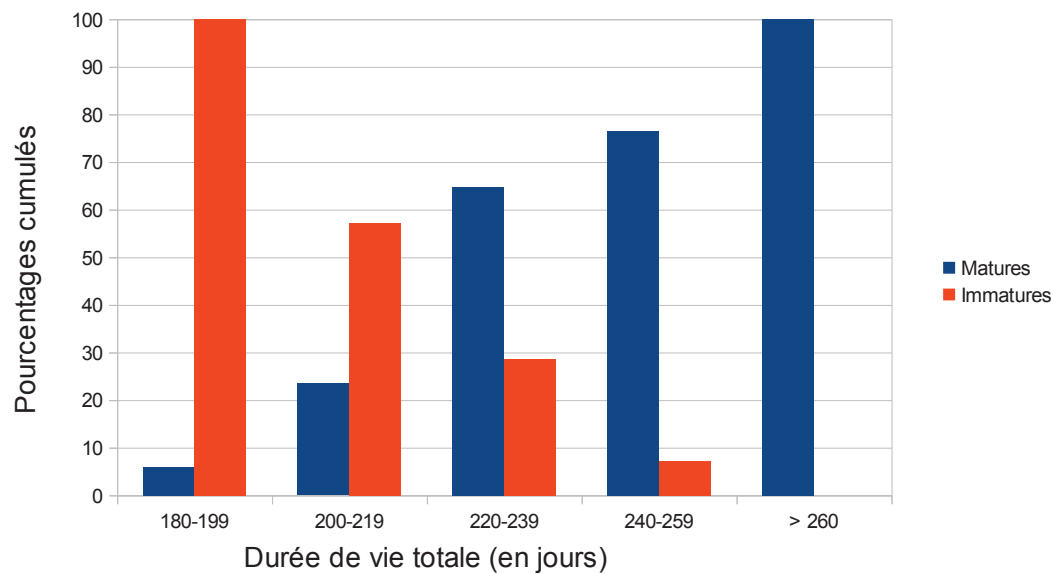


Figure 18 : Pourcentages cumulés croissants (PCC) des poissons matures et pourcentages cumulés décroissants (PCD) des poissons immatures en fonction de leur âge total

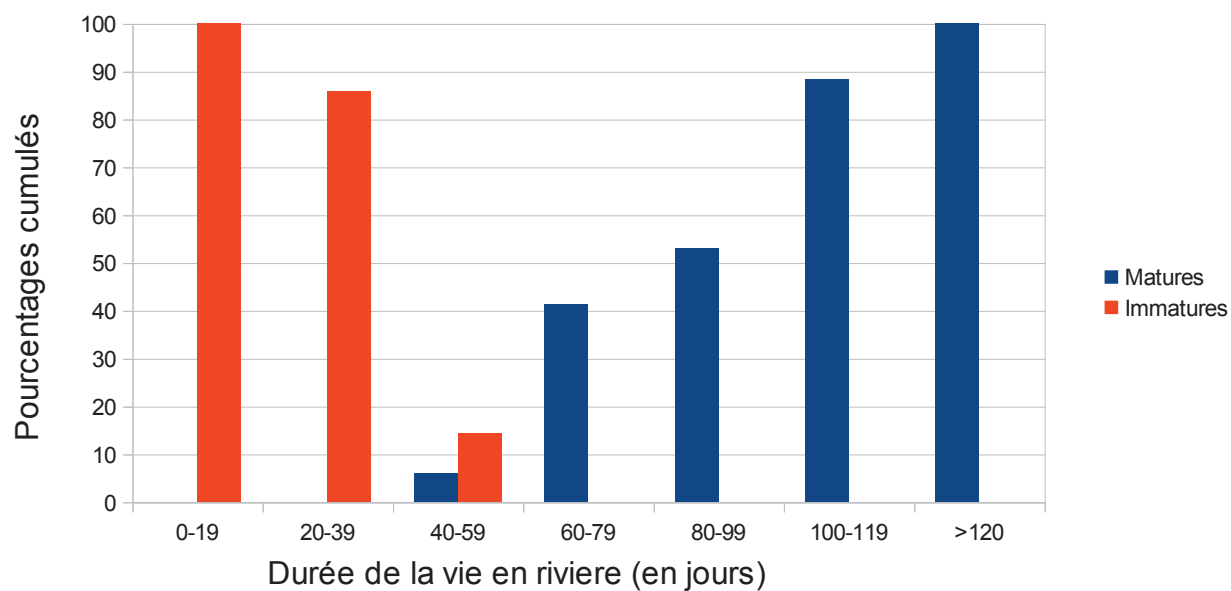


Figure 19 : Pourcentages cumulés croissants (PCC) des poissons matures et pourcentages cumulés décroissants (PCD) des poissons immatures en fonction de leurs âge post-recrutement, ou durée de vie en rivière