

Marquage des poissons

Table des matières

I.	Les techniques de marquage	2
A.	Les marques externes	2
1.	Marque mâchoire.....	2
2.	Marque Carlin	3
3.	Marque spaghetti-ancre	3
4.	Tatouages	4
a)	Colorants vitaux	4
b)	Injection ponctuelle de colorants (bleu alcyan).....	4
5.	Implants visibles.....	5
6.	Ablation de nageoires.....	6
B.	Les marques internes	6
1.	Micromarques magnétiques	7
2.	Marques électroniques.....	8
C.	Les marques chimiques	8
1.	Marquage des otolithes.....	9
a)	Otolithomarquage thermique.....	9
b)	Principe du fluoromarquage des otolithes	10
c)	Fluomarquage à la tétracycline avec choc osmotique	11
d)	Fluomarquage à l'alizarine	12
D.	Les marques naturelles	13
E.	Les marques génétiques	13
F.	Les marques acoustiques	13
II.	Planification et mise en œuvre d'une campagne de marquage	14
A.	Planification initiale et choix de la technique de marquage.....	14
B.	Marquage.....	15
C.	Stabulation post-marquage et relâcher des poissons marqués	16
D.	Recapture des poissons marqués	17
E.	Analyse et diffusion des résultats.....	18
	Bibliographie.....	20

Une marque est quelque chose d'externe ou d'interne, présent ou incorporé au poisson et qui permet de le reconnaître. Les techniques de marquage sont des outils importants pour connaître la biologie des poissons (ex.: mouvements, isolement ou mélange de populations, comportements, croissance, validation de l'âge, etc.) et pour la gestion piscicole (évaluation de la taille d'une population, taux de mortalité, efficacité de repeuplements, etc.).

Les publications rapportant des expériences sur la mise au point ou bien utilisant telle ou telle technique de marquage sont très nombreuses. Il existe quelques ouvrages traitant du marquage de manière plus générale, mais ces documents sont déjà anciens (VIBERT et LAGLER, 1961; JONES, 1979; CRISTAU-QUOST, 1980; WYDOSKI et EMERY, 1983) alors que de nouvelles techniques sont récemment apparues. Les deux ouvrages les plus récents et complets sont en anglais (publications: PARKER et al., 1990; manuel pratique: NIELSEN, 1992).

I. Les techniques de marquage

A. Les marques externes

Cela peut être des marques attachées au poisson et visibles à l'extérieur de son corps (ex.: marque mâchoire, marque Carlin, spaghetti-ancre, tatouages, implants visibles. Cela peut aussi être une altération de l'apparence du poisson qui permet de l'identifier de l'extérieur (ex.: ablation de nageoires).

1. Marque mâchoire

La marque est fixée grâce à une pince spéciale au niveau de la mâchoire inférieure. Il existe plusieurs grandeurs de marques qui doivent être choisies en fonction de la taille du poisson à marquer de même que les pinces correspondantes. La marque porte un code alpha numérique.



Avantages: marquage individuel bien visible de l'extérieur; bon marché, pose assez rapide.

Limites: le marquage peut affecter la croissance et induire des blessures et des pertes de marques si la croissance est très forte entre le marquage et la recapture.

2. Marque Carlin

La marque Carlin est une étiquette plastique reliée à un fil (métallique ou nylon) double. Elle est généralement insérée juste sous la dorsale grâce à un système de deux aiguilles creuses. L'insertion juste sous la dorsale permet de profiter d'une solidité accrue liée à la présence de la base des rayons de la nageoire dorsale.



Avantages: un temps de rétention élevé, marque aisément repérable de l'extérieur, marquage individuel, possibilité d'une information additionnelle sur la marque (adresse de retour de la marque).

Limites: la pose de ce type de marque n'est pas rapide. La marque peut dans certains cas gêner la croissance, s'accrocher à des obstacles, se charger d'algues, accroître la capturabilité (par les filets), augmenter la visibilité par les prédateurs.

3. Marque spaghetti-ancre

Il s'agit d'une sorte de marque étiquette pour vêtement en forme de T dont la partie verticale a la forme d'un morceau (1 à 2,5 cm) de spaghetti coloré portant un code alphanumérique et éventuellement une adresse. Elle est insérée grâce à un pistolet manuel se terminant par une aiguille creuse et un poussoir interne à celle-ci.



Le site d'insertion de la barre horizontale du T est juste en dessous de la dorsale, juste après avoir traversé la base des rayons et sans traverser totalement le dos. Il faut s'assurer du bon ancrage de la marque en tirant légèrement sur celle-ci. L'angle d'attaque de l'aiguille est d'environ 45 degrés (avec l'arrière du corps) de manière à ce que la marque soit proche de l'axe du corps quand le poisson nage.

Avantages: l'apprentissage et l'application sont rapides. La marque permet une identification individuelle et elle est très visible de l'extérieur. Elle a une bonne tenue si l'application est bien réalisée et contrôlée au départ.

Limites: la visibilité par les prédateurs est accrue. La marque n'est pas utilisable sur de petits poissons et elle peut produire des plaies dorsales. Ces problèmes sont en partie évités par

l'utilisation de marques plus petites ayant un fil plus fin et qui sont donc injectables avec une aiguille creuse plus fine.

4. Tatouages

a) Colorants vitaux

Dans certains cas il est utile de disposer de techniques de marquage de larves ou de juvéniles sans qu'il y ait besoin d'une longue pérennité. Deux exemples peuvent être cités: l'estimation de taille d'une population par la méthode de capture-recapture, les études très brèves sur la distribution ou les mouvements des poissons.

Deux colorants ont été testés (BOUTRY, 1983) dans le cas de larves et d'alevins de corégones à la Station INRA de Thonon: le brun Bismark, le rouge neutre avec les conditions de baignade suivantes: 1) 1/25000 pendant 0,5 heure, 2) 1/50000 pendant 1 h et 3) 1/100000 pendant 2 h. L'utilisation du brun Bismark s'est avérée intéressante pour marquer avec des mortalités nulles ou négligeables la totalité des larves pendant 2 jours (condition 1) ou trois jours (conditions 2 et 3). Le rouge neutre est plus visible mais il a une tenue totale moins longue (1 jour dans les conditions 2 et 3).

Avantages: rapidité, faible coût, possibilité de marquer des larves et alevins.

Limites: marquage de groupe, très faible durée de rétention.

b) Injection ponctuelle de colorants (bleu alcyan)

La technique consiste en l'injection dans les nageoires ou la paroi ventrale d'une solution de bleu alcyan 8 GX (64 mg/ml) avec un injecteur à haute pression sans aiguille. La dissolution se fait dans l'eau distillée et il est recommandé de laisser sédimenter ou filtrer pour enlever les grosses particules. L'utilisation de prolongateurs d'embout de différentes longueurs permet d'adapter la distance d'injection, par exemple pour ne pas perforer les nageoires trop fines.



La vitesse de marquage est de 300-500 poissons par heure si le marqueur est alimenté en injecteurs déjà armés ou s'il dispose d'un injecteur à répétition (type vaccination collective). Il est recommandé de passer sous l'eau les poissons marqués pour immédiatement vérifier la présence d'une marque nette et de recommencer le marquage en cas de besoin.

Il y a souvent des besoins de marquages différentiels de groupes de poissons. L'inoculation de bleu alcyan en spot unique ou avec plusieurs spots sur une seule ou plusieurs nageoires donne

des possibilités d'identification de lots sans entraîner des effets différentiels liés au marquage. Selon l'usage du marquage, il faut prendre en compte les problèmes d'érosion des nageoires (ex.: cas de la dorsale). Dans le cas d'injection sur les nageoires, il y a très peu de mortalités et d'effets négatifs associés. Le taux de rétention de la marque est généralement bon jusqu'à un an au minimum, mais il doit être évalué pour chaque espèce.

Avantages: possibilité de marquage de lots sans biais, pas d'effets négatifs connus, peu coûteux.

Limites: perte de lisibilité avec le temps, peu adapté au poissons de moins de 10 cm.

5. Implants visibles

Les implants visibles (marques VI) ont été développés par NMT (Northwest Marine Technology Inc.). Il s'agit de morceaux rectangulaires de mylar portant un code alphanumérique. La marque est implantée sous un tissu transparent et peut donc être lue sur des poissons vivants. Deux tailles sont disponibles (standard: 1,0*2,5 mm pour les poissons de 15-30 cm et grande: 1,5*3,5 mm pour les poissons de plus de 30 cm; épaisseur: 0.1 mm) ainsi que 6 couleurs.



Plusieurs sites d'implantation des implants visibles ont été testés: lentille de tissu adipeux en arrière (salmonidés) ou autour de l'oeil, nageoire adipeuse, sous la mâchoire inférieure, entre les rayons de nageoires de certains gros poissons. Pour chaque espèce il est recommandé de consulter la bibliographie des données déjà acquises la concernant.

Dans le cas de l'implantation en arrière de l'oeil, le point d'attaque de l'injection est dorsal, et la poche doit être la plus longue possible vis à vis de la surface disponible. La marque est insérée dans le fond de la poche, positionnée perpendiculairement à l'axe antéro-postérieur. L'utilisation d'un linge ou d'une toile éponge humidifiée avec une fenêtre à l'aplomb de l'oeil peut faciliter l'injection de la marque. Le taux de rétention d'implants post-oculaires (1,0*2,5 mm) chez la truite fario s'accroît avec la taille. Avant d'utiliser la technique, il faut bien distinguer deux types de problèmes: la rétention de la marque et sa lisibilité. La vitesse de marquage varie entre 50/h et 150-200/h dans le cas de personnes expérimentées.

Avantages: marquage individuel lisible de l'extérieur sur des poissons vivants, coût moyen, pas d'impact négatif connu.

Limites: non recommandé pour des poissons de moins de 18 cm, marque pouvant s'opacifier avec le temps, ce qui peut annuler la lisibilité de l'extérieur et nécessiter l'extraction de la marque.

6. Ablation de nageoires

Ces techniques englobent l'enlèvement partiel ou total de nageoires. Mis à part la nageoire adipeuse des salmonidés bien coupée à ras, les autres nageoires repoussent (sont régénérées) plus ou moins fortement et différemment selon le type de coupe. Il faut donc bien distinguer si les objectifs du marquage sont à court ou long terme.



En cas de suivi à court terme, des ablations partielles peuvent être suffisantes mais il faut savoir que la régénération peut se faire en quelques semaines à quelques mois. Pour les suivis de longue durée, une ablation proche de la base de la nageoire est recommandée car elle permet une identification permanente. Il faut alors utiliser des ciseaux fins (ex.: type iréductomie).

D'après les données bibliographiques on peut préconiser par ordre de traumatisme croissant l'ablation de: l'adipeuse, d'une pelvienne, puis ensuite d'une pectorale alors que l'ablation de la dorsale, de la caudale et de l'anale est déconseillée.

Alors que la croissance est généralement peu altérée, les effets sur la mortalité sont plus variables.

Dans le cas plus simple où l'on souhaite comparer entre deux lots marqués on peut utiliser l'ablation d'une nageoire paire (préférentiellement une pelvienne), la gauche pour un lot et la droite pour un autre.

Dans le cas des salmonidés on peut ajouter l'ablation de l'adipeuse (marque supplémentaire) ou non, ce qui permet d'accroître le nombre de lots pouvant être comparés entre eux.

Aux petites tailles (3-6 cm) il est très difficile de couper rapidement et totalement l'adipeuse des salmonidés avec de simples ciseaux, même très fins. CHAMPIGNEULLE et ESCOMEL (1984) ont mis au point et décrit une technique permettant le marquage de petits salmonidés à partir d'une taille de 3 cm par cautérisation de l'adipeuse.

B. Les marques internes

Ce sont des marques (objets) entièrement implantés dans le corps du poisson (ex.: micromarques magnétiques, marques électroniques). Selon les cas, la reconnaissance de certaines d'entre elles nécessite le sacrifice du poisson ou bien l'information totale ou partielle peut être obtenue sans sacrifier ou dénaturer le poisson.

1. Micromarques magnétiques

La marque est un petit morceau d'un fil d'acier inoxydable (diamètre: 0,25 mm). La longueur la plus courante (marque entière) est 1,1 mm, mais pour les poissons plus petits des demi-marques peuvent être utilisées. Les micromarques sont injectées à l'aide d'une machine permettant la découpe du fil et l'injection de la marque au travers d'une aiguille creuse. Il existe également un injecteur semi-manuel. Avec un ruban de fil codé on peut marquer environ 10000 poissons et identifier un groupe donné. Cependant il existe de nouveaux rubans dit séquentiels qui donnent des possibilités de marquer des groupes différents avec le même rouleau de fil.

Le poisson est ensuite passé dans un autre équipement qui magnétise et sépare les poissons ayant ou non retenu la marque. L'implantation la plus courante est réalisée dans le cartilage nasal après avoir positionné le poisson grâce à un embout ajusté à sa taille et à la forme de la tête. Les poissons doivent être triés avant marquage et l'on doit avoir une série d'embouts bien ajustés aux différentes gammes de taille d'une espèce donnée.

Sur le terrain, la présence d'une marque est contrôlée par un détecteur. Si l'on souhaite reconnaître le code de la marque, il faut généralement l'extraire, ce qui implique de travailler sur des poissons morts. Il y a cependant des possibilités de distinguer des groupes de poissons en les laissant vivants:

- quand le constat que le poisson porte une micromarque est suffisant.
- pour des poissons assez grands, il est possible de positionner la marque à différents emplacements du corps et d'utiliser un détecteur à rayon d'action précis. De nouveaux positionnements de la marque pour la rendre visible de l'extérieur et/ou l'extraire sans avoir à sacrifier le poisson ont été testés avec succès: tissu transparent autour de l'oeil, nageoire adipeuse et entre les rayons de nageoires, dans le dos juste sous la dorsale.
- il existe un embout permettant l'injection de marques plates lisibles aux rayons X. Cependant la technique de lecture est très lourde et contraignante. Par ailleurs le fait que, pour les marques plates lisibles aux rayons X la taille de l'aiguille d'injection est plus grosse, limite les possibilités de marquage de petits poissons.

L'utilisation de la technique de marquage magnétique a été testée par CHAMPIGNEULLE (1987) sur de très petits alevins d'omble chevalier. Le marquage a été pratiqué à l'aide du système Northwest Marine Technology avec la version MKII permettant l'injection de demi-marques codées (longueur: 0,5 mm; diamètre: 0,25 mm) dans le cartilage nasal. L'étude a montré que cette technique est praticable sur des alevins de très petite taille (2 à 3 cm) à condition d'implanter la demi-marque dans le cartilage situé juste en arrière de la ligne (fictive) joignant les deux cavités olfactives. En cas d'implantation juste en avant de cette ligne, le taux de rétention des marques à un mois est très faible, voisin de 18%, alors qu'il passe à 98% dans le cas de l'implantation plus profonde (CHAMPIGNEULLE, 1987). Pour avoir une bonne implantation il faut par ailleurs avoir un embout spécifique (bouche fermée), une aiguille très aiguisée selon un angle très faible. En conditions de pisciculture, après un mois d'élevage, la survie des alevins marqués magnétiquement est élevée (>95%) et non significativement différente de celle des individus non marqués. Après un mois d'élevage suivant le marquage, la taille moyenne des alevins marqués magnétiquement n'est pas significativement différente de celle des individus non marqués.

Pour une personne entraînée, la vitesse de marquage est de 250-300/heure/personne pour les très petits (2-3 cm) alevins d'omble et de 400-500/heure/personne pour des petits ombles de 4-5 cm. Pour de gros juvéniles (8-10 cm) la vitesse de marquage atteint 600-800/personne/heure (CHAMPIGNEULLE, données non publiées). CHAMPIGNEULLE (données non publiées) a testé avec succès le marquage de corégones de 3-5 cm avec des demi-marques (0,5 mm).

Avantages: peu d'effets négatifs connus, possibilité d'utilisation sur des petits poissons (idéal à partir de 5-7 cm, mais possible dès 2,5-3 cm), bonne rétention des marques si l'emplacement est optimisé, bonne vitesse de travail (500-700/machine/heure), contrôle des poissons marqués pouvant être semi-automatisé, coût minime des marques (environ 0,4 F pièce).

Limites: marquage de groupes, les meilleurs sites d'implantation varient selon les espèces et les classes de taille, nécessité d'un personnel formé, nécessité de travailler sur des poissons morts dans le cas de certaines implantations dont la plus courante dans le cartilage nasal. Le coût de l'équipement est élevé mais il peut être loué. La marque n'est généralement pas visible de l'extérieur, ce qui implique d'ajouter une autre marque (ex: ablation d'adipeuse) pour permettre une reconnaissance rapide sur les sites non équipés en détecteurs.

2. Marques électroniques

La marque électronique (parfois appelée PIT: passive integrated transponder) comprend une micropuce permettant une identification individuelle et une antenne, le tout scellé dans une enveloppe en verre de 12*2,1 mm. Elle ne comprend pas de source d'énergie propre et c'est le système de lecture fixe ou manipulé à la main à courte distance (à moins de 10 à 20 cm selon les marques) qui permet de fournir l'énergie nécessaire pour reconnaître le code de la marque. Il existe des détecteurs immergeables (plaques ou cylindre d'identification ou fil) pouvant être placés en tant que passage obligé dans une passe à poissons.

La marque est généralement introduite dans la cavité générale par une injection ventrale pratiquée entre pectorales et pelviennes avec un trocart spécial ou un injecteur semi-automatique (vitesses respectives de 150 poissons/h et 300/h). L'angle d'attaque est de 45 degrés (et la pénétration initiale est de 2-3 mm pour accéder à la cavité générale, puis l'aiguille est ensuite redressée parallèlement au corps pour ne pas endommager les viscères en déposant la marque. Un contrôle de rétention et de lecture de la marque est ensuite réalisé.

Avantages: marquage individuel permanent permettant des lectures répétées, peu d'effets négatifs connus, bon taux de rétention, bien adapté au suivi individuel de poissons.

Limites: coût relativement élevé (30 FF pièce), distance de détection réduite, marque non visible extérieurement.

C. Les marques chimiques

Ce sont des composés, soit accumulés naturellement soit introduits artificiellement par l'homme, qui permettent d'identifier les poissons marqués. Par extension, ce peut être également des variations induites par l'homme dans les dépôts des substances constituant certaines structures, otolithes par exemple. L'otolithométrie et le marquage des otolithes sont en pleine expansion.

1. Marquage des otolithes

Les otolithes sont des concrétions calcaires situées dans l'oreille interne des poissons. Ils interviennent dans l'équilibre des poissons. Ils sont présents dès la fin du stade embryonnaire (en fin d'incubation pour les oeufs de salmonidés) et s'accroissent ensuite avec le développement de l'organisme. Il existe trois paires d'otolithes: les sagittae, les asterici et les lapillii. Les sagittae, logées dans la partie ventropostérieure de la capsule auditive sont les plus utilisées chez les Salmonidés car ce sont les plus volumineuses et les plus faciles à prélever.



Les otolithes de poisson sont formées de cristaux de carbonate de calcium (aragonite) disposés de manière concentrique autour des nucléi (partie centrale de l'otolithe) et enrobés dans une matrice d'otoline. L'otolithe croît par apposition d'un nouveau matériel à sa périphérie. Les variations structurales et chimiques des zones concentriques sont contrôlées par des changements dans la physiologie du poisson et des fluctuations de l'environnement. Ce phénomène conduit à la formation d'une alternance de zones (macro et microstructures) plus ou moins larges et espacées hyalines (apparaissant noires) alternant avec des zones opaques (apparaissant blanches) qui sont visibles sur des otolithes polis observés en microscopie optique.

Des marques peuvent être faites sur les otolithes de deux principales façons:

- Otolithomarquage thermique (modification des microstries par la température)
- Fluoromarquage des otolithes (2 exemples donnés)
 - principe du fluoromarquage des otolithes
 - fluoromarquage au chlorhydrate de tétracycline
 - fluoromarquage à l'alizarine

a) Otolithomarquage thermique

Des premières expériences réalisées par MOSEGAARD et al. (1985) avaient suggéré la possibilité de marquer des alevins vésiculés de saumon atlantique (*Salmo salar*) par des modifications de la photopériode et de la température de l'eau qui entraînaient des modifications reconnaissables de la microstructure des otolithes. Deux études ont ensuite montré la possibilité de marquer en masse des oeufs en fin du stade oeillé et des alevins de cristivomer (*Salvelinus namaycush*) (BROTHERS, 1990) et de saumon chum (*Oncorhynchus keta*) (VOLK et al., 1990). ROJAS BELTRAN et al. (1993) ont montré dans une étude préliminaire qu'il était possible de provoquer sur des otolithes de larves de corégones des variations de microstries par un choc thermique (passage de 10,5 à 5,5 °C en 2 heures).

VOLK *et al.* (1994) ont montré la possibilité de marquer des otolithes de juvéniles des cinq espèces de saumon du Pacifique (*Oncorhynchus* sp) une semaine après l'éclosion et la persistance des marques pendant au moins 5 ans. Les alevins en résorption dans une eau à 12 °C subissent des expositions de 4 h. Un laps de temps de 44 heures ou de 92 heures entre deux passages en eau refroidie produit sur l'otolithe une bande optiquement peu dense et dont la largeur varie du simple au double entre les stries sombres (zone optiquement dense) marquant les passages en eau froide. L'éclosion ne doit pas arriver en cours de traitement car la marque d'éclosion ressemble à la marque de choc froid. Il faut s'assurer qu'embryons et alevins supportent bien les chocs thermiques imposés. La sagitta est incluse dans de la résine puis polie jusqu'au nucleus. Le marquage de type code barres peut être lu au microscope en lumière transmise (gross. x 200) le long d'un axe de la sagitta. La lecture peut être faite par analyse d'images mais il faut avoir au préalable réalisé une lame mince (épaisseur de 80 microns) de l'otolithe passant par le nucleus. MUNK *et al.* (1993) décrivent une installation de contrôle de la température utilisée dans une éclosérie pour marquer thermiquement plusieurs dizaines de millions d'oeufs et d'alevins vésiculés de saumons du Pacifique.

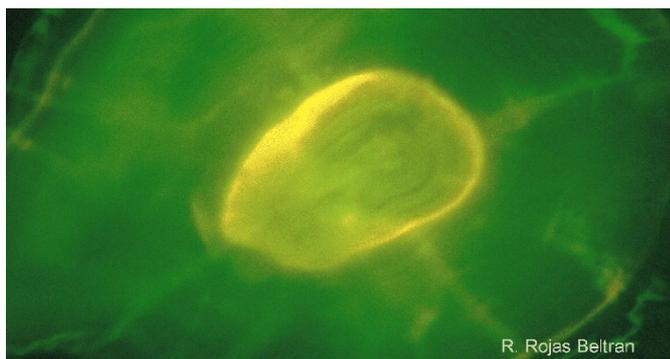
Le marquage thermique offre la possibilité théorique de différencier plusieurs dizaines de lots différents et même plusieurs centaines dans le cas des espèces des genres *Salmo*, *Salvelinus* et *Oncorhynchus* en raison d'une longue période de résorption pour l'alevin vésiculé.

b) Principe du fluoromarquage des otolithes

Les techniques de fluoromarquage des otolithes connaissent un développement récent car elles permettent la pratique de marquage de masse. Cependant, les conditions de leur emploi ne sont pas encore totalement maîtrisées. Les réactions des poissons (mortalités au moment du marquage ou différées), le taux de marquage et la rétention des marques peuvent changer d'une espèce à l'autre pour un même protocole de marquage. Il est donc nécessaire de réaliser des expérimentations spécifiques. Par ailleurs même dans le cas d'espèces déjà évaluées, il est expressément recommandé de toujours faire un essai préliminaire en situation avant de se lancer dans une opération de marquage chimique à grande échelle. En effet des effets liés au changement d'échelle, à la qualité d'eau (pH, oxygène, etc.), à l'état physiologique des poissons peuvent parfois induire des mortalités importantes.

Le marquage chimique des otolithes a été pratiqué avec succès avec trois principaux marqueurs: la tétracycline, l'alizarine et le chlorure de strontium. Trois types d'administration sont utilisables (baignade, alimentation et injection). Le présent article traite principalement de la technique par baignade qui est la plus adaptée au marquage en masse réalisable dès les stades précoces ne se nourrissant pas encore. Ces nouvelles techniques ouvrent la possibilité de marquer en masse et rapidement les oeufs oeillés avancés ou des larves lorsqu'ils sont rassemblés et facilement disponibles sous un faible volume dans les écloséries. Par ailleurs, la méthode offre la possibilité de pratiquer plusieurs marquages pour tenter de distinguer des lots, par exemple en fin du stade oeuf oeillé et en fin de la résorption pour les salmonidés.

Le fluorochrome se fixe sur les structures en voie de minéralisation (os, dents, cartilages calcifiés, otolithes). Les substances utilisées ont la propriété d'absorber les rayons UV et d'émettre une fluorescence dans le spectre visible. Cette propriété est utilisée pour le repérage du marqueur à l'échelle microscopique avec un microscope équipé pour l'épifluorescence.



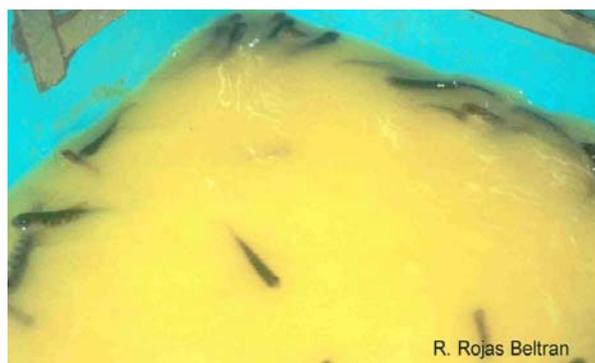
La tête est disséquée jusqu'à faire apparaître le plancher des capsules auditives. Ce dernier est ensuite ouvert pour accéder aux sacculi contenant les otolithes (sagittae). Les 2 sagittae sont prélevées avec des pinces fines et débarrassées des matières organiques résiduelles. Chaque otolithe est collé (coté convexe vers l'extérieur) séparément sur une lame de verre avec une thermocolle (colle CRYSTALBOND 509 AREMCO/TTA) chauffée à 121°C. Il faut veiller à enlever les bulles d'air existant sous l'otolithe car celles-ci peuvent émettre une fluorescence parasite. Les otolithes sont polis sur des plaques de granulométrie différente, la finition s'effectuant avec une solution d'alumine hydratée (1 à 3 microns). L'évolution du polissage pour atteindre et ne pas dépasser le centre de l'otolithe est suivie par plusieurs contrôles sous microscope.

c) Fluomarquage à la tétracycline avec choc osmotique

Cette technique a été utilisée pour la première fois par ALCOBENDAS et al. (1991) sur des civelles de 7-8 cm. Le laboratoire INRA de Thonon (ROJAS BELTRAN et al. 1995 a et b) a testé cette technique sur des oeufs ocellés avancés de corégone, omble chevalier et truite commune et des alevins vésiculés d'omble chevalier et de truite commune. La pratique d'une balnéation avec choc osmotique permet de forcer le fluorochrome à rapidement passer à l'intérieur des embryons ou des alevins.

La technique a donné de bons résultats à grande échelle (faible mortalité et bonne rétention des marques) dans le cas d'alevins vésiculés d'omble chevalier et de truite commune. Ces derniers subissent une balnéation rapide (3 min à 3,5 mm) dans une solution salée (5% NaCl/l) de chlorhydrate de tétracycline (1% CHTC/l). Les lots d'alevins vésiculés de truite ou omble sont manipulés dans des clayettes. La solution de marquage est réalisée en remplissant un bac pouvant contenir les clayettes avec l'eau de l'écloserie. Le sel est ensuite ajouté (5% de NaCl). La solution est alors bien mélangée afin de bien dissoudre le sel. Ensuite le chlorhydrate de tétracycline est incorporé petit à petit jusqu'à obtenir alors une solution bien homogène dans tout le bac. Les clayettes d'incubation-résorption contenant les alevins sont alors immergées dans cette solution pendant 3 à 3,5 minutes selon le comportement des alevins.

Si les alevins sont déjà immobiles au bout de 3 min le lot est retiré du bain, sinon la balnéation est poursuivie jusqu'à l'immobilisation mais jamais au delà de 3,5 min. La clayette est ensuite immédiatement remise en eau claire.



Les oeufs au stade oeuillé avancé de corégone, truite ou omble chevalier ont été marqués avec succès dans le même type de solution de chlorhydrate de tétracycline mais avec un temps de balnéation plus long (10 à 30 min). Des taux de rétention voisins de 100 % à 3 ans ont déjà été obtenus. Cependant la réalisation de marquages à grande échelle dans des conditions variées (eaux, oeufs, température, pH, etc.) a montré une grande variabilité dans les taux de mortalité initiale et de rétention des marques. Ces variations inexpliquées conduisent à préconiser la prudence dans l'utilisation du fluoromarquage avec choc osmotique au stade oeuf chez les salmonidés.

d) Fluomarquage à l'alizarine

Même si le marquage réalisé avec la tétracycline à des stades précoces permet de minimiser les effets possibles indésirables dus à l'usage d'antibiotiques, il est apparu important de s'orienter vers l'utilisation de fluoromarqueurs de substitution. L'alizarine complexone (AC) a été utilisée avec succès en balnéation et le plus souvent dans la gamme 12-24 h en solution de 25 à 200 ppm pour les salmonidés. TSUKAMOTO et al. (1989 a) ont marqué avec succès des oeufs oeuillés avancés (200-400 AC mg/l; balnéation de 24 heures), des alevins vésiculés (50-100 mg AC/l en 24 h) et des alevins en fin de résorption (50-200 mg AC/l en 24 h) provenant de plusieurs espèces (saumons du Pacifique, truite arc en ciel et omble). TSUKAMOTO et al. (1989 b) ont marqué des larves et juvéniles de *Pagrus major* (7 à 25 mm) par balnéation de 24 h dans une solution de 50-200 mg AC/l. La bonne rétention des marques a été confirmée après deux ans, de même que l'absence d'effet négatif sur la croissance et la survie. TSUKAMOTO et al. (1989 a et b) ont par ailleurs montré la possibilité de répéter plusieurs fois (3 à 6 fois) la balnéation pour permettre de distinguer plusieurs lots. Deux études récentes (BLOM et al., 1994; BECKMAN et SCHULZ, 1996) comparent l'utilisation de l'alizarine complexone (AC) et l'alizarine redS (ARS). L'intérêt de l'ARS est multiple: a) l'ARS est certifiée par la BSC (Biological Stain Commission) pour son usage pour le marquage des squelettes de petits vertébrés et différencier os et cartilage chez les mammifères (BLOM et al., 1994). L'AC n'a pas cette certification. b) son prix est très inférieur (2 à 9 F/g selon la quantité et le degré de pureté) à celui de l'AC (160 F/g). c) comme l'AC, il produit une couleur de marque facilement distinguable de la fluorescence naturelle. Cependant, contrairement au cas de l'AC, il y a encore peu de recul et d'études sur l'utilisation de l'ARS. BLOM et al. (1994) ont marqué avec succès (100% de marquage et persistance minimale contrôlée de 5 mois) des juvéniles (1,25 g) de morue (*Gadus morhua*) par une balnéation de 24 heures dans une solution d'ARS à 100 mg/l. Des taux de mortalité faibles et une bonne qualité des marques ont été obtenus pour l'ARS à 100 mg/l utilisée en balnéation de 24 h sur les oeufs et larves mais des concentrations supérieures (200-400 mg/l) ont provoqué de très fortes mortalités sur les larves de morue (BLOM et al., 1994). BECKMAN et SCHULZ (1996) ont marqué avec succès (100% de

marquage et mortalités faibles: 0-3%) des larves de *Catostomus commersoni* par une baignade de 12 ou 24 heures dans une solution d'ARS de 200-300 mg/l. Les marques ont persisté au moins pendant 160 jours. Le succès du marquage avec l'ARS a été, pour les mêmes conditions d'emploi, identique à celui obtenu avec l'AC. L'AC ou l'ARS ont surtout été utilisées en baignade longue (généralement 24 h et parfois 12 h). Quelques auteurs (ROJAS BELTRAN, données non publiées; JOURDAN, 1995; NAGIEC et al., 1995; CACHERA 1997) ont mené des expérimentations visant à utiliser l'ARS sur des durées plus courtes (1 h ou 3-4 h) susceptibles de faciliter la mise en oeuvre et la surveillance du marquage dans les conditions pratiques en pisciculture. NAGIEC et al. (1995) font état de trois expériences où l'ARS a été utilisée avec succès en baignade de 3-4 h dans une solution de 70 mg ARS/l pour marquer des larves (14-15 mm) d'ombre commun (*Thymallus thymallus*). Les pertes au marquage ont été inférieures à 1%. Les auteurs indiquent un taux de rétention allant jusqu'à 718 jours post-immersion pour une taille atteinte de 250 mm. JOURDAN et ROJAS BELTRAN (données non publiées) et CACHERA (1997) ont réussi le marquage d'oeufs oeillé avancés de corégones par baignade de 3 heures dans des solutions d'ARS de 200 mg/l. Des marquages ont été pratiqués à grande échelle avec des alevins vésiculés de truite commune par baignade de 3 heures dans des solutions de 100 à 200 mg d'ARS/l (ROJAS BELTRAN et CHAMPIGNEULLE, données non publiées).

D. Les marques naturelles

Les marques naturelles peuvent être regroupées en trois principaux groupes, sachant que les marques génétiques en font partie mais que leur potentiel justifie d'en faire une catégorie à part.

Les marques morphométriques sont des caractéristiques de la forme du corps ou de certains éléments du corps (ex.: écailles, otolithes, couleur ou autres caractéristiques de la robe).

Les marques méristiques sont des différences intraspécifiques quantitatives par exemple dans le nombre de vertèbres, de branchiospines, de rayons de nageoires, de caeca pyloriques, de marques de parrs, de ponctuations de la robe.

La présence-absence ou la différence de fréquences de macroparasites variant d'un lieu ou d'un groupe de poisson à l'autre.

E. Les marques génétiques

Elles identifient le profil génétique d'un poisson à partir de tests biochimiques réalisés sur des fragments du corps du poisson. Pour les marques génétiques, l'internaute pourra consulter le numéro spécial 302 du Bulletin français de pêche et pisciculture portant plus généralement sur la génétique des poissons.

F. Les marques acoustiques

Ce sont des marques (externes ou internes) qui transmettent un signal (radio ou ultrasons) qui est réceptionné par une station fixe ou mobile. Pour les marques acoustiques, l'internaute pourra consulter le numéro spécial 314 du Bulletin français de pêche et pisciculture.

II. Planification et mise en œuvre d'une campagne de marquage

La phase de marquage proprement dite n'est qu'une étape d'une campagne de marquage. Cette dernière comprend les étapes suivantes (Figure):

Planification initiale et choix de la technique de marquage

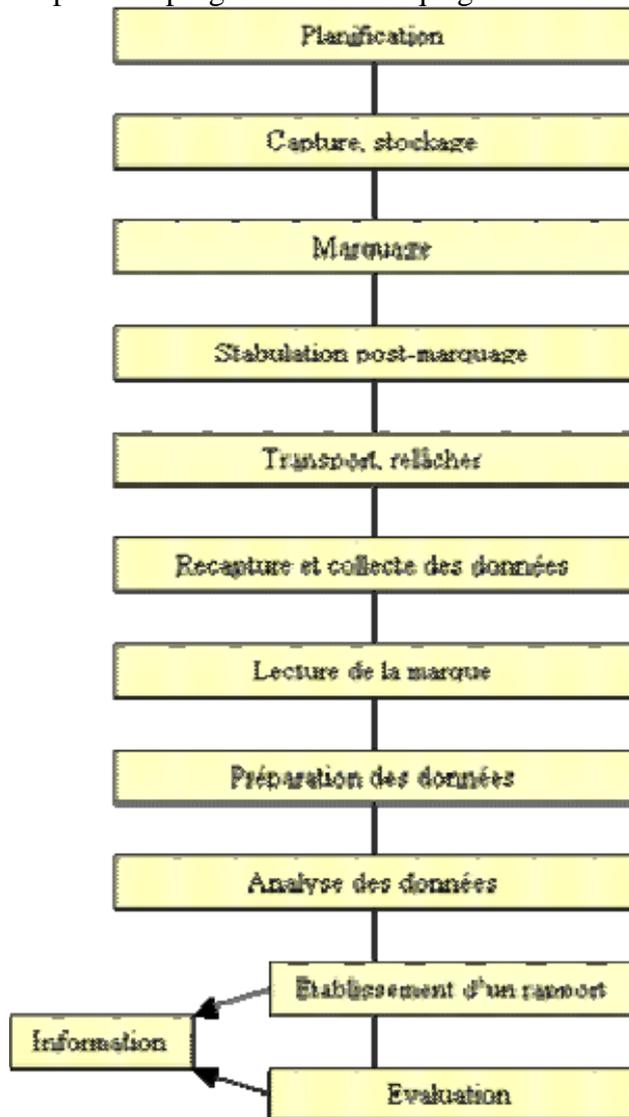
Marquage

Stabulation post-marquage et relâcher des poissons marqués

Recapture des poissons marqués

Analyse et diffusion des résultats

Etapes d'un programme de marquage



A. Planification initiale et choix de la technique de marquage

La phase de planification initiale permet de fixer les objectifs de la campagne de marquage en les replaçant dans leur contexte général (recherche, gestion). Il est conseillé de se poser la question de la réelle utilité de la campagne de marquage et d'évaluer les techniques

alternatives. Par exemple dans les évaluations de repeuplements, les alternatives peuvent être: l'étude des statistiques de déversement et de pêche, l'annulation de certains relâchers pour une période donnée ou selon une fréquence donnée, la réalisation d'un plan d'expérience lorsque l'on dispose de plusieurs milieux pour tester des stratégies différentes.

Parmi les critères à prendre en compte pour définir la technique de marquage, on peut citer:

marquage individuel ou de groupe (combien de groupes ?).

espèce, forme, taille et nombre de poissons.

moyens humains, techniques et financiers pour le marquage et le contrôle des recaptures.

la durée de l'étude (conséquences pour la croissance et les migrations des poissons marqués).

si le poisson marqué doit être identifié une seule fois ou plusieurs fois.

si les poissons marqués doivent être gardés vivants ou non.

le processus de contrôle des poissons.

L'évaluation des risques encourus (ex.: faible probabilité de pouvoir conclure, moyens insuffisants, risque pour la population étudiée, etc.) fait partie de la diagnose initiale. Dans les campagnes de marquage on cherche à minimiser les effets négatifs du marquage sur le comportement, la croissance et la survie. De même lorsque l'on compare des lots marqués différemment, il faut évaluer ou éviter les éventuels effets différentiels liés aux divers types de marquage pratiqués. Des campagnes de marquage réalisées trop ponctuellement peuvent conduire à des conclusions erronées. Encore trop peu de campagnes de marquages sont répétées dans le temps et/ou l'espace. Il est parfois possible de concevoir pour un lot source donné des marquages différents pour des sous-lots, ce qui permet une approche de la variabilité.

Il faut savoir si le même type de marquage n'est pas simultanément pratiqué dans la même zone sur d'autres lots par d'autres personnes, ce qui apporterait un risque de confusion. L'utilisation pendant plusieurs années de suite d'un même type de marque non distinguable d'une année à l'autre implique la reconnaissance des cohortes et donc la détermination de l'âge des poissons contrôlés. On peut faire appel à des données publiées sur la vitesse de travail de manière à cadrer le nombre d'heures-personnes nécessaires et donc mieux évaluer les coûts et les moyens.

Lorsque l'option du marquage est prise et la technique choisie, toutes les phases allant du marquage au suivi complet des poissons marqués doivent être prises en compte, évaluées et planifiées. Il est conseillé d'avoir un protocole écrit suffisamment précis qui soit soumis d'une part à une analyse critique sur le plan scientifique et d'autre part à l'avis des diverses parties prenantes.

B. Marquage

Echantillonnage des poissons à marquer

Lorsqu'une seule fraction de la population étudiée est marquée, il est déterminant qu'elle soit la plus représentative possible de cette dernière. Par ailleurs il faut faire des évaluations du nombre de poissons à marquer en prenant en compte des données sur la taille de la population non marquée réceptrice, ou des hypothèses sur les taux de contribution attendus des marqués et sur l'effort d'échantillonnage pouvant être mobilisé sur la population cible. Il faut que le nombre de poissons marqués soit assez grand pour fournir la précision statistique désirée.

Le marquage proprement dit

Les opérations de stabulation et marquage doivent être supervisées sur place par la présence d'une personne expérimentée et si possible habilitée à l'expérimentation animale. Tout doit être mis en oeuvre pour manipuler les poissons dans de bonnes conditions et minimiser les pertes (respect de l'animal et de son bien-être). Il faut un grand soin dans les conditions de stabulation (température, qualité et renouvellement d'eau) et de marquage pour limiter au maximum les stress pouvant affecter le comportement et la survie des poissons marqués relâchés. Il est recommandé d'éviter des chocs thermiques (par exemple un passage en eau trop froide est mal supporté si l'écart dépasse 3-4 °C).

Lorsque c'est possible, il est conseillé de ne commencer le marquage qu'après au moins un jour de stabulation préalable après le transfert. Les manipulations sur des juvéniles de salmonidés sont plus faciles quand la température de l'eau est inférieure à 15 °C. Il est déconseillé de faire du marquage par temps très orageux car les alevins semblent alors moins bien résister aux manipulations. Pour bien les manipuler sans les blesser, il est généralement nécessaire d'anesthésier les poissons, cette technique doit donc être bien maîtrisée. Après le marquage, un traitement sanitaire (désinfectant externe, bactéricide, voire antibiotique en cas de risques d'infection) est effectué. On recommande de stériliser certains équipements entre les différentes étapes du marquage.

Il faut également que la procédure de marquage soit standardisée de manière à maximiser les chances que tous les poissons soient également marqués. Dans beaucoup de cas il faut du personnel bien entraîné ou bien une phase de formation initiale pour limiter les variations entre les marqueurs. Il est important d'introduire une procédure de contrôle de la qualité du marquage au cours de la campagne de même qu'un contrôle permanent de la bonne récupération des poissons après marquage. Il doit y avoir une évaluation immédiate du taux de perte de marques de manière à pouvoir corriger au plus vite un éventuel défaut détecté.

C. Stabulation post-marquage et relâcher des poissons marqués

Lors des relâchers de poissons marqués (ex.: repeuplements) il est souhaitable de dissocier dans le temps les opérations de marquage-transport-relâcher de manière à ne pas cumuler des stress, ce qui est néfaste à la survie des poissons déversés. Par ailleurs le temps de stabulation post-marquage va permettre d'évaluer les effets négatifs (mortalité ou stress différé) lié au marquage et l'on aura ainsi une meilleure estimation du nombre et des caractéristiques des poissons marqués déversés en bon état. La stabulation post-marquage permet aussi parfois de limiter les effets différentiels potentiels pouvant être introduits par la pratique de marquages différents.

Il est nécessaire de réaliser, juste avant le déversement, un échantillonnage de poissons marqués pour recueillir les données de taille, poids et faire un dernier contrôle de rétention de marques. Par ailleurs il ne faut pas oublier de prélever sur un échantillon de poissons les structures (écailles, otolithes, opercules, cleitrum) permettant leur caractérisation au moment du déversement. Ces informations seront utilisées et comparées à celles des poissons marqués et non marqués ultérieurement capturés (schéma de croissance, marques et faux anneaux divers, distinction de populations).

Il faut connaître le nombre précis de poissons marqués déversés, c'est à dire qu'il faut soit refaire un comptage juste avant leur déversement, soit avoir suivi précisément les mortalités au cours de la phase de stabulation post-marquage si le nombre de poissons initialement marqués était connu. Il ne faut pas oublier de comptabiliser les morts au cours de la phase transport-déversement.

Les conditions physico-chimiques des milieux de stabulation/transport/milieu récepteur, le mode de dispersion et les sites, heures, périodes de déversement des poissons marqués jouent probablement un rôle essentiel sur le succès du relâcher de poissons marqués, c'est à dire leur meilleure insertion possible dans la population et le milieu récepteur. On peut dans certains cas prévoir une stabulation préalable in situ avant de procéder à la phase de relâcher proprement dite. Des recherches restent à faire pour optimiser la phase préparatoire au relâcher et le relâcher des poissons marqués en fonction des types de campagnes de marquage.

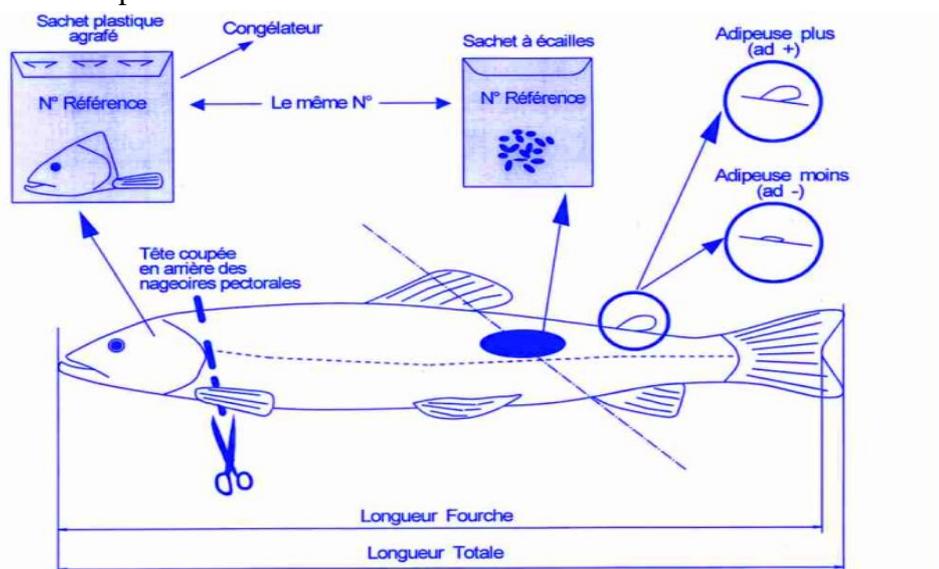
Il peut être utile et même nécessaire dans certains cas de garder un lot témoin en pisciculture de manière à évaluer les problèmes de mortalité différée, de quantifier en fonction du temps les pertes de marque ou l'évolution de leur lisibilité au cours du temps.

D. Recapture des poissons marqués

C'est souvent une phase laborieuse sous-évaluée (en temps, moyens) dans beaucoup de campagnes de marquage. Or dans tous les cas, la qualité de la phase finale d'échantillonnage des poissons marqués est déterminante.

La façon de réaliser cette phase est très variable et dépend des objectifs du marquage, des techniques utilisées, du rapport poissons marqués/population totale et du niveau d'exploitation ou d'échantillonnage développé sur la population étudiée. Dans tous les cas il faut avoir un plan d'échantillonnage qui permette la récolte d'une information statistiquement valide.

Lorsque les informations sont fournies par des personnes extérieures à la campagne de marquage (pêcheurs non volontaires pour le suivi, négociants en poissons), le niveau de précision des informations collectées doit être évalué. Il faut par exemple s'assurer que les pêcheurs reconnaissent bien la droite et la gauche d'un poisson et fournir un schéma de prélèvement explicite.



La phase d'information et de soutien de l'intérêt porté au suivi est donc essentielle. Par ailleurs il faut éviter un écueil fréquent qui est celui de personnes signalant la capture de poissons marqués sans les remettre dans le contexte de l'échantillon contrôlé. Il faut en effet pouvoir évaluer le nombre de marqués et de non marqués et préciser la composition de l'échantillon examiné. Il faut enfin avoir un site de centralisation des données.

E. Analyse et diffusion des résultats

La détection et l'analyse de la marque sont dans certains cas une affaire de spécialistes quand il y a besoin d'analyses complémentaires (marquages chimiques, génétiques, etc.) ou des problèmes de lisibilité des marques nécessitant une formation et/ou un équipement particulier. L'utilisation d'analyses statistiques est nécessaire pour l'obtention de conclusions fiables.

La qualité des données dépend beaucoup de la planification initiale et de l'adéquation entre l'objectif (contribution à un stock, estimation d'abondance, étude de migration ou de croissance, etc.) et les techniques mises en oeuvre.

Enfin il est important qu'il y ait un retour d'information sur les résultats du marquage qui soit fait à l'ensemble des participants.

Bibliographie

BOUTRY E. 1983 - Les corégones du Léman: pêche, repeuplement et essais d'élevage de juvéniles en cages immergées. Rapport Institut de Limnologie de Thonon, 10, 32p.

CHAMPIGNEULLE A. 1987 - Note technique. Marquage d'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*) de petite taille par injection de micromarques magnétisées. Bull. Fr. Peche Piscic., 304, 22-31.

CHAMPIGNEULLE A. et ESCOMEL J. 1984 - Marquage des salmonidés de petite taille par ablation de l'adipeuse ou des nageoires pelviennes. Bull. Fr. Piscic., 293-294, 52-58.

CRISTAU-QUOST I. 1980 - Essais d'étude comparative de différents types de marquage de poissons. Observations histologiques préliminaires de l'effet du cryomarquage. Thèse Doct. 3 ème cycle Univ. Lyon I Ecologie fondamentale et appliquée aux eaux continentales. 1 vol., 643 pp.

JONES R. 1979 - Materials and methods used in marking experiments in fishery research. FAO Fish. Tech. Pap., 190, 134 p.

NIELSEN L.A. 1992 - Methods for marking fish and shellfish. Am. Fish. Soc. Spec. Pub., 23, 208 pp.

PARKER N.C., GIORGI A.E., HEIDINGER R.C., JESTER D.B., PRINCE E.D., WINANS G.A. 1990 - Fish marking techniques. Am. Fish. Soc.Symp., 7, Bethesda, Maryland USA, 1 vol, 879 pp.

VIBERT R., LAGLER K.F. 1961 - Pêches continentales. Biologie et aménagement. Dunod ed, Paris.

WYDOSKI R., EMERY L. 1983 - Tagging and marking. In: Fisheries techniques, NIELSEN L.A. and JOHNSON D.L. (eds), 215-237, Amer. Fish.Soc., Bethesda, Maryland.