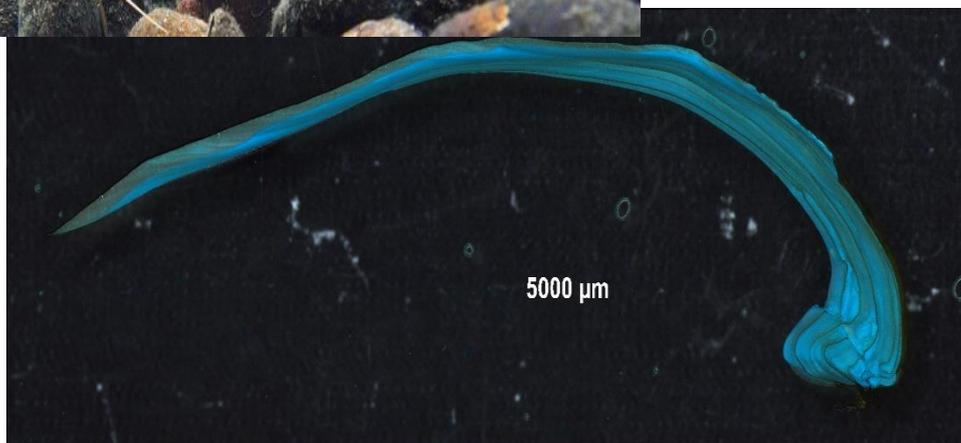
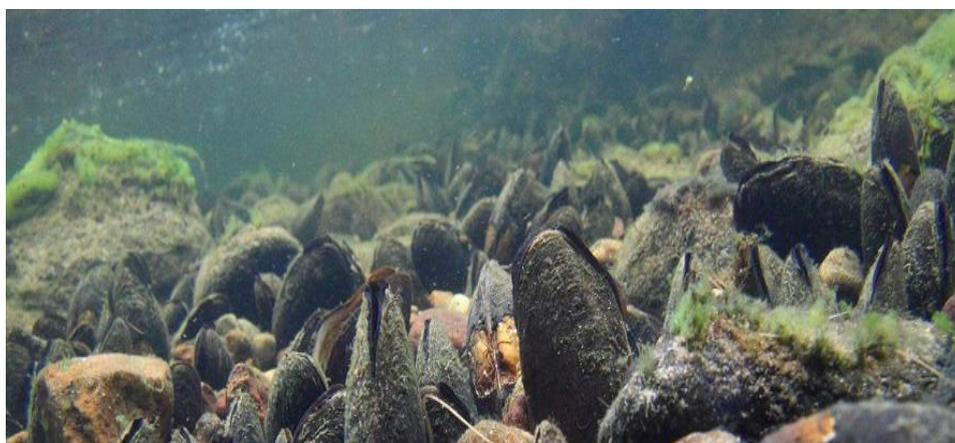


## Détermination de l'âge et des vitesses de croissance de moules perlières originaires de Dronne par analyse sclérochronologique des coquilles et analyse des éléments traces métalliques



Janvier-Juin 2017

**Johan Vieira**

UMR EPOC Brest

Maîtres de stage : Julien Thébaud et Magalie Baudrimont

Remerciements :

Pour commencer, je tiens tout à remercier les dirigeants du programme Life + Haute Dronne qui m'ont accordé leur confiance et sans qui ce stage n'aurait pas pu avoir lieu.

Je tiens ensuite à remercier Julien Thebault pour avoir accepté de me diriger durant ce stage où j'ai énormément appris. Tu as toujours trouvé du temps pour m'expliquer dans la bonne humeur quand j'étais bloqué, même sur des choses stupides ! (Et oui, pas si simple les produits en croix). Aah ça, j'en ai fait des boulettes et des retours à la case départ ! Mais bon j'ai toujours fini par comprendre et sortir des résultats satisfaisants. On mettra ça sur le compte des landais (on comprend vite mais il faut nous expliquer longtemps...) Pas toujours si simple la communication avec les bretons... Enfin bon, je voulais dire que j'ai énormément appris notamment de ton expérience professionnelle. J'ai été impressionné de ta dévotion envers la science et ton exemplarité dans tout ce que tu fais. Je suis encore très loin de tout ça et j'ai beaucoup à apprendre mais j'espère un jour être capable d'avoir autant de professionnalisme que toi, tant dans la compréhension des problèmes, la pédagogie ou encore la clarté d'expression qui me fait encore défaut. J'espère que tu as apprécié mon travail.

Je remercie également Magalie Baudrimont qui m'a fait confiance pour ce projet en me laissant diriger cette étude en autonomie complète tout en prenant soin de répondre à mes questions même à distance.

Je remercie Charlie Pichon qui m'a fourni les mulettes pour cette étude ainsi que des données nécessaires pour la compréhension des résultats observés.

Je tiens ensuite à remercier mes 3 compagnons de route, ces braves Youyou, Pierrot et Guigui qui ont subi ma présence et mes chambrages durant ces 6 mois. Je me suis bien marré, vous êtes des bons gars ah oui oui oui oui oui... Bon Guigui t'es un peu fragile à l'apéro, Youyou t'aimes un peu trop les homards et Pierre t'es un bel échappé (lourd concours) mais bon je vous aime bien quand même ;) Il y en a un que je préfère mais je ne dirai pas qui ! :O

Je remercie également Pierre Poitevin, Aurélie Jolivet et Jennifer Guarini qui m'ont pas mal aidé quand j'avais des soucis techniques ! Ces remerciements s'adressent également à Eric Dabas qui m'a guidé et soutenu durant mes manips de labo.

Je remercie également Lucie, qui fût une parfaite acolyte avec sa bonne humeur, sa hargne et son sourire, mais qui est malheureusement arrivée sur le tard... J'aurais aimé apprendre à mieux te connaître.

Mes remerciements s'adressent également au directeur du LEMAR, Luis TITO DE MORAIS pour mon accueil dans son établissement durant ce stage que j'ai pu réaliser dans de très bonnes conditions.

Enfin je voudrai remercier toutes les personnes qui m'ont accueilli à bras ouvert, notamment les Master 1 (les Valentin, Noé, Thibault, Enora, Nolween et tous les autres que je ne cite pas...).

Je tien à adresser des remerciements tout particuliers à Cecilia, qui m'a supporté durant ces 6 mois, a été ma confidente et mon premier soutient durant ce long périple et m'a beaucoup aidé à chaque fois que j'en avais besoin. T'es parfaite Cecilia, changes rien !

## Table des matières

I. Introduction.....	4
I.1. <i>Margaritifera margaritifera</i> , une espèce proche de l'extinction .....	4
I.2. Une espèce ingénieuse à cycle de vie complexe .....	4
I.3. Principales causes du déclin des populations.....	5
I.4. Pertinence d'une approche sclérochronologique de l'écologie de la moule.....	5
I.5. Objectifs de l'étude.....	6
II. Matériels et méthodes .....	7
II.1. Site d'étude.....	7
II.2. Echantillonnage et préparation des coquilles .....	8
II.3. Observation à la loupe binoculaire et analyse d'images .....	9
II.4. Modélisation de la croissance coquillière .....	9
II.5. Construction d'une chronologie maîtresse pluri-décennale .....	10
II.6. Analyse de la composition élémentaire des coquilles par LA-ICP-MS .....	11
II.7. Analyses statistiques .....	12
III. Résultats .....	12
III.1. Modélisation de la croissance coquillière .....	12
III.2. Chronologie de la variabilité environnementale.....	13
III.3. Analyse de la composition élémentaire des coquilles .....	15
IV. Discussion.....	21
IV.1. Variabilité de croissance.....	21
IV.2. Détermination de l'influence de l'environnement sur la croissance .....	22
IV.3. Détermination de la composante élémentaire des coquilles .....	23
IV.3.a Le manganèse.....	23
IV.3.b Le cuivre .....	24
IV.3.c Le strontium.....	24
IV.3.d Le magnésium .....	25
V. Conclusion et perspectives.....	26
Bibliographie :.....	27
Annexes : .....	33

## I. Introduction

### I.1. *Margaritifera margaritifera*, une espèce proche de l'extinction

La moule perlière *Margaritifera margaritifera* (Linnaeus 1758) aussi appelée « petite mulette » fait partie du groupe d'espèces d'eau douce les plus en danger à l'heure actuelle dans le monde (Neves et al., 1997 ; Vaughn et Taylor, 1999 ; Machordom et al., 2003). Ce mollusque bivalve est considéré comme espèce « en danger critique d'extinction » par l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (IUCN, 2011) et est inscrit dans l'annexe III de la convention de Berne.

De ce fait, de nombreux programmes de protection et de conservation ont été mis en place par les gouvernements de plusieurs pays européens (Dunca et al., 2011). Un nombre important d'études et de publications sur cette espèce a été réalisé dans d'autres pays européens (Allemagne, Grande Bretagne, pays scandinaves...) mais très peu en France (Bauer, 1992 ; Hastie et Young, 2003 ; Dunca et al., 2005).

La répartition de cette espèce était auparavant assez vaste, allant des côtes Est de l'Amérique du Nord à la Sibérie, en passant par de nombreux pays d'Europe (principalement du Nord). Les populations sont aujourd'hui très fortement en déclin dans la plupart de ces pays (Bauer, 1988 ; Buddensiek, 1995 ; Cosgrove et al., 2000 ; Cosgrove et Hastie, 2001).

En ce qui concerne l'Europe, jusqu'au siècle dernier, *Margaritifera margaritifera* était présente dans un très grand nombre de rivières. Beaucoup de ces populations sont aujourd'hui éteintes (Cosgrove et Hastie, 2001) ou décimées, avec des baisses d'effectifs de l'ordre de 81% en seulement 90 ans (Moorkens, 2011). En France, l'espèce a disparu de 60% des cours d'eau dans lesquels elle était présente au début du XXème siècle et les effectifs totaux ont chuté de 99%. Il est constaté, dans les secteurs où elles sont encore présentes, une absence ou une très faible reproduction, avec des individus assez âgés destinés à disparaître. On estime les effectifs français à environ 100 000 individus (Cochet, 2010 ; Moorkens, 2011).

### I.2. Une espèce ingénieure à cycle de vie complexe

*M. margaritifera* est caractéristique des cours d'eau oligotrophes à courant modéré (Hastie et al., 2003). Elle a besoin de fonds meubles (sable ou graviers) suffisamment profonds pour sa phase de vie enfouie qui dure 5 à 10 ans (Cochet, 2010) et suffisamment stables car son comportement est sédentaire et sa durée de vie importante (Howard et Cuffey, 2003 ; Morales et al., 2006). Elle est typiquement retrouvée dans des cours d'eau où le fond présente des zones de substrat sableux entrecoupées de graviers ou de roches qui stabilisent le substrat lors des fluctuations du débit (Bauer, 1992 ; Maio et Corkum, 1995 ; Hastie et al., 2000, 2001).

Son cycle de vie complexe présente différents stades plus ou moins sensibles. Malgré la libération de millions de larves glochidies dans la colonne d'eau par les femelles (Geist et al., 2006), la nécessité de parasiter le système branchial d'une truite (*Salmo trutta fario*) ou d'un saumon (*Salmo salar*) (seuls hôtes possibles ; Araujo et al., 2002) pour continuer leur développement et subsister, les rend tributaires des populations hôtes (Hastie et Young, 2003 ; Geist et al., 2006 ; Arvidsson et al., 2012). Cette phase de vie permet également la dispersion de cet organisme (Cochet et Paris, 2004). Au printemps (date variable selon la température ; Hastie et Young, 2003), les larves se détachent des branchies, tombent et s'enfouissent dans le sédiment meuble. Elles font alors 0.2 à 0.5mm et deviennent autonomes (Moorkens, 1999). Cette phase de transition est la plus compliquée et la plus sensible pour les mulettes (Gum et al., 2011). Durant cette partie de vie, elles

vivent enfouies et sont très facilement impactées par le colmatage des sédiments, empêchant les échanges d'oxygène entre la colonne d'eau et les eaux interstitielles (Geist et Auerswald, 2007). Seule une fraction infime survit et arrive à émerger du sédiment à l'âge de 5-10 ans. La maturité sexuelle n'intervient qu'à partir de 20ans et les adultes peuvent atteindre une longévité exceptionnelle (jusqu'à 280 ans en Scandinavie ; Dunca et al., 2011). Les conditions du milieu de vie durant les phases sensibles de développement sont la clé de l'efficacité reproductive (Buddensiek, 1995).

Cette moule perlière est une composante importante des écosystèmes d'eau douce. Elle y est considérée comme une espèce ingénieure (Gutierrez et al., 2003) et indicatrice de bon fonctionnement d'un écosystème (Geist, 2010 ; Dunca et al., 2011). En plus d'être une source de nourriture pour d'autres espèces (rat musqué, poissons, ... (Dunca et al., 2011 ; Bauer et al., 2012), c'est également un excellent filtreur de matière en suspension. En effet, une seule moule adulte peut filtrer jusqu'à 40 litres d'eau par jour (Tankersley et Dimock, 1993).

Cette régulation de la turbidité est importante pour le bon fonctionnement de ces milieux (Geist et Auerswald, 2007). Leur capacité à fixer la matière organique est également indispensable pour le transfert de matière et d'énergie du compartiment pélagique au compartiment benthique. Cela alimente les réseaux trophiques et participe aux cycles biogéochimiques (Strayer et al., 1999).

### I.3. Principales causes du déclin des populations

De nombreux facteurs extérieurs sont aujourd'hui néfastes au maintien ou à la restauration de ces populations. Par le passé, la récolte des moules pour leurs perles fut la première cause de crise démographique de l'espèce (Cosgrove et al., 2000). La qualité du sédiment est considérée comme le facteur le plus limitant pour la stabilité des populations de mulettes (Geist et Auerswald, 2007). Malheureusement, d'importantes dégradations des lits de rivières ces dernières années liées aux constructions et travaux sur les cours d'eau ont été recensées. Ces activités qui diminuent le débit et augmentent la concentration en particules fines des eaux (Morales et al., 2004 ; Cooksley et al., 2012) ont été directement associées au déclin de nombreuses populations de mulettes (Cooksley et al., 2012). Cela affecte également les exigences biologiques des populations hôtes (Addy et al., 2012). Ajouté à cela, l'eutrophisation des eaux, principalement causée par l'agriculture, entraîne un surdéveloppement algal colmatant les sédiments et condamnant les juvéniles à l'asphyxie (Cosgrove et al., 2000). L'essentiel de ces menaces étant d'origine anthropiques, il est possible de faire des efforts pour restaurer les habitats.

Pour comprendre les capacités d'adaptation de l'espèce d'intérêt aux conditions changeantes de son milieu de vie, il est nécessaire d'obtenir des informations concernant sa physiologie ainsi que d'observer précisément son développement.

### I.4. Pertinence d'une approche sclérochronologique de l'écologie de la moule

Les coquille des mollusques bivalves sont formées selon une structure caractéristique multicouche. Elles sont principalement composées de carbonate de calcium  $\text{CaCO}_3$  sous forme de calcite et/ou d'aragonite (Marie, 2008). En ce qui concerne *M. margaritifera*, sa coquille comporte une superposition de deux couches aragonitiques à savoir la couche prismatique externe et la couche nacrée interne. Une fine pellicule organique appelée périostracum recouvre également la face externe des valves (Marie, 2008, Lingard, 1992). La croissance des coquilles de ces organismes est continue tout au long de leur vie. Elle se fait par accrétion périodique de couches de carbonate

de calcium appelées « incréments ». Il est possible d'observer, sur la face externe, des anneaux plus sombres appelées « stries » ou encore « marques hivernales » correspondants à des arrêts de croissance. La périodicité annuelle des stries de *M. margaritifera* a été validée par plusieurs auteurs (Bauer 1992 ; Ziuganov et al. 2000). Ces arrêts de croissance marquent la présence de conditions environnementales défavorables, notamment lors des saisons hivernales de la vie des individus où leur croissance est très faible. Les variations rythmiques de croissance sont courantes chez de nombreux taxons du monde animal (Zotin, 2014). Comme la plupart des espèces de mollusques bivalves, une diminution des tailles d'incrément relative à l'âge ontogénique est observée chez cette espèce. Ceci est essentiellement lié à la physiologie des individus notamment au partage énergétique entre les différentes fonctions de l'organisme comme la reproduction (Chauvaud et al., 2012).

En plus de cette cyclicité annuelle, les vitesses de calcification peuvent présenter des fluctuations. De précédentes études ont montré que la température était un facteur influençant la croissance (Schöne et al., 2004 ; Dunca et al., 2005). Ajouté à cela, d'autres facteurs biologiques peuvent entrer en jeu. La croissance finale de chaque individu est donc assez spécifique et est le bilan de l'action conjointe de la physiologie, la température et l'environnement dont il est issu.

La sclérochronologie est l'étude des variations structurelles et chimiques de ces dépôts de croissances carbonatés. Par ces analyses, il est possible de « lire l'histoire de ces individus » dans leurs coquilles (Gröcke et Gillikin, 2008). Il est également possible d'utiliser ces organismes comme archives des conditions environnementales passées notamment pour reconstruire les paléoclimats marins (Jones, 1983). En effet, il est connu, depuis de nombreuses années, que les dépôts de carbonate annuels ont des compositions chimiques reflétant les conditions du milieu de vie de l'individu l'année où ils ont été formés (Zuykov et al., 2013). La longue durée de vie de certaines espèces, la solidité de leur squelette externe et leur répartition vaste en font d'excellentes archives pour une reconstitution à haute résolution des conditions environnementales passées (Nystrom et al., 1996 ; Gröcke et Gillikin, 2008 ; Dunca et al., 2011).

Il a été démontré par que *M. margaritifera* enregistrait sensiblement les variations du milieu extérieur dans sa coquille (Bauer, 1992). Cette espèce est donc adaptée pour une interprétation précise des variations climatiques au cours du temps (Bauer, 1992) notamment les alternances à l'échelle saisonnière (Schöne et al., 2004). Sa sensibilité permet également de détecter des éléments traces comme des métaux lourds. Ces organismes ont la capacité, lors de la formation de leurs coquilles, d'intégrer certains éléments pouvant se substituer au calcium. Cette capacité leur octroie, de la part de certains scientifiques, le qualificatif de moniteur biologique.

#### 1.5. Objectifs de l'étude

Cette étude s'insère dans le cadre du projet Life+ Haute Dronne LIFE13-NAT\_FR\_000506 qui a pour objectif principal la préservation de la plus grande population française de petite mulette connue à ce jour et de son hôte spécifique, la truite fario. Le premier programme d'action consiste à restaurer les habitats de ces espèces notamment en terme de continuité écologique et de qualité physico-chimique des eaux pour permettre un repeuplement du cours principal et de ses affluents.

L'objectif principal de cette étude est d'établir l'impact des pollutions issues de la décharge de St-Saud Lacoussière sur la croissance de *M. margaritifera*.

Pour cela, l'analyse des incréments de croissance de coquilles d'individus de différentes classes d'âge va permettre de :

- caractériser la croissance des mulettes de la Dronne et vérifier si les performances de croissance en amont et en aval de la décharge sont différentes.
- reconstruire des chronologies pluri-décennales de l'impact de la variabilité environnementale sur la croissance des individus des deux sites et les comparer.
- caractériser la composition élémentaire des coquilles en amont et en aval de la décharge et mettre en évidence la présence éventuelle d'une influence de cette dernière sur la chimie des coquilles.
- relier les variations temporelles, pluri-décennales, de la composition géochimique des coquilles avec la variabilité climatique et environnementale de la zone d'étude.

## II. Matériels et méthodes

### II.1. Site d'étude

La Dronne est un fleuve du Sud-Ouest de la France prenant sa source dans le parc naturel Périgord Limousin et se déversant plus au Sud dans l'Isle, un affluent de la Dordogne. Il a été recensé plus de 15 000 individus sur la « Haute Dronne » sur 25km de distance. Cela constitue la plus importante population au niveau français mais les effectifs restent très éloignés de ceux présents dans les fleuves d'Europe préservés (plusieurs millions par kilomètre). D'une longueur avoisinant les 200km, ce cours d'eau possède de nombreux biotopes remarquables ayant conduit à la mise en place d'une zone Natura 2000 ou de zones naturelles d'intérêt écologique, faunistique et floristique, sur 80% de sa surface. Lieu de vie privilégié de la petite mulette *Margaritifera margaritifera*, ce cours d'eau n'échappe pourtant pas à l'anthropisation, mettant en danger ses populations. Les observations d'effectifs, trop approximatives, n'ont pas permis de définir avec certitude la stabilité ou le déclin de l'espèce malgré les suspicions de non viabilité à long terme par manque de jeunes (juvéniles représentant moins de 1% de la population observée contre environ 20% dans une population en bonne santé (Geist, 2005)).



Figure 1 : Carte de la zone d'étude

Source : sage-isle-dronne.fr

Les deux sites de prélèvement se trouvent dans la partie haute de la Dronne, au cœur du Parc Naturel Régional Périgord Limousin, en amont et en aval de la décharge sauvage de Saint-Saud Lacoussière (45°32'00.7"N 0°49'25.9"E). Malgré l'absence d'informations sur l'origine temporelle exacte de cette décharge, sa présence est répertoriée depuis plusieurs dizaines d'années tout comme ses apports au milieu en polluants de toutes sortes comme des batteries, des piles ou encore des médicaments (Baudrimont et al., 2012).

## II.2. Echantillonnage et préparation des coquilles

Etant une espèce protégée, des individus vivants n'ont pu être prélevés que par un membre agréé du Parc Naturel et seulement à trois périodes strictes, à savoir en Avril 2009, Juillet 2009 et Mars 2010. Au total, 60 moules ont été prélevées vivantes à la main (30 en amont et 30 en aval) de façon non sélective. Ajouté à cela, 39 coquilles de juvéniles morts trouvées en aval ont été collectées en Novembre 2015. L'ensemble des manipulations et analyses a ensuite été réalisé au laboratoire de sclérochronologie du LEMAR (UMR6539 CNRS/UBO/IRD/Ifremer, Plouzané). Les coquilles ont été soigneusement vidées, nettoyées, puis une des valves de chaque individu a été choisie en conservant celle présentant le meilleur état de conservation. Leur longueur, hauteur et épaisseur ont été mesurées. Elles ont également été numérotées puis placées dans des pochettes plastiques distinctes.

Pour pouvoir donner un âge à chaque individu, le nombre de marques hivernales doit être déterminé. L'ensemble des stries doit être observable sur un seul transect. Ces dernières étant difficilement distinguables en surface des coquilles, une coupe transversale permettant une meilleure visualisation de la croissance dans l'épaisseur de la coquille a été réalisée selon un protocole déjà validé (Dunca et al., 2011). Cette section des coquilles de l'umbo à la marge ventrale, perpendiculaire aux stries, permet la meilleure lecture possible. La longueur de cette coupe correspond à la hauteur de la coquille.

Pour les plus grandes coquilles (>70mm), une ceinture de résine Araldite métallique à séchage rapide est appliquée sur les coquilles suivant l'axe dorso ventral en passant par l'umbo et perpendiculairement aux stries. Ceci a pour but de renforcer la solidité des valves lors des coupes à venir. Pour les plus petites (<70mm) qui sont très fragiles, des inclusions complètes dans une résine transparente sont réalisées à l'aide de moules souples.

La découpe d'une fine tranche de coquille d'environ 1mm suivant l'axe défini précédemment est réalisée à l'aide de d'une scie diamantée (secotom) de la même façon pour les deux types de préparation. La vitesse de rotation est fixée à 300 tours/min et la vitesse d'avance à 0.150 mm/s. La coupe est montée sur une lame de verre rectangulaire à l'aide d'une colle sèche à froid Cristal Bond. Chacune de ces lames est soigneusement identifiée.

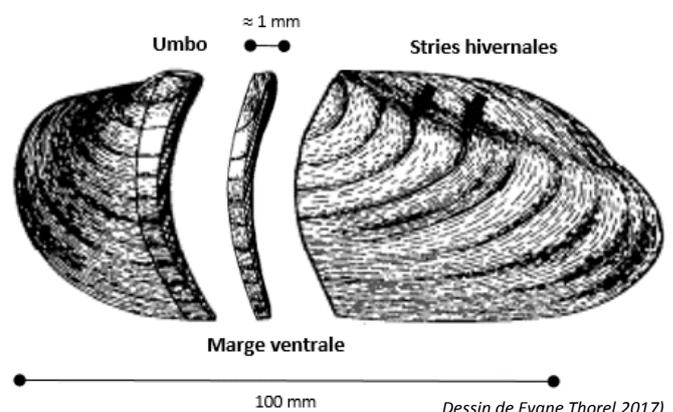


Figure 2 : Schéma de la réalisation d'une coupe de l'umbo à la marge ventrale

Une ponceuse rotative à main (STRUERS TegraPol-35) et deux disques de ponçage ayant des grains de 1200 et 2500 sont utilisés respectivement dans cet ordre pour réduire l'épaisseur de nos

préparations à environ 300µm et faire disparaître les traces laissées par la scie. Le ponçage se fait à 80 tours/min sous apport constant d'eau de façon à limiter la friction. L'utilisation d'un disque de polissage en feutre ainsi que de suspension diamantée de grain 3µm (DiaPro) a permis de lisser la surface visible des coupes en faisant disparaître les dernières aspérités.

De façon à faire ressortir les stries annuelles, une coloration au bleu de Mutvei est réalisée (Schöne et al., 2005). Cette préparation est composée d'acide acétique à 100%, de glutaraldéhyde à 25%, de bleu d'alcan et d'eau déionisée. Les incréments étant composés en grande majorité de carbonate de calcium, l'acidité de cette solution va éroder ces parties tout en laissant intactes les marques annuelles de couleur plus sombre faites de protéines et de mucopolysaccharides. Le relief positif de ces structures annuelles ainsi que leur coloration en bleu (couleur variant avec la concentration en polysaccharides ; Schöne et al., 2005) permettent une détermination plus précise de l'âge des coquilles et de la taille des incréments. La durée d'incubation est fixée à 1h, temps suffisant défini après différents essais.

### II.3. Observation à la loupe binoculaire et analyse d'images

Une loupe binoculaire (Zeiss Lumar.V12) équipée d'une caméra (Zeiss AxioCam MRc5) et couplée à un ordinateur est utilisée pour prendre des photos à haute résolution. Le logiciel Axiovision permet la conception d'une mosaïque de photos qui une fois assemblées, recomposent la surface complète des coupes transversales des coquilles. Un éclairage transmis est préféré au réfléchi, produisant de meilleurs résultats pour ce type de préparation. L'échelle est représentée sur chaque cliché et le facteur de conversion (µm/pixel) est donné par le logiciel. Les mosaïques noir et blanc sont exportées pour analyse ultérieure (voir photos annexe).

Le dénombrement des stries et la détermination de leur position sont réalisés à l'aide du logiciel ImajeJ en pointant manuellement ces structures dans la couche externe, de la marge ventrale jusqu'à la limite de la partie érodée. Les croissances annuelles ont été définies comme les distances entre deux stries successives en restant le plus près possible de la délimitation entre la couche interne nacrée et la couche externe prismatique. Les coordonnées en pixels sont converties en distance entre points (théorème de Pythagore) puis en µm, grâce au rapport obtenu précédemment, de façon à déterminer les distances entre les différentes stries et donc mesurer les largeurs d'incrément. Pour estimer le nombre de stries dans la partie abimée, l'estimation de l'âge des jeunes coquilles a été faite en premier. Les zones umbonales des juvéniles ne sont pas ou très peu érodées ce qui permet une visibilité de toutes les lignes hivernales. La comparaison des longueurs de ces premiers incréments mesurés avec la longueur de la partie érodée chez les individus plus âgés permet la détermination du nombre de strie manquantes (Dunca et al., 2011 ; Miguel et al., 2004).

### II.4. Modélisation de la croissance coquillière

Le modèle de croissance de Von Bertalanffy est utilisée pour comparer les stratégies de croissance site par site (Hastie et al., 2000). Elle permet de déterminer un facteur de croissance  $k$  ( $\text{an}^{-1}$ ), spécifique à la population (vitesse à laquelle la longueur de la coquille se rapproche de sa taille maximale), ainsi que la variable  $L_\infty$  (mm) qui est la taille maximale théorique que peut atteindre un individu moyen dans la population.

$$L_t = L_\infty \times (1 - e^{-k(t-t_0)})$$

avec  $L_t$  = longueur de l'individu à l'instant  $t$ ,  $L_\infty$  longueur théorique maximale,  $t$  = âge de l'individu et  $t_0$  = « âge » hypothétique auquel la taille est nulle.

Pour cette étude de croissance, la taille cumulée des incréments depuis l'umbo jusqu'à la marge ventrale a été utilisée pour définir la taille présentée par les individus chaque année de leur vie. Cette méthode est plus précise que l'utilisation de fréquences de tailles pour construire une courbe de croissance car on connaît précisément leur âge et il est certain que toutes les classes d'âge intermédiaires sont représentées par une taille, les individus analysés étant constamment les mêmes. Cela minimise les erreurs liées à l'échantillonnage (Bauer, 1992). Les croissances cumulées en fonction de l'âge des mulettes sont représentées sur un graphique et une courbe d'ajustement non linéaire entre les différents points est tracée en utilisant le modèle spécial de Von Bertalanffy. Les paramètres  $L_\infty$  et  $k$  sont fournis par le modèle.

Du fait de leur corrélation négative (Bauer, 1992), ces paramètres sont difficilement utilisables conjointement pour comparer deux populations. L'indice de performance de croissance global ( $\Phi'$  ; Pauly et Munro, 1984), réunissant ces deux variables, est plus approprié pour cela.

$$\Phi' = \log_{10}(k) + 2 \times \log_{10}(L_\infty)$$

avec  $k$  en année<sup>-1</sup> et  $L_\infty$  en cm.

#### II.5. Construction d'une chronologie maîtresse pluri-décennale

Comme vu précédemment, la taille des incréments a tendance à diminuer avec l'âge des mulettes. Le package `dplR` (dendrochronology program library in R) compris dans le logiciel de statistiques R (initialement destiné à la dendrochronologie) est utilisé en suivant la méthode établie lors de travaux antérieurs (Shöne et al., 2005 ; Dunca et al., 2011) dans le but d'enlever l'effet de l'âge ontogénique sur les variations de taille d'incréments pour laisser uniquement apparaître les variations de croissance liées aux autres paramètres écologiques et physiologiques. Cela permet de comparer les variations de croissance d'individus de différents âges sur une ou plusieurs mêmes années. Des individus dont l'âge est supérieur à 35 ans ont été choisis (6 pour l'amont et 8 pour l'aval). Cette analyse est réalisée site par site. Les fonctionnalités de ce package permettent, après avoir mesuré les tailles des incréments pour chaque coquille, de créer un « patron » de croissance. Des infos sur les erreurs potentielles de comptage sont également fournies, permettant de recalibrer précisément chaque coquille les unes par rapport aux autres. Pour cette étude, l'élimination des basses fréquences des profils de croissance est faite à l'aide d'une spline. Des indices de croissance GI (Growth index au temps  $t$ ) sont calculés pour chaque année et chaque individu, rendant compte de la différence entre la croissance observée et la croissance attendue par le modèle. En moyennant les valeurs annuelles de GI de toutes les coquilles, une chronologie maîtresse (master-chronology) peut ensuite être établie.

Cette dernière est ensuite standardisée (centrage-réduction) permettant de créer une série de SGI (Standardized Growth Indices). Cette chronologie de SGI permet ainsi de mettre en évidence des anomalies de croissance positive (croissance coquillière annuelle plus importante que celle prédite par le modèle de Von Bertalanffy) ou négatives (croissance moins importante qu'attendu). La comparaison des SGI moyennes entre les deux sites permet de voir plus précisément s'il y a des différences de croissance non liées à l'ontogénie. Cette analyse permet également de confronter ces variabilités à des mesures de paramètres environnementaux, montrant si des composantes du milieu sont en cause.

## II.6. Analyse de la composition élémentaire des coquilles par LA-ICP-MS

Comme pour un grand nombre d'études récentes, la répartition des éléments traces dans les coquilles est observée par ablation laser ICP-MS, technique comprenant une résolution spatiale fine (Carroll et Romanek, 2008). Les observations réalisées précédemment ont permis d'observer l'état de conservation et de déterminer l'âge des individus. Dans le but de retracer les variations de composition élémentaire des coquilles, 6 valves, d'individus les plus vieux possibles, mais ayant un bon état de conservation ont été choisies avec 3 individus provenant de l'amont et 3 de l'aval de la décharge. Les individus n°21 (44 ans), 24 (43 ans) et 70 (39 ans) ont été retenus pour l'amont et 34 (44 ans), 80 (43 ans) et 81 (48 ans) pour l'aval (voir Annexe 2).

Les incréments annuels de cette espèce deviennent, au bout d'un certain âge, très réduits en largeur. L'écart entre chaque mesure élémentaire étant constant avec notre équipement, le nombre de mesure et la résolution spatiale (et donc temporelle) seront très faibles pour ces dernières années.

Pour pallier ce biais, et reconstituer les variations récentes de concentration en éléments traces, 6 valves d'autres individus juvéniles en bon état et dont l'âge est le même ou très proche sont sélectionnées avec, de la même façon qu'avant, 3 individus provenant de l'amont et 3 de l'aval. Les individus n°29, 76 et 77 ont été sélectionnés pour l'amont et 40, 87 et 89 pour l'aval. L'âge constant permet de pouvoir comparer des incréments formés les mêmes années et ayant des dimensions voisines. De plus, ce protocole permet de s'affranchir de l'incertitude liée aux variations de capacité d'incorporation des éléments traces dans les coquilles des moules perlières en fonction de leur âge ontogénique. A l'aide du même protocole que vu précédemment, des lames plus petites ont été préparées pour les 12 individus. L'épaisseur des coupes est cette fois-ci limitée à 1mm par nécessité de quantité suffisante de matière à ablater.

Les concentrations élémentaires sont mesurées dans ces 12 coquilles à l'aide d'un spectromètre de masse haute-résolution à plasma induit (HR-ICP-MS Thermo Element2) couplé à un système de prélèvement par ablation laser (GeoLas Pro, COMPexPro102 Excimer Ar-F opérant à une longueur d'onde de 193 nm). Le faisceau laser d'un diamètre de 120µm, focalisé sur la surface de la coupe par réglages de hauteur réguliers, a parcouru les coupes de la marge ventrale en direction de l'umbo en restant dans la couche externe de la coquille et en s'arrêtant à la limite d'érosion. Avant chaque mesure de segments, une pré-ablation a été réalisée permettant d'éliminer les contaminations potentielles sur la surface d'intérêt. Il a été décidé d'utiliser un diamètre de laser plus important (160µm) pour ceci dans le but de maximiser les chances d'enlever toute trace de pollution de surface. La direction du laser est régulièrement modifiée, formant de petits transects, de façon à épouser la forme arrondie de la coquille. La vitesse d'avance du laser étant de 5 µm/s et ayant une mesure environ toute les 1.95s, une valeur d'intensité pour chaque isotope est mesurée tous les 9.5 µm. Les intensités (en coups/seconde) de 20 isotopes différents ont été déterminées (<sup>7</sup>Li, <sup>11</sup>B, <sup>25</sup>Mg, <sup>43</sup>Ca, <sup>51</sup>V, <sup>52</sup>Cr, <sup>55</sup>Mn, <sup>57</sup>Fe, <sup>62</sup>Ni, <sup>65</sup>Cu, <sup>66</sup>Zn, <sup>75</sup>As, <sup>86</sup>Sr, <sup>98</sup>Mo, <sup>109</sup>Ag, <sup>114</sup>Cd et <sup>111</sup>Cd, <sup>138</sup>Ba, <sup>208</sup>Pb et <sup>238</sup>U). Entre chaque coquille et en début et fin de chaque journée, des ablations fixes sur des standards (NIST 614 et 612, National Institute of Standards and Technology, USA) sont effectuées de façon à mesurer la dérive de l'instrument. Avant et après chaque ablation, au moins 50 mesures de blancs sont prises pour mesurer le bruit de fond. L'ensemble de ces mesures ont été réalisées à basse résolution.

Les données sont ensuite traitées en éliminant tout d'abord le bruit de fond (bruit électronique de l'ICP-MS). Cela a été réalisé en ôtant manuellement les valeurs aberrantes dépassant un seuil arbitrairement déterminé de trois fois la moyenne des valeurs observées dans la coquille. Les intensités mesurées ont été corrigées du blanc et normalisées par rapport au  $^{43}\text{Ca}$ , élément pour lequel on considère que la concentration est constante dans la coquille. Ces dernières années, de nombreuses publications sont parues présentant des mesures élémentaires (métal/Ca) sur des coquilles de bivalves (Gröcke et Gillikin, 2008). La fraction organique de la coquille étant très faible (entre 0 et 1%), il a été considéré pour nos calculs que la matrice carbonatée ( $\text{CaCO}_3$ ) représentait 100% de la composition coquillière (soit  $400432 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Une limite de détection commune à l'ensemble des coquilles a été déterminée en considérant que la plus petite valeur pouvant être détectée est égale à 3 fois l'écart type du blanc, normalisé par la concentration en calcium dans notre coquille. La moyenne des valeurs calculées pour chaque coquille est considérée comme pertinente.

### II.7. Analyses statistiques

Des régressions linéaires simples et multiples sont effectuées pour comparer les valeurs d'indices de croissance standardisés (SGI) avec des données environnementales.

Pour déterminer la présence d'une pollution au cuivre en aval de la décharge, une MANOVA est réalisée à partir des concentrations mesurées sur les différents individus. L'effet site et l'effet individuel est analysé.

## III. Résultats

### III.1. Modélisation de la croissance coquillière

Connaissant la longueur et la hauteur curviligne de chaque coquille et en faisant l'hypothèse d'une croissance isométrique de celles-ci, un rapport longueur/hauteur moyen est calculé. De ce fait, en appliquant ce rapport aux mesures, il est possible de représenter la croissance en longueur en fonction du temps.

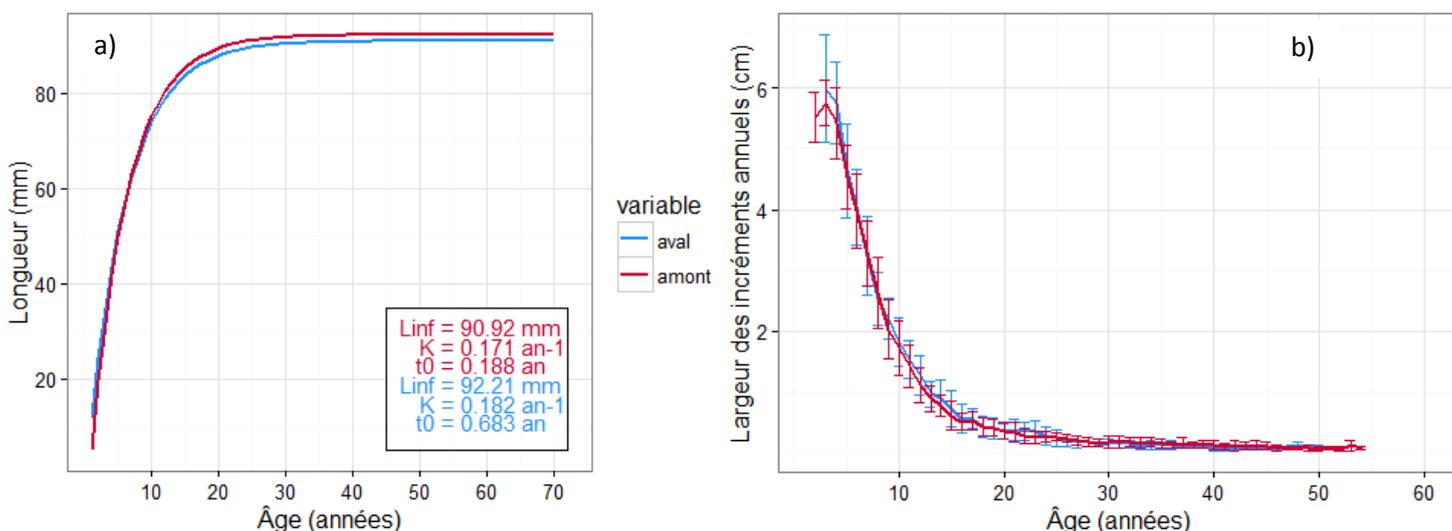


Figure 3 : a) Courbe de croissance Von Bertalanffy de la Longueur de coquille en fonction de l'âge pour les individus provenant de l'amont et de l'aval. b) Croissances annuelles moyennes des individus provenant de l'amont et de l'aval en fonction de l'âge.

Le modèle de Von Bertalanffy a permis d'obtenir, à partir des données de croissance, les paramètres  $L_{\infty}$  (92.21 mm pour l'amont et 90.92 mm pour l'aval) et  $k$  (0.182 an<sup>-1</sup> pour l'amont et 0.171 an<sup>-1</sup> pour l'aval) avec des coefficients de corrélation élevés ( $R^2=0.976$  amont et  $R^2=0.982$  aval). En ce qui concerne l'indice de performance de croissance  $\Phi'$ , il a été calculé des valeurs de 1.19 et 1.15, respectivement pour l'amont et l'aval. Les courbes issues du modèle (Figure 3.a) présentées ci-dessus montrent qu'il ne semble pas y avoir de différence de stratégie de croissance entre nos deux groupes d'individus. La croissance annuelle de l'ensemble des moules ralentit fortement vers l'âge de 12 ans et la taille maximale est atteinte aux alentours de 25 ans.

Les courbes de croissance annuelle en fonction de l'âge individuel (Figure 3.b) permettent d'observer les variations de taux de croissance au cours de la vie des individus. Ces variations ne semblent pas différer entre les individus des deux sites, les moyennes étant très proches et les écarts-types se chevauchant. Ces derniers montrent que la variabilité inter-individu est importante, notamment pour les 20 premières années, avant de diminuer fortement une fois la taille maximale atteinte. La localisation du maximum de croissance pour les deux populations semble se situer la 3<sup>ème</sup> année.

### III.2. Chronologie de la variabilité environnementale

En dehors de la cinétique de croissance caractéristique déterminée pour cette population, des variations de croissance résiduelles sont présentes. Elles sont potentiellement issues d'une réponse à un stress physique ou biologique de l'environnement (Miguel et al., 2004). Les individus analysés sur les deux sites permettent d'obtenir des informations de la variabilité environnementale sur une trentaine d'années (voir annexe 2).

L'analyse dplR a tout d'abord permis, à partir des mesures de largeurs d'incrément, de positionner les coquilles les unes par rapport aux autres dans le temps d'après les variations annuelles de croissance. Ceci a été réalisé site par site. Il a ainsi été obtenu, après mise en rapport des largeurs d'incrément observés et des largeurs théoriques, une chronologie d'indices de croissance GI pour chaque site (Figure 4 et 5). Cette technique appelée « detrending » permet de s'affranchir des variations liées à l'âge ontogénique.

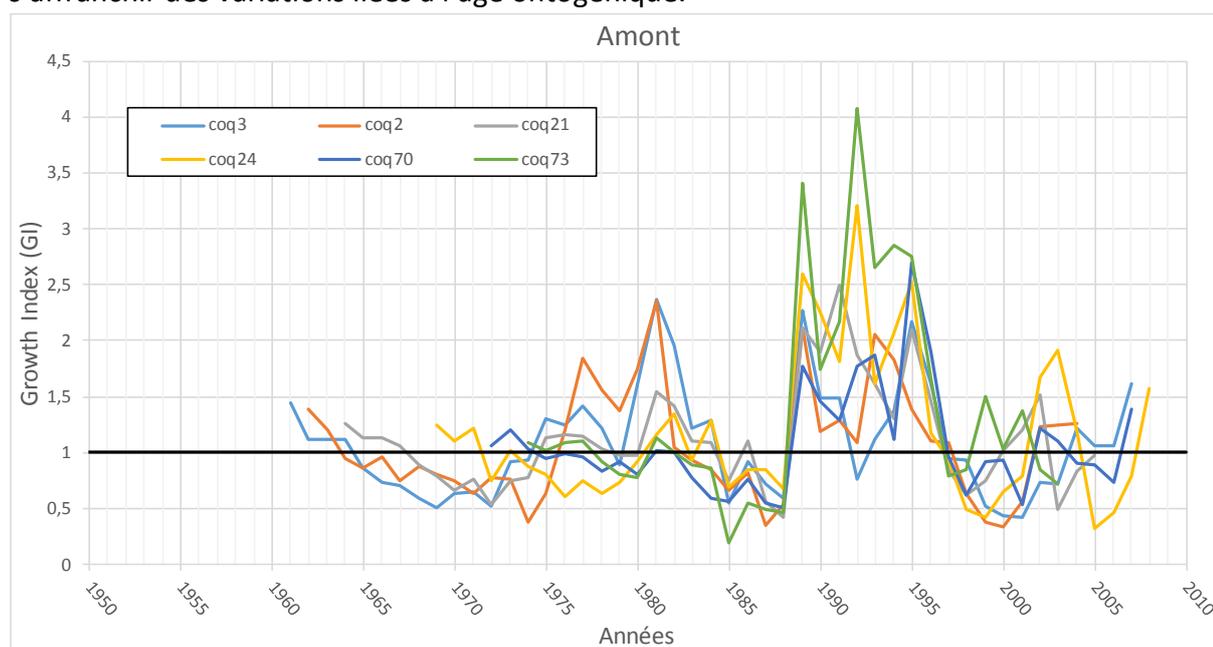


Figure 4 : Chronologie des variations de croissance d'origine environnementale d'individus issus de l'amont. (coq = coquille)

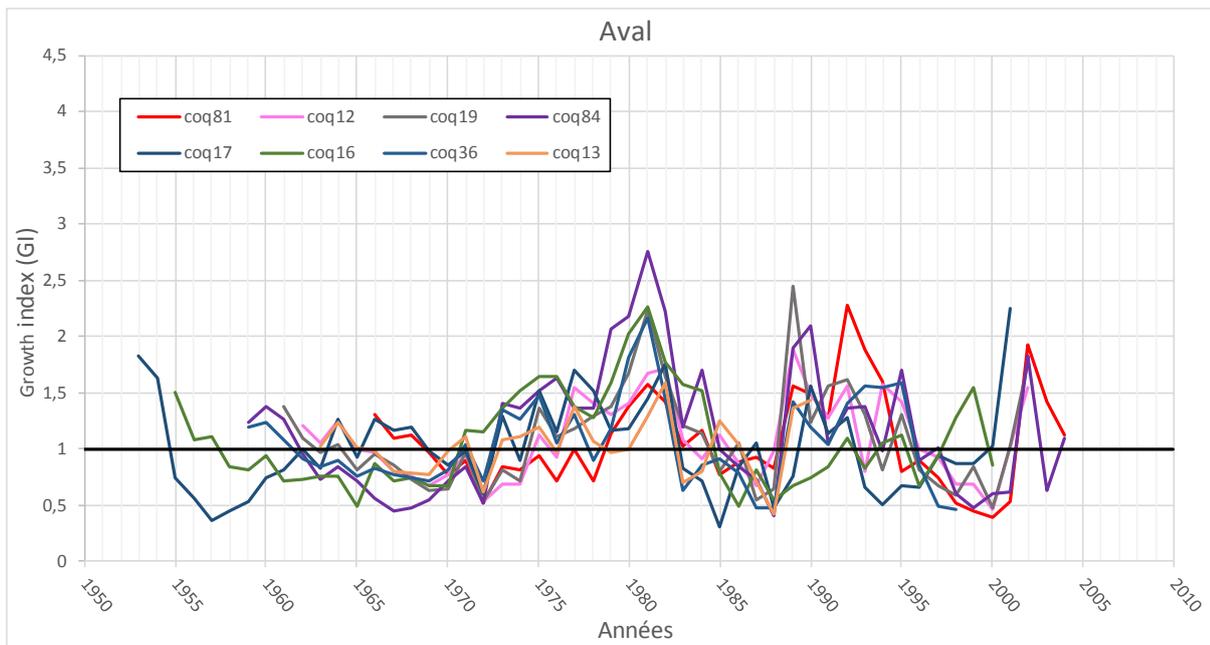


Figure 5 : Chronologie des variations de croissance d'origine environnementale d'individus issus de l'aval. (coq = coquille)

En ce qui concerne les moules prélevées en amont, la Figure 4 montre la présence d'une variabilité de croissance liée à l'environnement similaire entre les individus. L'indice est alternativement croissant et décroissant selon la période observée. Les années ayant un GI supérieur à 1 montrent une meilleure croissance observée que théorique et inversement pour celles en dessous de 1. Ceci se retrouve également en aval (Figure 5) avec cette fois-ci une première augmentation de croissance bien marquée pour la fin des années 1970. L'observation des profils de croissance des deux sites semble présenter des similarités notamment deux périodes de croissance importante de 1976 à 1983 et de 1989 à 1996. Pour observer ces ressemblances, l'analyse a à nouveau été réalisée mais cette fois-ci en groupant les 14 individus (sites confondus). Le profil d'indice de croissance obtenu est très similaire aux deux précédents (Figure 6).

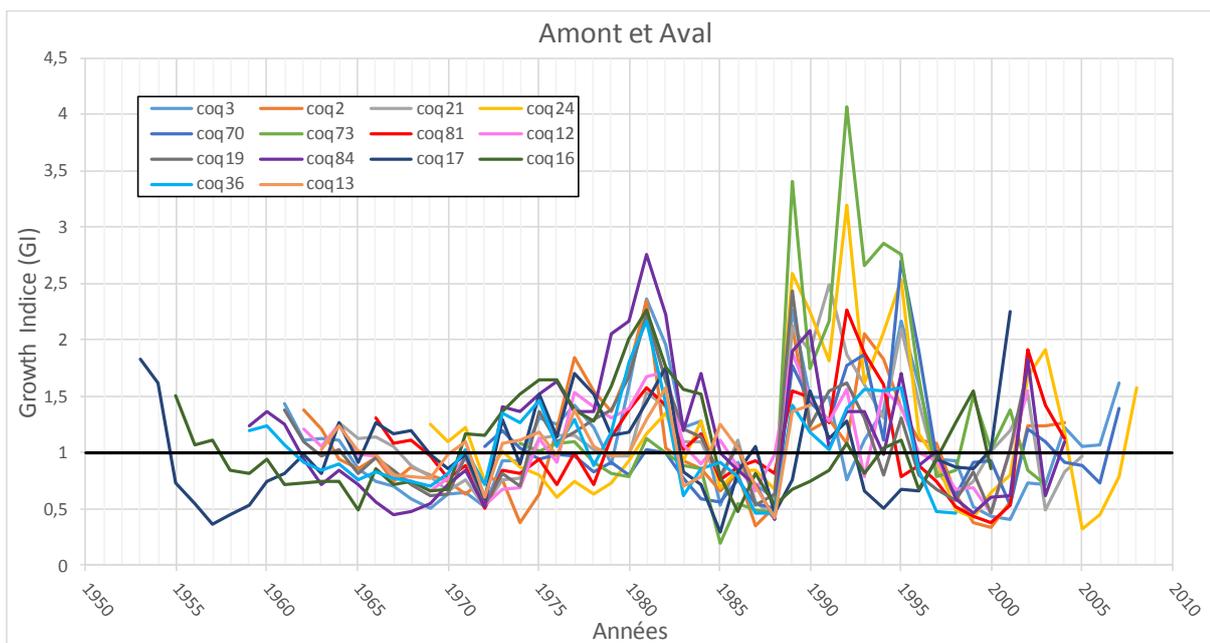


Figure 6 : Chronologie des variations de croissance d'origine environnementale de l'ensemble des individus issus de l'amont et de l'aval. (coq = coquille)

L'ensemble des valeurs de GI, une fois moyennées, permettent la création d'une chronologie maîtresse reflétant les variations moyennes de croissance de l'ensemble des individus. Cette série de GI, standardisée, permet la création de la série de SGI (Standardized Growth Indice) suivante (Figure 7) :

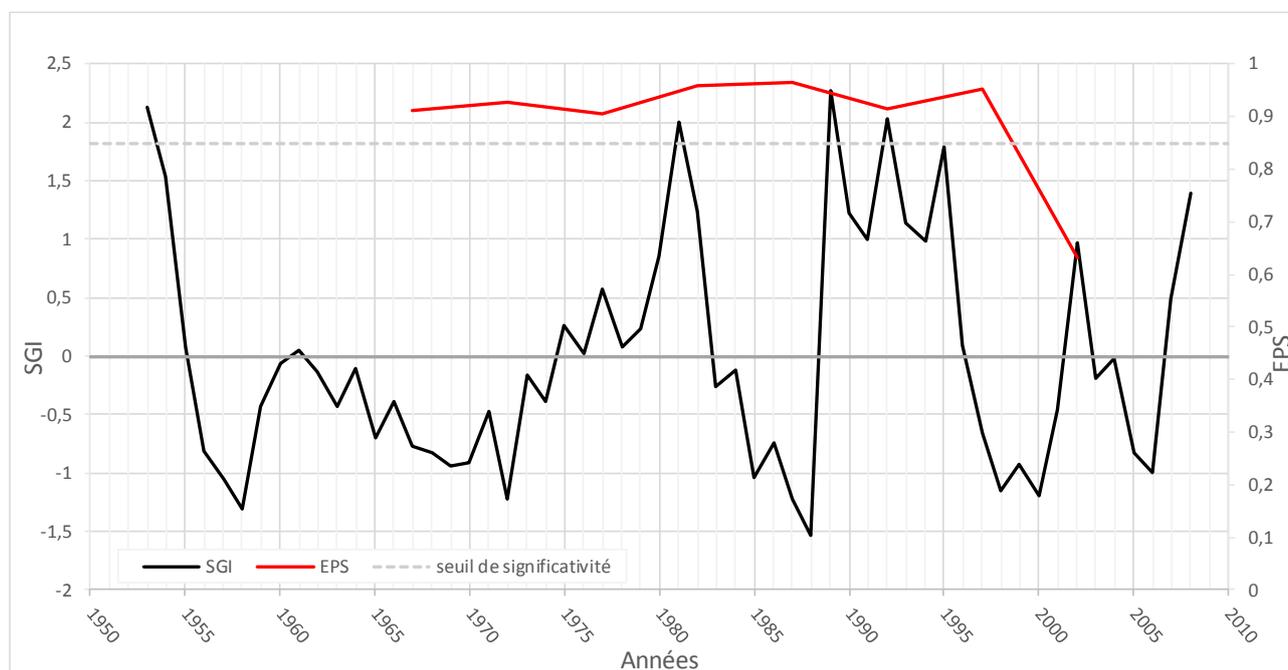


Figure 7 : Chronologie des indices de croissance standardisés de l'ensemble des individus amont et aval. La courbe rouge représente les valeurs d'EPS calculées en fonction des années.

La significativité biologique de ces variations a été testée en calculant des valeurs d'EPS (Expressed Population Signal) pour chaque année de la chronologie. Cette statistique permet de déterminer si le signal observé sur la série de SGI est représentatif du signal théorique de la population. En d'autres termes, il quantifie la force relative du signal commun par rapport au signal total (signal commun + bruit). La valeur de cette statistique est dépendante du nombre de séries couvrant l'année en question et de la moyenne des corrélations entre les paires de GI de la chronologie. La courbe rouge indique que les similitudes de croissance enregistrées sont bien représentatives d'un signal biologique fort entre 1967 et 1999 (EPS > 0,85 ; (Schöne, 2013)).

Cette figure montre donc que ces individus ont un patron de croissance commun statistiquement démontrable. Des phases de croissance moins importantes que prévues (1967 à 1974 ; 1984 à 1988 et 1997 à 1999) mais également plus importantes (1979 à 1983 ; 1989 à 1996) ont été enregistrées dans les coquilles. Les trois figures précédentes semblent enfin attribuer un minimum de croissance commun à l'ensemble des individus pour l'année 1988.

### III.3. Analyse de la composition élémentaire des coquilles

Les résultats obtenus du laser ICP-MS montrent que la majorité des éléments analysés ne sont pas détectables ou quantifiables dans les coquilles : la plupart sont présents en concentrations trop faibles (inférieures à la limite de quantification, voir annexe 3) pour pouvoir interpréter une différence de pollution métallique entre les deux sites. Il a été décidé de ne présenter ici que quatre éléments (magnésium, strontium, manganèse et cuivre), les trois premiers étant présents en concentrations élevées et le dernier présentant des fluctuations importantes et étant connu pour affecter la croissance (Hartmut et Gerstmann, 2007).

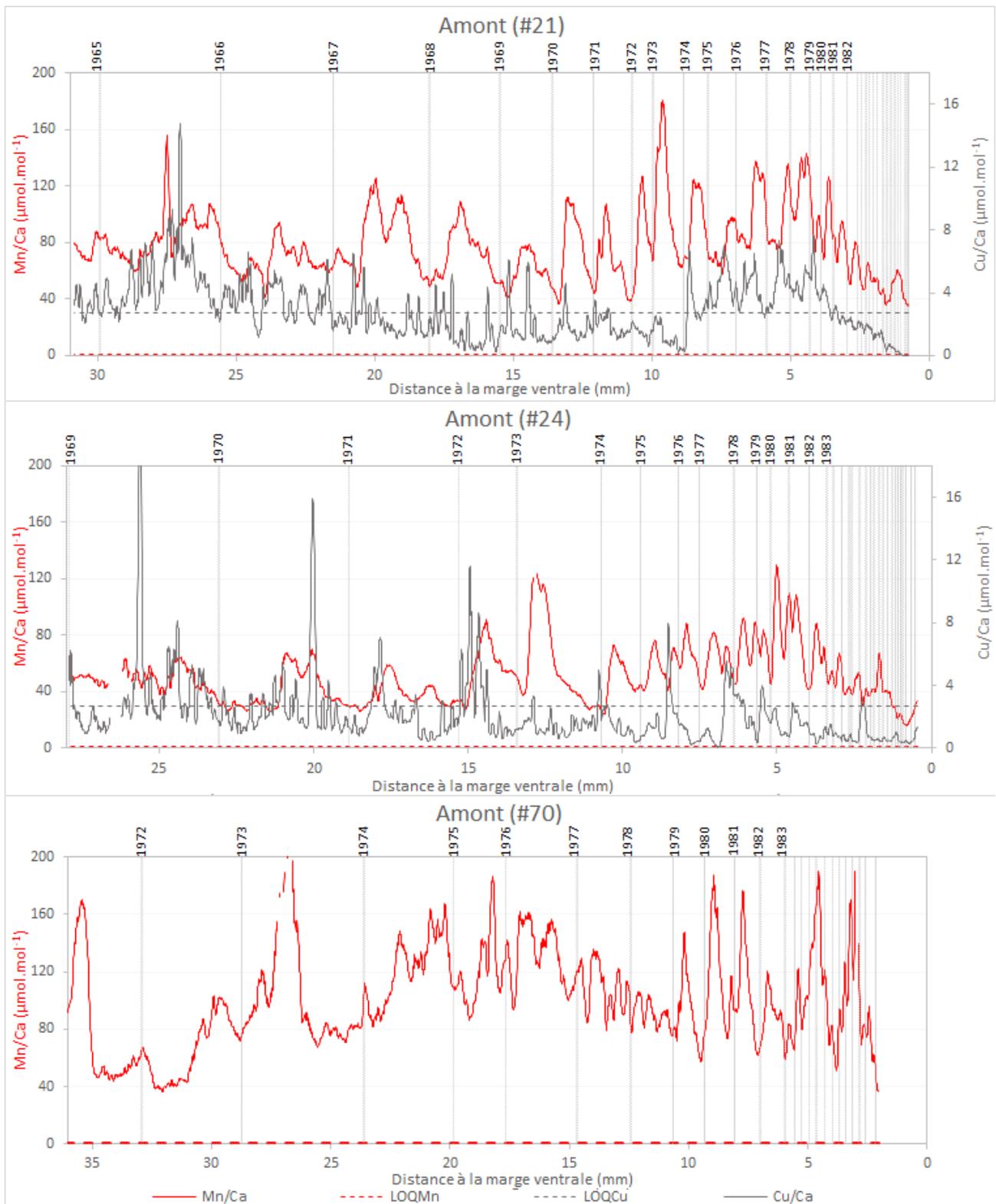


Figure 8 : Variations chronologiques de concentrations en cuivre et en manganèse des coquilles de trois individus adultes provenant de l'amont. Les limites de quantification (LOQ = 3x limite de détection) sont représentées en pointillés horizontaux et la position des stries en pointillés verticaux gris.

Les figures 8 et 9 présentent les variations de concentration molaire en cuivre/manganèse et strontium/magnésium des trois individus âgés prélevés en amont au cours de leur vie. Les limites de quantification (LOQ) de l'instrument d'étude sont matérialisées par des lignes horizontales (ex : LOQMn). La position des stries est représentée par des lignes de pointillés verticaux. Dans un premier temps, il est observable que l'ensemble des individus présente des cycles de variations annuels de concentration en Strontium, Magnésium et Manganèse dans leurs coquilles.

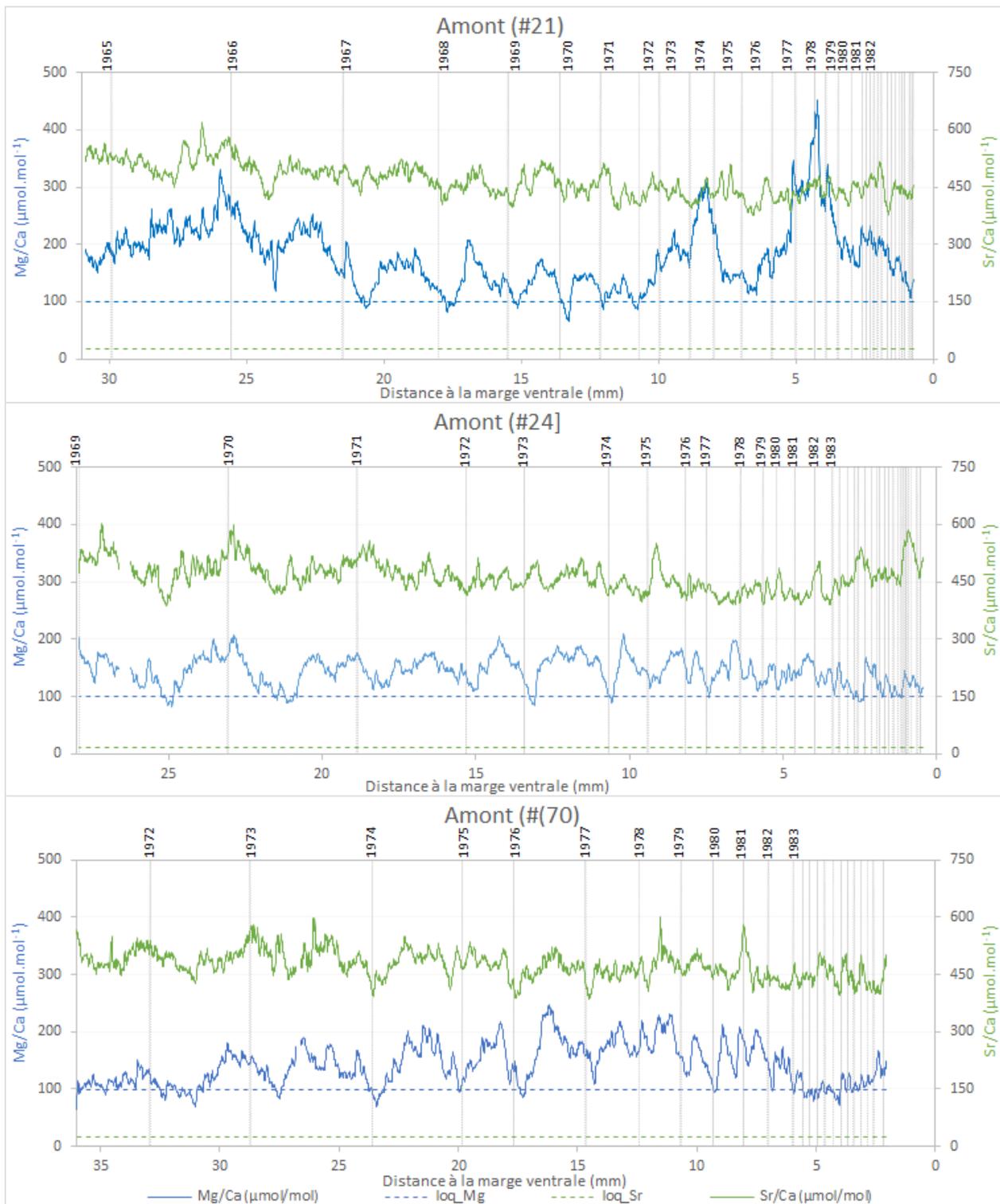


Figure 9 : Variations chronologiques de concentrations en strontium et en magnésium des coquilles de trois individus adultes provenant de l'amont. Les limites de quantification (LOQ = 3x limite de détection) sont représentées en pointillés horizontaux et la position des stries en pointillés verticaux gris.

L'augmentation des concentrations molaires chaque année de croissance montre une incorporation importante de ces éléments. La différence de forme des signaux entre les grands et les plus petits incréments est due à la différence du nombre de mesures réalisées sur chacun d'entre eux. Les plus larges permettent de constater que ces augmentations sont progressives et régulières lors des phases de croissance. Les minimums de concentration semblent également correspondre à l'emplacement des stries. Pour le manganèse, des augmentations communes sont notables l'année 1973 (pour les trois) et en 1980/1981 (pour les deux dernières). Une décroissance de concentration

sur les dernières années de vie (hormis pour l'individu 70) ne permet plus d'observer de variations cycliques. Le strontium et le magnésium montrent des fluctuations annuelles régulières sur la période analysée. Sur les trois individus, il semblerait que les variations de concentration de ces deux éléments se suivent dans le temps. Il est notable que la coquille n°21 possède des concentrations plus importantes de magnésium les années 1974 et 1979.

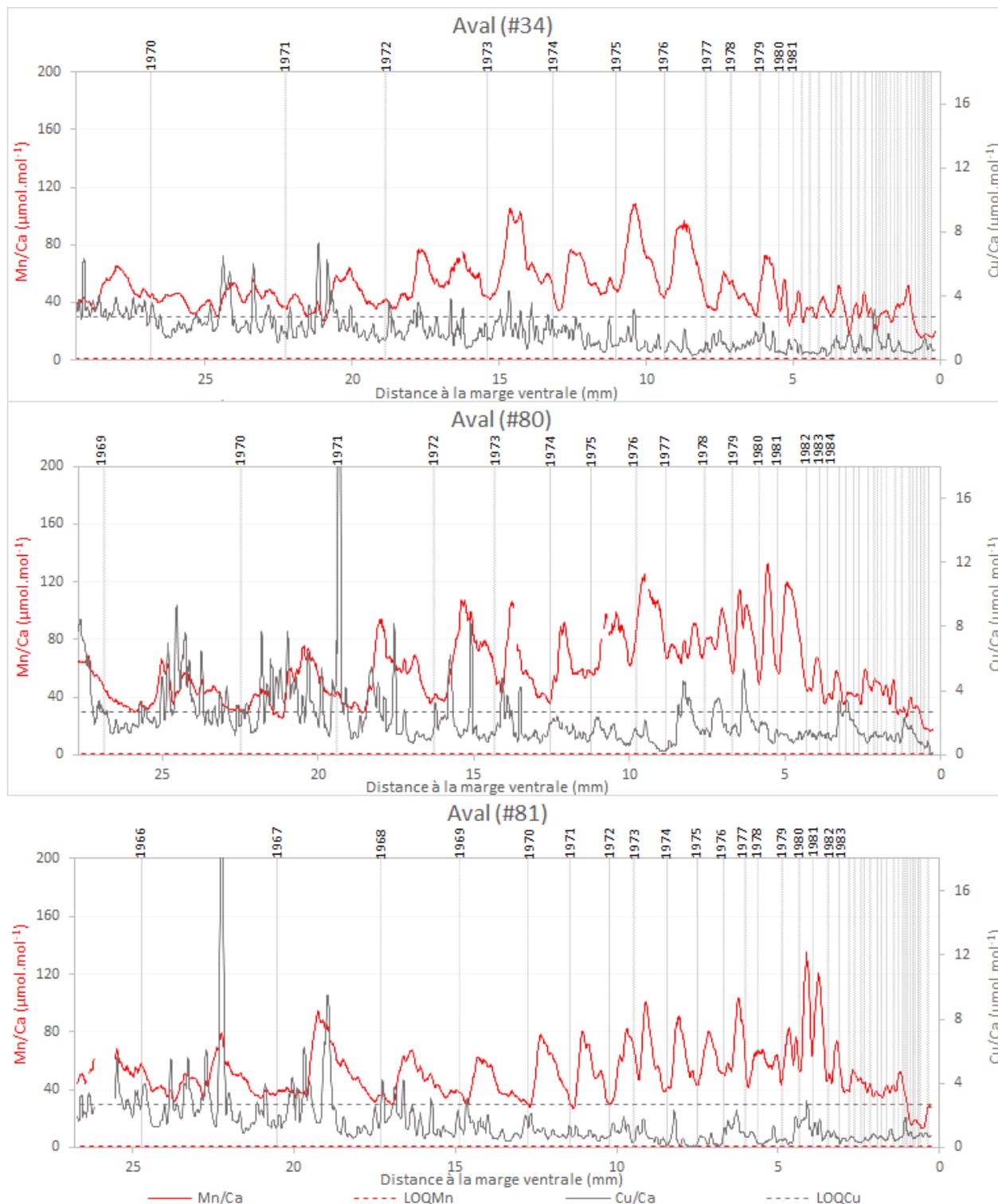


Figure 10 : Variations chronologiques de concentrations en cuivre et en manganèse des coquilles de trois individus adultes provenant de l'aval. Les limites de quantification ( $loq = 3 \times$  limite de détection) sont représentées en pointillés horizontaux et la position des stries en pointillés verticaux gris.

En ce qui concerne le cuivre, un problème de quantification dans la coquille 70 a conduit à la non présentation des résultats pour celle-ci. L'observation des variations temporelles de concentration des deux autres individus montre que son incorporation est assez fluctuante selon la coquille observée et souvent à des niveaux de concentration inférieurs à la limite de quantification. Aucun cycle d'incorporation n'est observable. Cette chronologie semble montrer que des concentrations plus importantes en cuivre étaient présentes dans le milieu à la fin des années 1960 et au début des années 1970. Une décroissance de celles-ci avec l'âge est également identifiable.

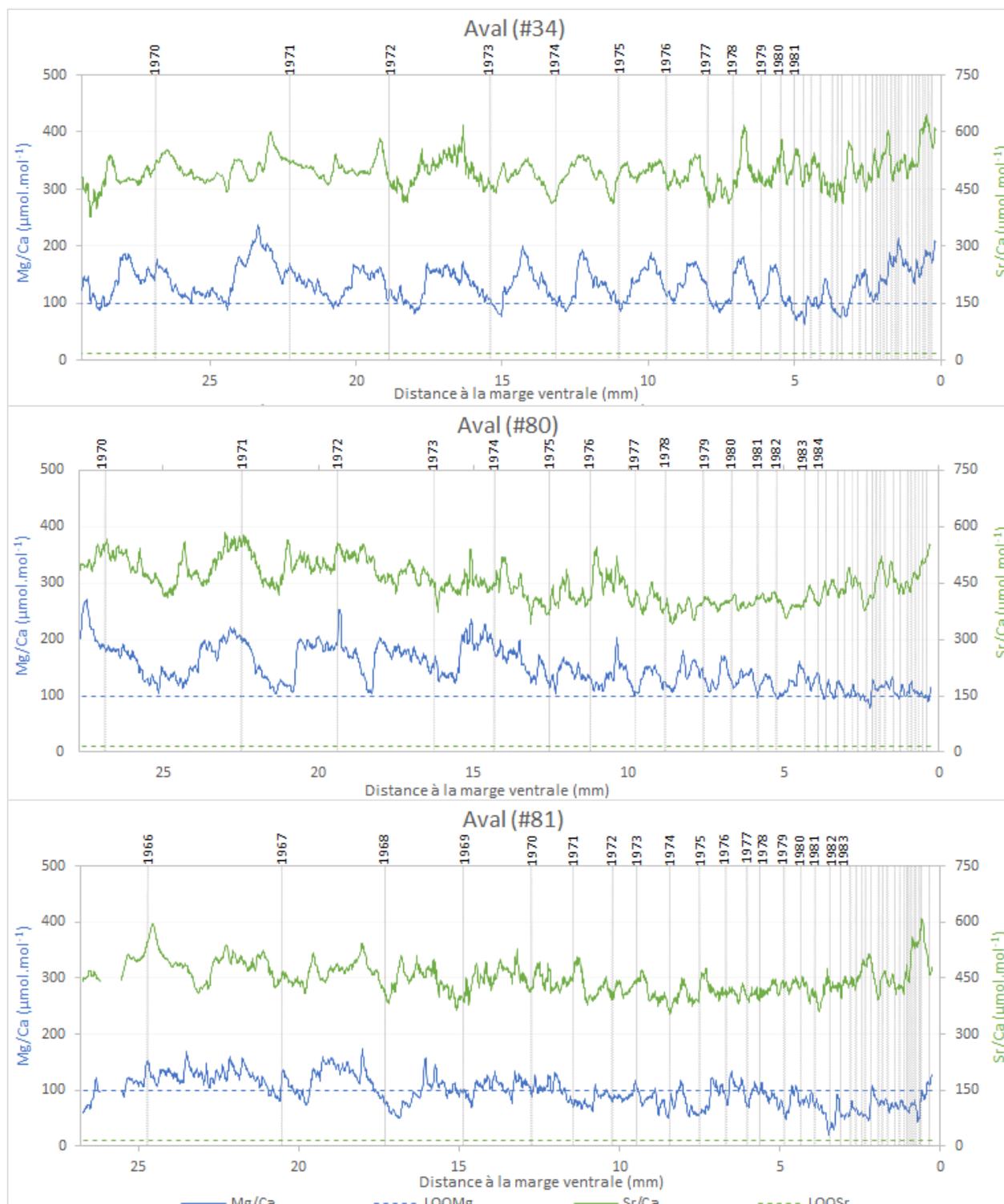


Figure 11 : Variations chronologiques de concentrations en strontium et en magnésium des coquilles de trois individus adultes provenant de l'aval. Les limites de quantification (LOQ = 3x limite de détection) sont représentées en pointillés horizontaux et la position des stries en pointillés verticaux gris.

Concernant les individus prélevés en aval (Figure 10 et 11), de fortes concentrations en manganèse en 1973, 1980 et 1981 sont également retrouvées comme en amont. Il est également remarquable que celles-ci augmentent de 1970 à 1976 dans les trois. Enfin, une baisse de concentration sur les dernières années de vie est encore une fois visible. Les incorporations en cuivre sont similaires à celles trouvées en amont avec encore une fois des épisodes brefs et chronologiquement variables. La MANOVA réalisée pour vérifier la présence d'une pollution au cuivre liée à la décharge montre la présence d'une différence significative individuelle ( $p < 0.0001$ ) mais également d'un effet site ( $p < 0,0001$ ). Une décroissance liée à l'âge est également encore envisageable en vue des baisses progressives des concentrations. Le strontium et le magnésium quant à eux, présentent des augmentations cycliques similaires à celles observées en amont.

La résolution étant très mauvaise sur les dernières années de vie, le même type d'analyse a été réalisé sur de jeunes coquilles pour mieux observer ces variations (Figure 10). Les analyses sur les jeunes individus ont montré des résultats similaires aux précédents. Néanmoins, il est intéressant d'observer, avec une bonne résolution, la dynamique annuelle de ces cycles d'incorporation. La figure ci-dessous présente les variations de concentration molaire en manganèse, magnésium et strontium de deux jeunes individus, un provenant de l'amont et un de l'aval.

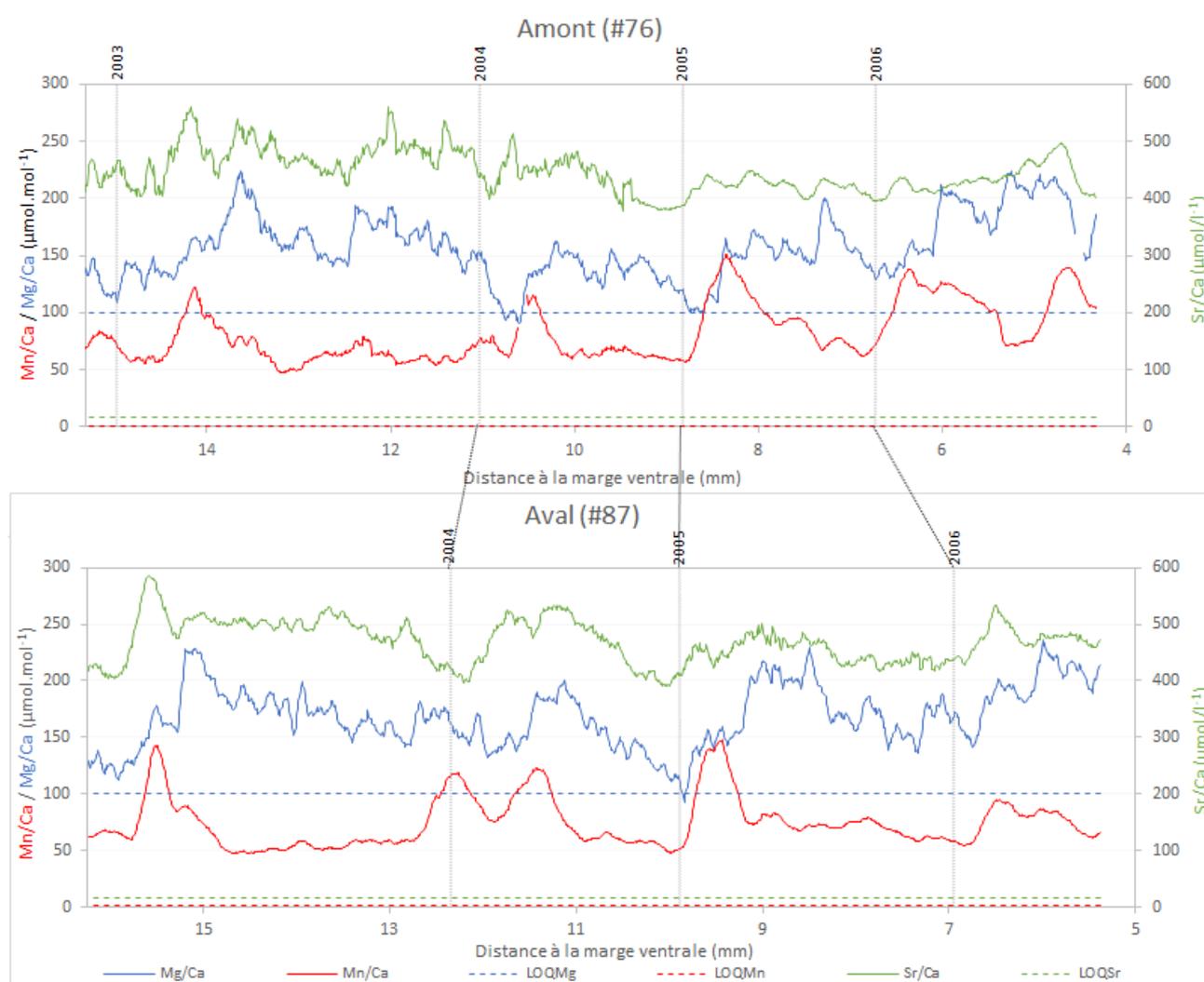


Figure 12 : Variations chronologiques de concentrations en strontium, manganèse et magnésium des coquilles de deux individus juvéniles, un provenant de l'amont et un de l'aval. Les limites de quantification ( $loq = 3 \times$  limite de détection) sont représentées en pointillés.

Ces chronologies mettent en lumière une variabilité saisonnière d'incorporation de ces éléments. Les concentrations semblent augmenter pour les trois dès la reprise de la croissance. Le manganèse se différencie des deux autres éléments par son augmentation soudaine avec des concentrations importantes sur une courte durée de temps puis une chute et une stabilisation. A l'opposé, des concentrations plus élevées de strontium et de magnésium sont présentes sur une grande partie de la largeur des incréments, montrant une incorporation sur une plus grande période de temps.

## IV. Discussion

### IV.1. Variabilité de croissance

Les résultats issus de la modélisation de Von Bertalanffy (Figure. 3) montrent que dans leur ensemble, les deux groupes d'individus ne diffèrent pas dans leur stratégie de croissance. Les coefficients de détermination  $R^2$  étant très élevés, cela prouve comme dans de précédentes études que l'utilisation de ce modèle est pertinente pour l'étude de la croissance de *M. margaritifera* (Miguel et al., 2004). L'utilisation d'un grand nombre d'individu avec toutes les classes d'âge représentées jusqu'à 61 ans (voir annexe, tableau 1) augmente les chances de ce modèle d'être représentatif (minimum de 15 individus nécessaires (Dunca et al., 2011)).

Tableau 1 : Paramètres de croissance issus d'études sur différentes populations de moules en Europe

La comparaison des  $L_\infty$  calculées avec les longueurs maximales observées sur les individus montre, comme dans l'étude de Miguel et al. (2004), que certains individus dépassent cette limite théorique. Ceci confirme le fait que cette valeur est une espérance de taille moyenne et non pas absolue (Bauer, 1992). Si l'on oppose les valeurs de  $L_\infty$ ,  $k$  et  $\Phi'$  obtenues avec celles d'autres populations européennes, les résultats montrent que la population observée se rapproche d'une population étudiée par Miguel et al. (2004) en Espagne ayant une longueur maximale théorique assez faible et un taux de croissance élevé. La

Pays	Latitude (°N)	$L_\infty$ (mm)	$k$ ( $y^{-1}$ )	$\Phi'$	Référence
Nord Finlande	68	113.8	0.025	0.51	Helama et Valovirta (2008)
Sud Finlande	61	112.8	0.051	0.81	Helama et Valovirta (2008)
Suède	62	130	0.036	0.78	Dunca et al. (2011)
Russie	58	120	0.043	0.79	Ziuganov et al. (1994)
Ecosse	57	117.5	0.049	0.83	Hastie et al. (2000a)
Irlande	54	130	0.062	1.02	Beasley (1996)
<b>Cette étude</b>	<b>45</b>	<b>91,6</b>	<b>0,176</b>	<b>1.17</b>	
Espagne	42	91.8	0.12	1.00	San Miguel et al. (2004)

corrélation inverse entre ces deux paramètres démontrée par Bauer (1992) est mise en évidence. Il n'existe pas de courbe de croissance représentative de l'espèce en général. Chaque population présente une courbe différente (Dunca et al., 2011). Ces observations sont en accord avec les connaissances sur la *Bergmann's rule*, loi biologique s'appliquant également à cette espèce (Munch et Salinas, 2009). La latitude influencerait la taille et l'espérance de vie d'une espèce. Les organismes vivants dans des pays froids sont plus gros et vivent plus longtemps que ceux vivants dans des pays chauds (Hunt et Roy, 2006). Ceci serait une adaptation permettant de faire varier le rapport surface/volume corporel dans le but d'une régulation thermique du corps. L'absence d'individus de plus de 61 ans dans les prélèvements est également indicatrice de ceci. L'indice de performance de croissance  $\Phi'$  et le taux de croissance  $k$  semblent assez élevés par rapport aux autres population

étudiées. Cela montrerait que les populations de Dordogne bénéficient de bonnes conditions pour une croissance rapide.

Les courbes de croissances annuelles moyennes (Figure. 4) présentent des résultats également en accord avec les observations précédentes. La croissance des individus est très rapide les premières années de vie et diminue progressivement entre 4 et 20 ans. Arrivé à cet âge, la croissance annuelle devient très faible. Ceci peut être expliqué par l'obtention de la maturité sexuelle des individus qui consacrent, à partir de ce moment-là, une très grande partie de leur énergie à la reproduction (Zotin et Ieshko, 2016). La maturité sexuelle interviendrait plutôt à partir d'une certaine taille d'individu plutôt qu'à un certain âge. En effet, il est possible d'observer que les individus qui s'écartent de la courbe de Von Bertalanffy en grandissant plus vite que prévu, profitant de la présence de conditions meilleures à un moment donné obtiennent à terme la même taille maximale que les autres individus (Zotin et Ieshko, 2016).

Les résultats précédents montrent qu'il ne semble pas y avoir d'effet de la décharge sur les performances de croissance des individus prélevés en aval de celle-ci. Seule une variabilité interindividuelle semble présente.

#### IV.2. Détermination de l'influence de l'environnement sur la croissance

Les individus analysés ayant des âges très différents, la variabilité interindividuelle est difficilement interprétable que ce soit inter-sites ou intra-sites.

Le profil de SGI (Figure. 7) obtenu de cette étude met en évidence la présence d'un ou plusieurs facteurs autre que l'âge ayant une influence sur la croissance. Le succès de cette analyse confirme la qualité de cet organisme pour les reconstitutions des conditions environnementales du passé (Schöne et al., 2004). La significativité des EPS montre la présence d'un effet commun de ce ou ces paramètres sur les mulettes des deux sites. Plusieurs études ont montré que la température était un facteur majeur contrôlant la croissance (Dunca et al., 2011 ; Bauer, 1992). Des données de température aériennes remontant jusqu'à 1973 ont pu être récupérées auprès de la station météorologique de Limoges (Voir annexe 4). Il est concevable d'émettre l'hypothèse que la température de l'eau est fonction de la température aérienne. Le choix de cette station a été conduit par la présence d'un climat similaire entre Saint-Saud Lacoussière et Limoges ainsi que par la connaissance de l'origine du fleuve se situant au Nord. Les températures d'eau seront donc mieux corrélées à celles de la zone d'étude. Ajouté à cela, des données de débit de la Dronne fournies par la DREAL (Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement), relevées à une station proche du lieu d'étude, ont également pu être collectées (voir annexe 5).

Une comparaison visuelle des graphiques de débits annuels avec le profil de SGI semble laisser paraître un lien entre ces deux variables. Des tests statistiques sous forme de régressions linéaires simples (débit x SGI ; Température moyenne x SGI ; Température minimale x SGI ; Variance Température x SGI) et multiples (en combinant les paramètres précédents) ont été réalisés pour vérifier ce lien. Les résultats ont indiqué un effet significatif de la variance de température ( $p=0.028$  ;  $R^2_{ajusté}=0.13$ ) mais pas des autres paramètres. Cela montrerait que les mulettes sont influencées dans leur croissance par les écarts de température entre les différents mois de l'année. Bien que cette variable n'explique qu'environ 13% des variations, il est possible que les données dont nous disposons, étant des moyennes annuelles ou mensuelles, ne rendent pas suffisamment compte de

la variabilité réelle de ces deux composantes environnementales et donc des variations rapides de croissance. Il se pourrait également que la solution soit plus complexe avec une multitude d'autres facteurs à prendre en compte.

L'environnement semble appliquer la même contrainte sur les deux zones d'étude. Cela remet en cause l'importance de l'influence de la décharge sur les croissances coquillères. Pour autant, il se pourrait qu'un effet soit présent mais masqué par l'influence d'autres facteurs.

#### IV.3. Détermination de la composante élémentaire des coquilles

Plusieurs espèces de bivalves sont aujourd'hui utilisées comme archives pour la détermination des concentrations en éléments métalliques dans le milieu (Zuykov et al., 2013). Leur capacité de bioaccumulation est idéale pour cette fonction. Pour pouvoir interpréter les concentrations que l'on trouve dans les coquilles, il est nécessaire d'acquérir des connaissances sur la physiologie de l'espèce (Carroll et Romanek, 2008). Les incorporations d'éléments métalliques dans la matrice carbonatée seraient influencées par une multitude de facteurs biotiques comme le taux de croissance (Stecher et al., 1996) et abiotiques (température et autres ; Toland et al., 2000) au moment de la formation des incréments. Cela rend très compliqué la comparaison de résultats entre espèces différentes (Rainbow, 2002) ainsi que la quantification de ces éléments dans le milieu extérieur (Zuykov et al., 2013). La composition élémentaire de base des coquilles est aussi importante. En effet, l'aragonite et la calcite, bien qu'étant deux polymorphes de carbonate de calcium, n'incorporent pas les éléments de la même façon (Foster et al., 2008). Dans le cadre présent, une étude comparative sur une seule et même espèce, ayant une composition coquillère essentiellement aragonitique, provenant de la même rivière et sur des sites très proches, est réalisée. Ce protocole permet de s'affranchir des variabilités citées précédemment. Ajouté à cela, une étude a montré que l'âge des coquilles de *M. margaritifera* tout comme l'importance de son érosion, n'influençaient pas la composition en éléments traces des coquilles (Bolotov et al., 2015). Toutes les conditions pour une comparaison pertinente sont donc respectées.

##### IV.3.a Le manganèse

Cet élément, comme tous ceux présentés ici, est connu pour pouvoir se substituer au calcium lors de la bio minéralisation. La cyclicité annuelle de son augmentation dans les coquilles pourrait s'expliquer de plusieurs façons. Nyström (1996) pense que l'incorporation de cet élément serait liée au taux de croissance ce qui expliquerait la forte augmentation à la reprise de croissance, moment où celui-ci est le plus important. D'autre part, une étude annexe a suggéré une influence printanière liée au phytoplancton et en particulier, à la photosynthèse (Shirokova, 2013). Les précipités riches en manganèse générés par les producteurs primaires en surface lors de celle-ci peuvent être absorbés durant la nutrition des moules (Bolotov et al., 2015). Les fortes augmentations de concentration de cet élément dans les coquilles en début d'année pourraient être associées à la présence de blooms phytoplanctoniques. Ceux-ci étant printaniers, temporaires et associés à l'augmentation de la température, cela pourrait expliquer le lien avec la croissance des moules elles aussi dépendantes de ce facteur. Le manganèse est également fortement influencé par l'oxygène dissous. En effet, cet élément est sujet à l'oxydo-réduction. Une quantité plus importante sous forme biodisponible est présente quand les concentrations en oxygène sont faibles (Nyström et al. 1996). Enfin, Les décroissances de concentration les dernières années de vie pourraient être un artefact dû au fait que les incréments sont tout petits et que chaque donnée laser correspond à

une période de temps assez importante (1 valeur tous les 10µm sur des incréments d'une taille inférieure à 100µm). Le signal est très moyenné et l'observation des maximums de concentration plus compliqué.

#### IV.3.b Le cuivre

Cet élément présent de manière naturelle dans l'environnement est nécessaire pour tous les organismes vivants (Steeman Nielsen et Wium-Andersen, 1970). Pour autant, les concentrations observées sont la plupart du temps induites par des rejets liés aux activités humaines. Le cuivre est souvent un intrant d'origine agricole qui, par lessivage des sols, pollue l'eau et les sédiments des rivières. L'acidification des cours d'eau peut avoir un impact sur la remise en suspension de cuivre sous forme bio disponible. En effet, les variations de pH peuvent accroître la solubilité de cet élément (Cairns et al., 1984). Il reste important à surveiller car il est connu pour être toxique pour les organismes aquatiques à des concentrations assez faibles (10 à 100 µg.L<sup>-1</sup>) (Hartmut et Gerstmann, 2007). Différents effets de cet élément sur les bivalves ont été observés, notamment la réduction du taux de croissance (Hartmut et Gerstmann, 2007). Sur les moules analysées, des fluctuations sont observables sur les deux sites marquant la présence de pollutions sur de courtes périodes mais n'ayant pas l'air d'avoir de lien avec la décharge. L'analyse de variance multivariée MANOVA effectuée sur les données ICP-MS montre que les coquilles avec les plus fortes concentrations proviennent du site amont de la décharge. Malgré cette significativité statistique, ces observations doivent être remises en cause. En effet, elles semblent non rationnelles car une pollution des eaux en amont impliquerait théoriquement un transfert de la pollution vers l'aval suivant le sens du courant. Les très fortes augmentations visibles à quelques reprises sur de très courtes périodes pourraient être causées par le franchissement par le laser de zones riches en matière organique comme les stries, induisant des interférences avec d'autres éléments (Carroll et Romanek, 2008).

#### IV.3.c Le strontium

Présent en concentration importante dans les coquilles (Nystrom et al., 1996), cet élément trace est un de ceux les plus étudiés dans les coquilles carbonatées. De précédentes études ont montré la dépendance du rapport Sr/Ca dans ces dernières envers la température notamment chez les coraux (Goodkin et al., 2007), et les sclérosponges (Rosenheim et al., 2004). D'autre part, des observations sur d'autres groupes taxonomiques ont suggéré que cette capacité d'archivage était également présente, notamment chez les bivalves, et pouvait être utilisée pour reconstruire une chronologie climatique. De ce fait, la longévité importante de certaines espèces permettrait, en observant les variations de ce rapport métallique, de reconstruire des chronologies de température à long terme (Stecher et al., 1996). Pour autant, de nombreuses contradictions sont observables dans la littérature sur cet élément dont l'incorporation semble varier selon le lieu et l'espèce étudiée. Concernant l'espèce *M. margaritifera*, Nystrom et al. (1996) indiquent que des concentrations plus élevées en strontium sont observables durant les périodes de minimum de croissance (mauvaises conditions ou saison hivernale). Cela serait directement lié à la composition des stries, structurées de matière organique plus dense et de moins de calcium faisant augmenter le rapport Sr/Ca (Siegele et al., 2001).

En ce qui concerne les résultats de cette étude, il semblerait que le phénomène inverse soit observé. En effet, hormis pour les premiers incréments où la variabilité paraît être en accord avec ce qui a été dit précédemment, il semblerait ensuite que des minimums de concentration soient

observés durant les phases de faible croissance ainsi que des augmentations durant les fortes croissances. Ceci est bien visible sur les deux individus juvéniles (Figure 10). L'hypothèse d'un effet lié à l'ontogénie pourrait être plausible impliquant un changement de stratégie d'incorporation à partir d'un certain âge. Pour autant, l'analyse des jeunes individus montre que les minimums de concentration en strontium correspondent aux périodes de minimum de croissance, même dans les premières années. Cela pourrait montrer la présence un écart lié à la méthodologie pour replacer les stries sur les données. L'arrondi des coquilles entre les premières stries n'a peut-être pas été suffisamment pris en compte dans les mesures entraînant un mauvais placement de celles-ci. De plus, malgré le réglage de la vitesse d'avancement du laser à  $5 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ , rien ne permet de vérifier la régularité absolue de cette variable. Sur la partie restante des coquilles, une incorporation plus importante se ferait durant les phases de forte croissance ce qui lierait davantage la concentration en strontium au taux de croissance. Izumida et al. (2001), en sont venus à la même conclusion en observant des variations similaires chez une autre espèce de moule perlière d'eau douce (*Hyriopsis sp.*) tout comme Gillikin et al. (2005) chez l'espèce *Saxidomus giganteus* et Lorrain et al. (2005) chez l'espèce de milieu tempéré *Pecten maximus*. Pour autant, des observations de l'incorporation du strontium chez l'espèce longévive *Arctica islandica* montrent qu'elle serait liée à la température et non pas au taux de croissance (J. Thébaud, données non publiées). *M. margaritifera* étant une espèce longévive, de milieux tempérés et d'eau douce, les théories se croisent pour expliquer ce mécanisme. L'observation visuelle des graphiques semble montrer un impact de la température, certaines années enregistrant les mêmes variations de concentration quel que soit l'âge de l'individu. Pour autant, des analyses statistiques sont nécessaires pour démontrer cela. Il se pourrait que d'autres paramètres entrent en compte expliquant les différences observées entre les différentes études.

#### IV.3.d Le magnésium

Avec le strontium, ce sont les éléments traces les plus étudiés dans les coquilles (Schöne et al., 2011). Il est également utilisé pour déterminer les variations de température passées (Schöne et al., 2010). De la même façon, cet élément est source d'ambiguïtés quant au facteur déterminant son incorporation. Les stries hivernales des coquilles, composées de matière organique, sont enrichies en magnésium (Schöne et al., 2010). Comme pour le strontium, des concentrations plus importantes de cet élément devraient se retrouver pendant les périodes de minimum de croissance ainsi que de plus faibles durant les fortes croissances. L'étude de Foster et al. (2008) sur *A. islandica* montre cela avec des augmentations de concentration à proximité des zones de la coquille riches en matière organique (stries, marques d'arrêt de croissance) et une diminution de celles-ci dans les incréments aragonitiques.

Concernant la cyclicité annuelle du magnésium, le phénomène inverse est observé sur les individus de cette étude, de la même façon que pour le strontium. Cela pourrait montrer que le même facteur influencerait l'incorporation de ces deux éléments qui présentent des co-variations temporelles. L'étude de Foster et al. (2008) relate également d'une variabilité entre les coquilles, certaines présentant des pics de concentration élevés dans les incréments et d'autres non. Ces structures aragonitiques, malgré leur faible composition en matière organique comparé aux stries, en sont également pourvus. Une différence de répartition de cette phase organique induirait ces différences inter individus (Foster et al., 2008). Cette répartition variable ainsi que les différentes marques de stress des coquilles pourraient expliquer les concentrations importantes observées sur

la coquille 21. L'hypothèse d'un contrôle de la température sur l'incorporation de cet élément est encore une fois la plus vraisemblable.

Le strontium, le magnésium et le manganèse, sont naturellement présents dans l'eau et les coquilles et ne représentent pas un danger pour les moules aux concentrations observées. Malgré les scepticismes, les deux premiers sont utilisés pour reconstruire le climat passé (Dunca et al., 2005). Cependant, la large gamme de composition biochimique qui est retrouvée dans les milieux d'eau douce remet en question l'utilisation de ces espèces pour cette fonction (Carroll et Romanek, 2008).

## V. Conclusion et perspectives

*Margaritifera margaritifera* est une espèce présentant des caractéristiques très intéressantes pour la reconstitution du climat passé. La dépendance démontrée de son taux de croissance envers la température aérienne de son lieu de vie (Schöne et al., 2004) et sa longévité en font un modèle idéal. L'hypothétique lien précédemment abordé entre le taux de croissance, la température et l'incorporation d'éléments traces pose problème encore aujourd'hui. La diversité des théories avancées ne permet pas de conclure sur une explication commune pour ce mécanisme chez cette espèce. La reconstruction du climat à partir de cette variabilité d'incorporation reste donc sujette à question. Pour autant, les résultats ont montré que l'augmentation d'incorporation de certains éléments pouvait être très facilement observée grâce aux analyses précédentes. Les moules rendraient donc fidèlement compte des variations physico-chimiques de leur milieu de vie, les rendant très intéressantes pour ce genre d'étude comparative. Pour aller plus loin dans la compréhension fine du mécanisme d'incorporation, la comparaison des variations de rapports élémentaires avec des données environnementales pourrait permettre de statuer sur le sujet. Des analyses du  $\delta^{18}\text{O}$  ont par exemple permis de différencier la température des autres facteurs potentiellement influents chez certaines autres espèces davantage étudiées. En ce qui concerne cette étude, la décharge ne semble pas avoir d'impact significatif sur la croissance des moules. Pour autant la présence d'un facteur de variation croissance commun à l'ensemble de la population a été démontré. Dans l'optique d'une réhabilitation de la zone pour la pérennité de cette espèce dans ce fleuve, il serait intéressant d'identifier précisément les paramètres influents sur celle-ci pour voir si des prises de mesure sont nécessaires.

## Bibliographie :

- Addy S., Cooksley S.L., Sime I. (2012). Impacts of flow regulation on freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) habitat in a Scottish Montane River. *Science of the Total Environment* 432: 318–328
- Araujo R., Cámara N., Ramos M.A. (2002). Glochidium metamorphosis in the endangered freshwater mussel *Margaritifera auricularia* (Spengler, 1793): A histological and scanning electron microscopy study. *Journal of Morphology* 254: 259–265
- Arvidsson B.L., Karlsson J., Österling M.E. (2012). Recruitment of the threatened mussel *Margaritifera margaritifera* in relation to mussel population size, mussel density and host density. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 22: 526–532.
- Baudrimont M. (2012). Etude écotoxicologique de la sensibilité aux contaminants métalliques de la moule perlière *Margaritifera margaritifera* en Dronne amont, Dordogne. Université Bordeaux 1 - CNRS, UMR 5805 EPOC.
- Bauer G. (1988). Threats to the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* L. in Central Europe. *Biological Conservation* 45: 239–253.
- Bauer G. (1992). Variation in the life span and size of the freshwater pearl mussel. *Journal of Animal Ecology* 61: 425-436.
- Bauer G., Wächtler K. (2012). *Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida*. Springer Science & Business Media.
- Bolotov I.N., Pokrovsky O.S., Auda Y., Bessalaya J.V., Vikhrev I.V., Gofarov M.Y., Lyubas A.A., Viers J., Zouiten C. (2015). Trace element composition of freshwater pearl mussels *Margaritifera* spp. across Eurasia: Testing the effect of species and geographic location. *Chemical Geology* 402: 125–139.
- Buddensiek V. (1995). The culture of juvenile freshwater pearl mussels *Margaritifera margaritifera* L. in cages: A contribution to conservation programmes and the knowledge of habitat requirements. *Biological Conservation* 74: 33–40.
- Cairns M.A., Nebeker A.V., Gakstatter J.H., Griffis W.L. (1984). Toxicity of copper-spiked sediments to freshwater invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry* 3: 435-445.
- Carroll M., Romanek C.S. (2008). Shell layer variation in trace element concentration for the freshwater bivalve *Elliptio complanata*. *Geo-Marine Letters* 28: 369–381.
- Chauvaud L., Patry Y., Jolivet A., Cam E., Le Goff C., Strand Ø., Charrier G., et al. (2012). Variation in Size and Growth of the Great Scallop *Pecten maximus* along a Latitudinal Gradient. *PLoS ONE* 7: e37717.
- Cochet G., Paris L. (2004). La moule perlière (*Margaritifera margaritifera*, Linné, 1758) et son statut dans le Morvan. *Cahier scientifique n°3*: 22 p.
- Cochet G. (2010). Etat de l'art sur la Moule perlière (*Margaritifera margaritifera*). *Biotope, DREAL Auvergne*: 30 p.

- Cooksley S.L., Brewer M.J., Donnelly D., Spezia L., Tree A. (2012). Impacts of artificial structures on the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* in the River Dee, Scotland. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 22: 318–330.
- Cosgrove P.J., Young M.R., Hastie L.C., Gaywood M., Boon P.J. (2000). The status of the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* Linn. in Scotland. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 10: 197-208.
- Cosgrove P.J., Hastie L.C. (2001). Conservation of threatened freshwater pearl mussel populations: river management, mussel translocation and conflict resolution. *Biological Conservation* 99: 183–190.
- Dunca E., Schöne B.R., Mutvei H. (2005). Freshwater bivalves tell of past climates: But how clearly do shells from polluted rivers speak? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 228: 43–57.
- Dunca E., Söderberg H., Norrgrann O. (2011). Shell growth and age determination in the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* in Sweden: natural versus limed streams. *Ferrantia* 64: 48-58.
- Foster L.C., Finch A.A., Allison N., Andersson C., Clarke L.J. (2008). Mg in aragonitic bivalve shells: Seasonal variations and mode of incorporation in *Arctica islandica*. *Chemical Geology* 254: 113–119.
- Geist J. (2005). *Conservation genetics and ecology of European freshwater pearl mussels (Margaritifera margaritifera L.)*. Doctoral dissertation, Universität München.
- Geist J., Porkka M., Kuehn R. (2006). The status of host fish populations and fish species richness in European freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) streams. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 16: 251-266.
- Geist J., Auerswald K. (2007). Physicochemical stream bed characteristics and recruitment of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*). *Freshwater Biology* 52: 2299–2316.
- Geist J. (2010). Strategies for the conservation of endangered freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera* L.): a synthesis of conservation genetics and ecology. *Hydrobiologia* 644: 69-88.
- Gillikin D.P., Lorrain A., Navez J., Taylor J.W., André L., Keppens E., Baeyens W., Dehairs F. (2005). Strong biological controls on Sr/Ca ratios in aragonitic marine bivalve shells. *Geochemistry Geophysics Geosystems* 6: Q05009.
- Goodkin N.F., Hughen K.A., Cohen A.L. (2007). A multicoral calibration method to approximate a universal equation relating Sr/Ca and growth rate to sea surface temperature. *Paleoceanography* 22: PA1214.
- Gröcke D.R., Gillikin D.P. (2008). Advances in mollusc sclerochronology and sclerochemistry: tools for understanding climate and environment. *Geo-Marine Letters* 28: 265–268.
- Gum B., Lange M., Geist J. (2011). A critical reflection on the success of rearing and culturing juvenile freshwater mussels with a focus on the endangered freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 21: 743–751.
- Gutierrez J.L., Jones C.G., Strayer D.L., Iribarne O.O. (2003). Mollusks as ecosystem engineers: the role of shell production in aquatic habitats. *Oikos* 101: 79–90.

- Hartmut F., Gerstmann S. (2007). Declining populations of freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera*) are burdened with heavy metals and DDT/DDE. *AMBIO: A Journal of the Human Environment* 36: 571–574.
- Hastie L.C., Boon P.J., Young M.R. (2000). Physical microhabitat requirements of freshwater pearl mussels, *Margaritifera margaritifera* (L.). *Hydrobiologia* 429: 59-71.
- Hastie L.C., Boon P.J., Young M.R., Way S. (2001). The effects of a major flood on an endangered freshwater mussel population. *Biological Conservation* 98: 107–115.
- Hastie L.C., Cooksley S.L., Scougall F., Young M.R., Boon P.J., Gaywood M.J. (2003). Characterization of freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) riverine habitat using River Habitat Survey data. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 13: 213–224.
- Hastie L.C., Young M.R. (2003). Timing of spawning and glochidial release in Scottish freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) populations. *Freshwater Biology* 48: 2107–2117.
- Howard J.K., Cuffey K.M. (2003). Freshwater mussels in a California North Coast Range River: Occurrence, distribution, and controls. *Journal of the North American Benthological Society* 22: 63–77.
- Hunt G., Roy K. (2006). Climate change, body size evolution, and Cope's Rule in deep-sea ostracodes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 103: 1347–1352.
- Izumida H., Yoshimura T., Suzuki A., Nakashima R., Ishimura T., Yasuhara M., Inamura A., Shikazono N., Kawahata H. (2011). Biological and water chemistry controls on Sr/Ca, Ba/Ca, Mg/Ca and  $\delta^{18}\text{O}$  profiles in freshwater pearl mussel *Hyriopsis* sp. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 309: 298–308.
- Jansen W., Bauer G., Zahner-Meike E. (2001). Glochidial mortality in freshwater mussels. In: Bauer G. and Wächtler (eds.) *Ecology and evolution of the freshwater mussels unionoida*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 185-211.
- Jones D.S. (1983). Sclerochronology: reading the record of the molluscan shell: annual growth increments in the shells of bivalve molluscs record marine climatic changes and reveal surprising longevity. *American Scientist* 71: 384-391.
- Lingard S.M., Evans R.D., Bourgoin B.P. (1992). Method for the estimation of organic-bound and crystal-bound metal concentrations in bivalve shells. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 48: 179.
- Lorrain A., Gillikin D.P., Paulet Y.-M., Chauvaud L., Le Mercier A., Navez J., André L. (2005). Strong kinetic effects on Sr/Ca ratios in the calcitic bivalve *Pecten maximus*. *Geology* 33: 965–968.
- Machordom A., Araujo R., Erpenbeck D., Ramos M.A. (2003). Phylogeography and conservation genetics of endangered European Margaritiferidae (Bivalvia: Unionoidea). *Biological Journal of the Linnean Society* 78: 235–252.
- Maio J.D., Corkum L.D. (1995). Relationship between the spatial distribution of freshwater mussels (Bivalvia: Unionidae) and the hydrological variability of rivers. *Canadian Journal of Zoology* 73: 663-671.
- Marie B. (2008). Evolution des biominéralisations nacrées chez les mollusques : *caractérisation moléculaire des matrices coquillières du céphalopode nautiloïde Nautilus macromphalus et du*

*bivalve paleoheterodonte Unio pictorum. Interactions entre organismes. Thèse de Doctorat, Université de Bourgogne.*

Mell P., Grance T. (2011). The NIST definition of cloud computing. National Institute of Science and Technology, Special Publication 800-145.

Miguel E.S., Monserrat S., Fernández C., Amaro R., Hermida M., Ondina P., Altaba C.R. (2004). Growth models and longevity of freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera*) in Spain. Canadian Journal of Zoology 82: 1370–1379.

Moorkens E.A. (1999). *Conservation Management of the Freshwater Pearl Mussel Margaritifera margaritifera. Part 1: Biology of the species and its present situation in Ireland* (No. 8). Irish Wildlife Manuals.

Moorkens E. (2011). *Margaritifera margaritifera*. The IUCN Red List of Threatened Species 2011: e.T12799A3382660. Downloaded on 09 June 2017.

Morales J.J., Negro A.I., Lizana M., Martínez A., Palacios J. (2004). Preliminary study of the endangered populations of pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (L.) in the River Tera (north-west Spain): habitat analysis and management considerations. Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems 14: 587–596.

Morales Y., Weber L.J., Mynett A.E., Newton T.J. (2006). Effects of substrate and hydrodynamic conditions on the formation of mussel beds in a large river. Journal of the North American Benthological Society 25: 664–676.

Munch S.B., Salinas S. (2009). Latitudinal variation in lifespan within species is explained by the metabolic theory of ecology. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 106: 13860–13864.

Mutvei H., Westermark T. (2001). How environmental information can be obtained from Naiad shells. *Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida*, pp. 367-379.

Neves R.J., Bogan A.E., Williams J.D., Ahlstedt S.A., Hartfield, P.W. (1997). Status of aquatic mollusks in the southeastern United States: a downward spiral of diversity. *Aquatic fauna in peril: the southeastern perspective. Special Publication, 1*: 44-86.

Nyström J., Dunca E., Mutvel H., Lindh U. (1996). Environmental history as reflected by freshwater pearl mussels in the River Vramsån, southern Sweden. *Ambio* 25: 350-355.

Pauly D., Munro J.L. (1984). Once more on the comparison of growth in fish and invertebrates. *Fishbyte* 2: 21.

Rainbow P.S. (2002). Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environmental Pollution* 120: 497–507.

Rosenheim B.E., Swart P.K., Thorrold S.R., Willenz P., Berry L., Latkoczy C. (2004). High-resolution Sr/Ca records in sclerosponges calibrated to temperature in situ. *Geology* 32: 145–148.

Schöne B.R. (2013). *Arctica islandica* (Bivalvia): A unique paleoenvironmental archive of the northern North Atlantic Ocean. *Global and Planetary Change* 111: 199–225.

- Schöne B.R., Dunca E., Fiebig J., Pfeiffer M. (2005). Mutvei's solution: An ideal agent for resolving microgrowth structures of biogenic carbonates. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 228: 149–166.
- Schöne B.R., Freyre Castro A.D., Fiebig J., Houk S.D., Oschmann W., Kröncke I. (2004). Sea surface water temperatures over the period 1884–1983 reconstructed from oxygen isotope ratios of a bivalve mollusk shell (*Arctica islandica*, southern North Sea). *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 212: 215–232.
- Schöne B.R., Zhang Z., Jacob D., Gillikin D.P., Tütken T., Garbe-Schönberg D., McConnaughey T., Soldati A. (2010). Effect of organic matrices on the determination of the trace element chemistry (Mg, Sr, Mg/Ca, Sr/Ca) of aragonitic bivalve shells (*Arctica islandica*)—Comparison of ICP-OES and LA-ICP-MS data. *Geochemical Journal* 44: 23–37.
- Schöne B.R., Zhang Z., Radermacher P., Thébault J., Jacob D.E., Nunn E.V., Maurer A.-F. (2011). Sr/Ca and Mg/Ca ratios of ontogenetically old, long-lived bivalve shells (*Arctica islandica*) and their function as paleotemperature proxies. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 302: 52–64.
- Shirokova L.S., Pokrovsky O.S., Moreva O.Y., Chupakov A.V., Zabelina S.A., Klimov S.I., Shorina N.V., Vorobieva T.Y. (2013). Decrease of concentration and colloidal fraction of organic carbon and trace elements in response to the anomalously hot summer 2010 in a humic boreal lake. *Science of The Total Environment* 463–464: 78–90.
- Siegele R., Orlic I., Cohen D.D., Markich S.J., Jeffree R.A. (2001). Manganese profiles in freshwater mussel shells. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 181: 593–597.
- Stecher H.A., Krantz D.E., Lord C.J., Luther G.W., Bock K.W. (1996). Profiles of strontium and barium in *Mercenaria mercenaria* and *Spisula solidissima* shells. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 60: 3445–3456.
- Steeman Nielsen E., Wium-Andersen S. (1970). Copper ions as poison in the sea and in freshwater. *Marine Biology* 6: 93–97.
- Strayer D.L., Caraco N.F., Cole J.J., Findlay S., Pace M.L. (1999). Transformation of freshwater ecosystems by bivalves: A case study of zebra mussels in the Hudson River. *BioScience* 49: 19–27.
- Tankersley R.A., Dimock R.V. (1993). The effect of larval brooding on the respiratory physiology of the freshwater unionid mussel *Pyganodon cataracta*. *American Midland Naturalist* 130: 146–163.
- Toland H., Perkins B., Pearce N., Keenan F., Leng M.J. (2000). A study of sclerochronology by Laser Ablation ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 15: 1143–1148.
- Vaughn C.C., Taylor C.M. (1999). Impoundments and the decline of freshwater mussels: A case study of an extinction gradient. *Conservation Biology* 13: 912–920.
- Ziuganov V., San Miguel E., Neves R.J., Longa A., Fernández C., Amaro R., Beletsky V., Popkovitch E., Kaliuzhin S., Johnson T. (2000). Life span variation of the freshwater pearl shell: A model species for testing longevity mechanisms in animals. *AMBIO: A Journal of the Human Environment* 29: 102–105.
- Zotin A.A. (2014). Why linear thermodynamics does describe change of entropy production in living systems? *Natural Science* 6: 495–502.

Zotin A.A., Ieshko E.P. (2016). Irregularity of the linear growth of the *Margaritifera margaritifera* (Bivalvia: Margaritiferidae) population of the Nemina River, Karelia. *Biology Bulletin* 43: 359–365.

Zuykov M., Pelletier E., Harper D.A.T. (2013). Bivalve mollusks in metal pollution studies: From bioaccumulation to biomonitoring. *Chemosphere* 93: 201–208.

## Annexes :

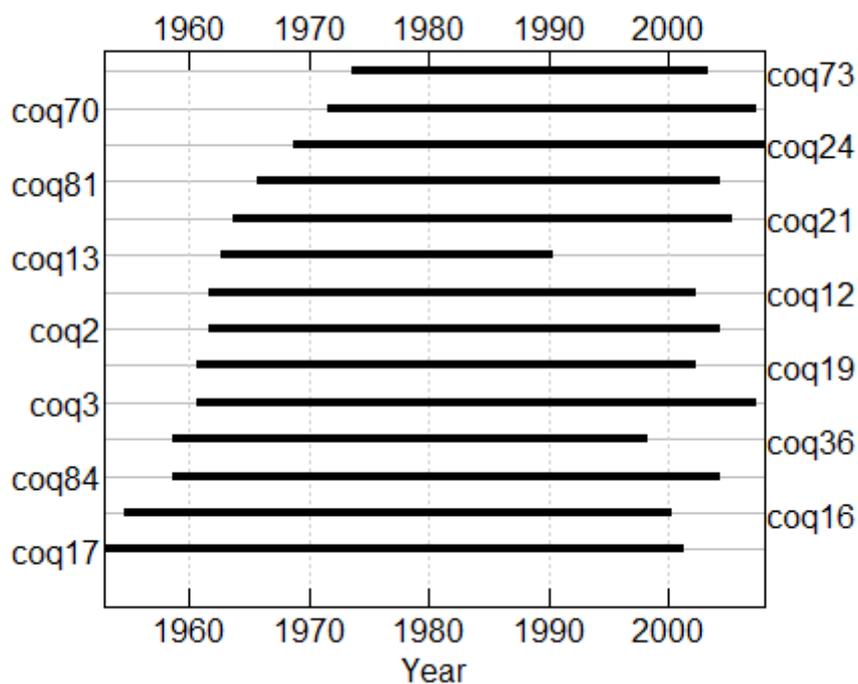
Annexe 1 : Tableau des données biométriques de l'ensemble des mulettes analysées.

N° Margaritifera	Site	longueur (mm)	Age	Date de capture
1	Amont décharge	101	32	08/04/2009
2	Amont décharge	96	45	08/04/2009
3	Amont décharge	99	50	08/04/2009
4	Amont décharge	89	23	08/04/2009
5	Amont décharge	101	60	08/04/2009
6	Amont décharge	93	34	08/04/2009
7	Amont décharge	93	34	08/04/2009
8	Amont décharge	80	10	08/04/2009
9	Amont décharge	78	10	08/04/2009
10	Amont décharge	77	10	08/04/2009
11	Aval décharge	102	52	08/04/2009
12	Aval décharge	102	52	08/04/2009
13	Aval décharge	98	46	08/04/2009
16	Aval décharge	95	58	08/04/2009
17	Aval décharge	95	61	08/04/2009
18	Aval décharge	88	17	08/04/2009
19	Aval décharge	102	53	08/04/2009
20	Aval décharge	89	31	08/04/2009
21	Amont décharge	99	44	01/07/2009
22	Amont décharge	93	39	01/07/2009
23	Amont décharge	93	38	01/07/2009
24	Amont décharge	93	43	01/07/2009
25	Amont décharge	86	27	01/07/2009
26	Amont décharge	86	25	01/07/2009
27	Amont décharge	81	12	01/07/2009
28	Amont décharge	82	12	01/07/2009
29	Amont décharge	77	9	01/07/2009
30	Amont décharge	74	8	01/07/2009
31	Aval décharge	91	34	01/07/2009
32	Aval décharge	89	24	01/07/2009
33	Aval décharge	89	24	01/07/2009
34	Aval décharge	96	44	01/07/2009
35	Aval décharge	87	23	01/07/2009
36	Aval décharge	100	54	01/07/2009
37	Aval décharge	93	36	01/07/2009
38	Aval décharge	81	11	01/07/2009
39	Aval décharge	79	13	01/07/2009
40	Aval décharge	74	9	01/07/2009
70	Amont décharge	98,1	39	18/03/2010
71	Amont décharge	88,9	28	18/03/2010
72	Amont décharge	81,7	25	18/03/2010
73	Amont décharge	89,4	35	18/03/2010
74	Amont décharge	80,7	11	18/03/2010

75	Amont décharge	92,4	46	18/03/2010
76	Amont décharge	80	11	18/03/2010
77	Amont décharge	77,4	11	18/03/2010
78	Amont décharge	76,2	8	18/03/2010
79	Amont décharge	68,5	9	18/03/2010
80	Aval décharge	96,9	43	18/03/2010
81	Aval décharge	97,9	48	18/03/2010
82	Aval décharge	92,8	36	18/03/2010
83	Aval décharge	88,5	23	18/03/2010
84	Aval décharge	93	55	18/03/2010
85	Aval décharge	87,8	27	18/03/2010
86	Aval décharge	86,5	16	18/03/2010
87	Aval décharge	83,1	11	18/03/2010
88	Aval décharge	80,3	9	18/03/2010
89	Aval décharge	80,3	11	18/03/2010
102	Aval décharge	52,8	5	04/11/2015
103	Aval décharge	59,1	5	04/11/2015
104	Aval décharge	49,3	4	04/11/2015
105	Aval décharge	57,9	5	04/11/2015
106	Aval décharge	52,5	4	04/11/2015
107	Aval décharge	51,1	4	04/11/2015
108	Aval décharge	64,7	13	04/11/2015
109	Aval décharge	51,4	4	04/11/2015
110	Aval décharge	57,2	5	04/11/2015
111	Aval décharge	50,4	4	04/11/2015
113	Aval décharge	40,1	4	04/11/2015
114	Aval décharge	45	3	04/11/2015
115	Aval décharge	47,9	4	04/11/2015
116	Aval décharge	46,8	4	04/11/2015
117	Aval décharge	54,5	4	04/11/2015
119	Aval décharge	50,1	4	04/11/2015
120	Aval décharge	33	2	04/11/2015
121	Aval décharge	57,5	5	04/11/2015
122	Aval décharge	41,1	3	04/11/2015
123	Aval décharge	35,6	2	04/11/2015
124	Aval décharge	51,6	4	04/11/2015
125	Aval décharge	34,4	3	04/11/2015
126	Aval décharge	53,8	4	04/11/2015
127	Aval décharge	49,8	4	04/11/2015
128	Aval décharge	43,5	3	04/11/2015
129	Aval décharge	33,5	2	04/11/2015
130	Aval décharge	34	2	04/11/2015
131	Aval décharge	62,2	6	04/11/2015
112	Aval décharge	34,7	2	04/11/2015
132	Aval décharge	34,6	2	04/11/2015
133	Aval décharge	42,8	3	04/11/2015

134	Aval décharge	49	4	04/11/2015
135	Aval décharge	29,9	2	04/11/2015
136	Aval décharge	41,5	3	04/11/2015
137	Aval décharge	52	4	04/11/2015
138	Aval décharge	51,4	4	04/11/2015
139	Aval décharge	54,7	4	04/11/2015
140	Aval décharge	52	4	04/11/2015

Annexe 2 : Chronologie des périodes de vie des 14 individus issus de l'amont (6) et de l'aval (8) utilisés pour l'analyse de l'influence environnementale sur la croissance.

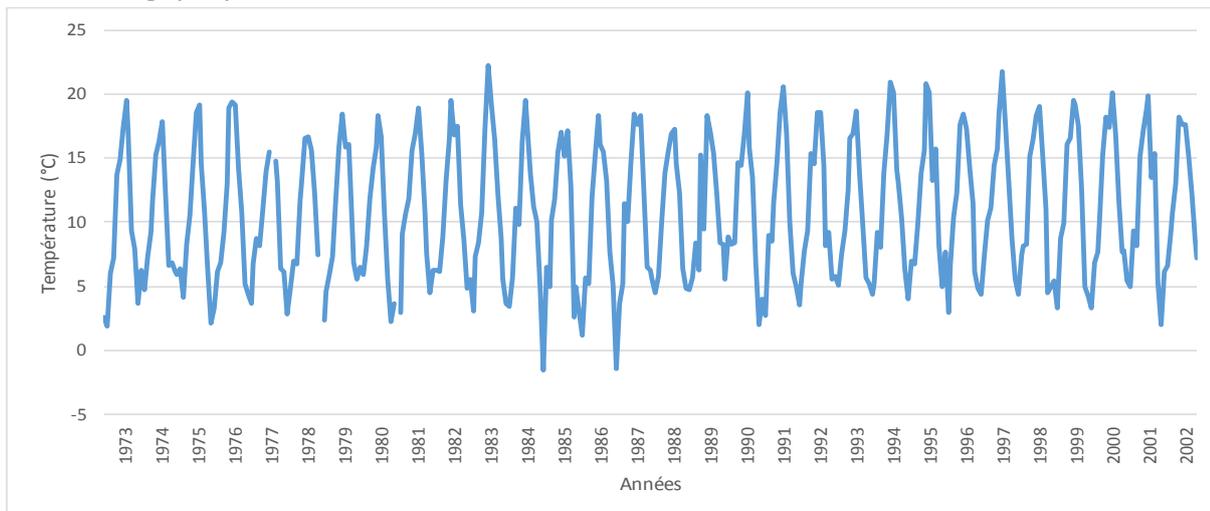


Annexe 3 : Tableau des limites de détection et de quantification

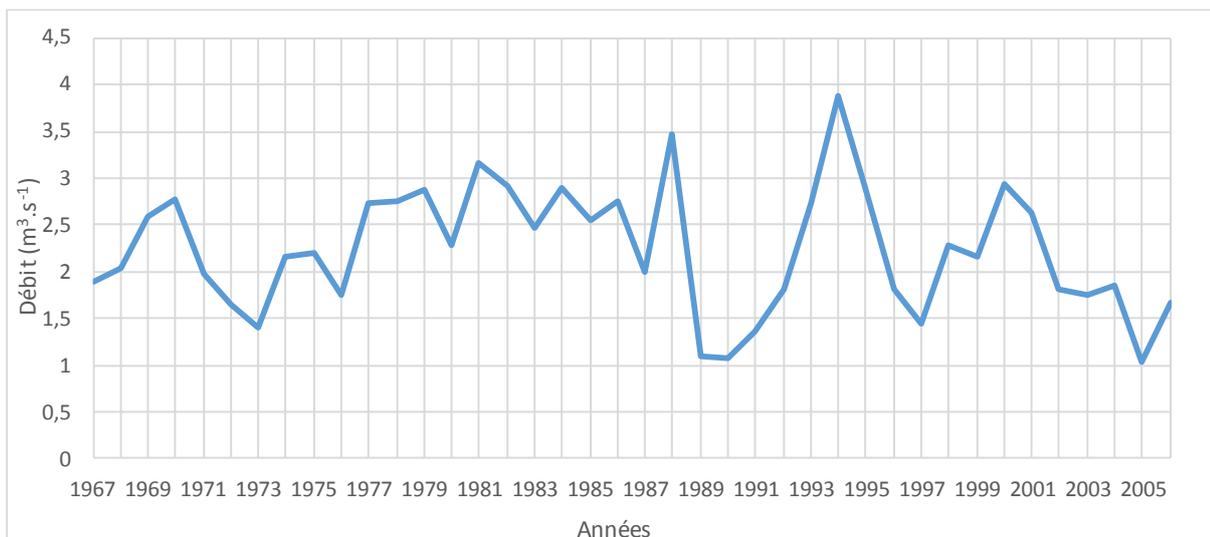
Elément	Li	B	Mg	V	Cr	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn
Limite de détection (µmol/mol)	3,027	0,863	33,261	0,045	2,989	0,298	0,088	4,866	0,901	0,374
Limite de quantification (µmol/mol)	9,080	2,588	99,783	0,134	8,967	0,895	0,265	14,597	2,702	1,121

Elément	As	Sr	Mo	Ag	Cd	Cd2	Ba	Pb	U
Limite de détection (µmol/mol)	0,231	5,599	0,040	0,014	0,054	0,029	0,492	0,003	0,00016
Limite de quantification (µmol/mol)	0,692	16,798	0,120	0,041	0,163	0,087	1,477	0,010	0,00048

Annexe 4 : Chronologie des variations de température moyenne mensuelles relevées à une station météorologique proche du lieu d'étude.



Annexe 5 : Chronologie des variations de débit moyenne annuelles relevées à une station météorologique proche du lieu d'étude.



La moule d'eau douce *Margaritifera margaritifera* est une espèce qui, à ce jour, est fortement en danger d'extinction. Ses exigences en terme de qualité d'habitat et son cycle de vie complexe en font une des premières victimes de l'anthropisation des milieux. Ces organismes longévifs possèdent une coquille aragonitique qui relate la vie des individus. Elle est en effet une archive présentant la croissance du mollusque par accréition annuelle de couches de carbonate de calcium, délimitées par des stries hivernales. La croissance de ces moules est influencée par la température du milieu. Leurs coquilles sont également capables, d'incorporer des éléments traces présents dans leur milieu. L'analyse des variations structurelles et de la composition chimique de ces dernières permettrait, en reconstituant la vie des individus, de fournir une chronologie des conditions climatiques et environnementales du milieu. La Dronne, une rivière du Sud-Ouest de la France, est le lieu de vie de la plus grande population française de *M. margaritifera*. Ce cours d'eau n'échappe pas aux pollutions liées aux activités humaines. La présence d'une décharge à ciel ouvert, avérée depuis au moins une trentaine d'années, en est un bon exemple. Cette étude consistait à analyser l'impact de cette dernière sur la population de moules présente en aval. Pour cela, une caractérisation de la croissance spécifique de cette population fut nécessaire. A partir des variations temporelles de croissance, une chronologie commune a été reconstituée, puis comparée à des données biologiques et climatiques de la zone. Une analyse chimique des coquilles a également permis d'observer les variations d'incorporation d'éléments traces métalliques dans les coquilles. Les hypothèses d'une influence de la température sur celle-ci ainsi que de la pertinence de ce modèle biologique comme archive du climat passé, furent émises. L'absence d'observation d'une influence réelle de la décharge sur cette espèce est encourageante dans l'optique d'une réhabilitation de ce milieu de vie pour assurer la pérennité de la population aujourd'hui présente.

The freshwater mussel *Margaritifera margaritifera* is a species that, nowadays, is highly endangered. Its requirements in terms of habitat quality and its complex life cycle make it one of the first victims of the environment anthropization. These long-lived organisms possess an aragonitic shell that relates the lives of individuals. It is an archive showing the growth of the mollusc by annual accretion of layers of calcium carbonate, delimited by winter striations. The growth of these mussels is influenced by the temperature of their living environment. Their shells are also capable of incorporating trace elements present in their environment. The analysis of the structural variations and the chemical composition of their shell would make it possible, by reconstructing the life of the individuals, to provide a chronology of the climatic and environmental conditions of their area of life. The Dronne is a river of south-western France, is the home of the largest French population of *M. margaritifera*. This watercourse does not escape to the pollution caused by human activities. The presence of an open-air dump, which has been known for at least thirty years, is a good example. This study consisted of analyzing the impact of this dump site on the downstream mussel population. For this, a characterization of the specific growth of this population was necessary. From the temporal variations of growth, a common chronology was reconstructed and then compared with biological and climatic data of the zone. A chemical analysis of the shells also revealed variations in the incorporation of some metallic trace elements into the shells. The hypotheses of an influence of temperature on this issue and of the relevance of this biological model as an archive of the past climate were made. The lack of observation of a real influence of the landfill on this species is encouraging in view of a rehabilitation of this living environment to ensure the survival of the population present today.

*Mots clés : Mulette, sclérochronologie, croissance, stries, incorporation, métaux*