



HAL
open science

Première étude comparative de la microchimie des otolithes et des écailles pour déterminer l'origine spatiale des populations de saumon atlantique

Matthias Vignon, Gilles Bareille, Hélène Tabouret, Romain Semperez

► To cite this version:

Matthias Vignon, Gilles Bareille, Hélène Tabouret, Romain Semperez. Première étude comparative de la microchimie des otolithes et des écailles pour déterminer l'origine spatiale des populations de saumon atlantique. [Rapport de recherche] OFB; INRAE; Agrocampus Ouest; Université de Pau et des Pays de l'Adour; Pôle Gestion des Migrateurs Amphihalins dans leur Environnement. 2020, 26 p. hal-03104019

HAL Id: hal-03104019

<https://hal.inrae.fr/hal-03104019v1>

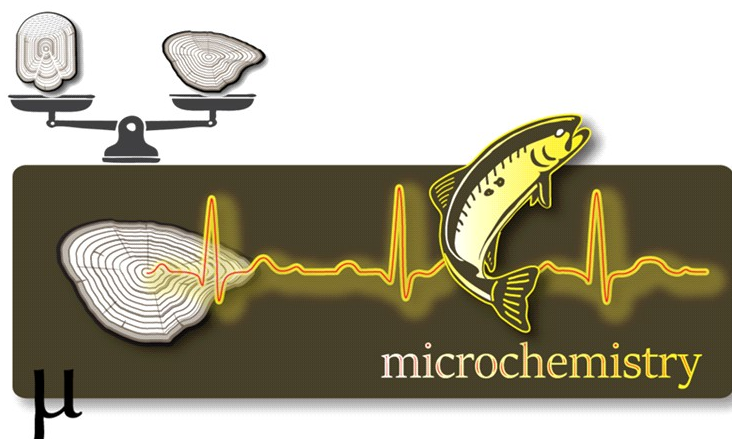
Submitted on 8 Jan 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Première Étude Comparative De La Microchimie Des Otolithes Et Des Écailles Pour Déterminer L'origine Spatiale Des Populations De Saumon Atlantique

Rapport final



Matthias VIGNON^{1,2}
Gilles BAREILLE³
Hélène TABOURET³
Romain SEMPEREZ¹

¹ Université de Pau et des Pays de l'Adour, e2s UPPA, INRAE, ECOBIOP, Collège STEE

² Pôle Gestion des Migrateurs Amphihalins dans leur Environnement, OFB, INRAE, AGROCAMPUS OUEST, UNIV PAU & PAYS ADOUR/E2S UPPA

³ Université de Pau et des Pays de l'Adour, e2s UPPA, CNRS, IPREM, Collège STEE

Janvier 2020

- **AUTEURS**

Matthias VIGNON, Maître de Conférence UPPA (Université de Pau et des Pays de l'Adour, e2s UPPA, INRAE, ECOBIOP, Collège STEE ; Pôle Gestion des Migrateurs Amphihalins dans leur Environnement, OFB, INRAE, AGROCAMPUS OUEST, UNIV PAU & PAYS ADOUR/E2S UPPA, Anglet, France), <mailto:matthias.vignon@inrae.fr>

Gilles BAREILLE, Chargé de Recherche CNRS (Université de Pau et des Pays de l'Adour, e2s UPPA, CNRS, IPREM, Collège STEE, Pau, France), gilles.bareille@univ-pau.fr

Hélène TABOURET, Ingénieur de Recherche CNRS (Université de Pau et des Pays de l'Adour, e2s UPPA, CNRS, IPREM, Collège STEE, Pau, France), helene.tabouret@univ-pau.fr

Romain SEMPEREZ, Étudiant Master 2 (Université de Pau et des Pays de l'Adour, e2s UPPA, INRAE, ECOBIOP, Collège STEE, Anglet, France.).

Droits d'usage : Accès réservé à l'OFB et membres affiliés

Niveau géographique : National.

Couverture géographique : France

Niveau de lecture : Citoyens, professionnels, experts.

- **PREMIÈRE ÉTUDE COMPARATIVE DE LA MICROCHIMIE DES OTOLITHES ET DES ÉCAILLES POUR DÉTERMINER L'ORIGINE SPATIALE DES POPULATIONS DE SAUMON ATLANTIQUE, VIGNON M., BAREILLE G. TABOURET H. & SEMPEREZ R.**

- **RÉSUMÉ**

Dans la perspective de mieux comprendre le rôle de la dispersion dans la conservation des populations de saumon Atlantique face aux pressions environnementales et anthropiques qu'ils subissent, il est vital de quantifier la part relative des migrants des populations. Pour répondre à cet enjeu, ce projet a eu pour objectif d'évaluer le potentiel de la microchimie des écailles comme outil non-léthal permettant de déterminer l'origine spatiale (rivière natale) des individus. Une telle avancée doit permettre un retour historique sur les larges banques de données scalimétriques existantes alors que les banques d'otolithes sont beaucoup plus restreintes, tant spatialement que temporellement.

Durant ce projet, nous avons évalué le potentiel de l'analyse microchimique élémentaire (Sr, Ba, Mn, Mg, Zn, ...) des écailles de saumon Atlantique (*Salmo salar*) pour déterminer l'origine spatiale des individus. Pour ce faire, nous effectuerons une analyse comparative des éléments microchimiques entre otolithes (méthode de référence) et écailles dans le but d'évaluer 1) l'importance des effets de l'altération des signatures géochimiques contenues dans les écailles lors du séjour en mer (contrairement à l'otolithe dans lequel les signatures sont inertes, celles des écailles pourraient subir des modifications dans le temps), et 2) la pertinence de l'écaille pour déterminer l'origine spatiale des individus. À partir de saumon prélevés sur deux zones géographiques en France (bassin Adour-Nivelle et rivières Finistère Sud) et pour lesquels nous disposons à la fois des otolithes (dont la plupart ont été déjà analysés avec attribution d'une origine natale précise pour chaque individu) et des écailles, nous pouvons conclure que la microchimie des écailles provenant d'individus anadrome possède de très faibles performances, sans comparaison possible avec celles obtenues à l'aide des otolithes. Cette différence de performance repose principalement sur l'altération des signatures chimiques de l'écaille lors du passage en mer, se traduisant par une très forte atténuation des signatures natales.

- **MOTS CLÉS : OTOLITHE, MICROCHIMIE, ORIGINE NATALE, FRANCE, SAUMON, SALMO SALAR**

• SOMMAIRE

I. Introduction.....	5
II. Matériel et méthode.....	9
III. Résultats.....	15
IV. Discussion.....	20
V. Conclusion.....	23
VI. Bibliographie.....	24

- PREMIÈRE ÉTUDE COMPARATIVE DE LA MICROCHIMIE DES OTOLITHES ET DES ÉCAILLES POUR DÉTERMINER L'ORIGINE SPATIALE DES POPULATIONS DE SAUMON ATLANTIQUE

I. Introduction

Les populations de poissons sont rarement isolées. Il est fréquent que des individus d'une population donnée dispersent spatialement pour se reproduire dans d'autres populations. Cette structure en métapopulation peut avoir des conséquences démographiques et génétiques importantes (Rieman & Dunham 2000; Carlson *et al.* 2014). En effet, les dispersants peuvent influencer la dynamique locale de la population, contribuer au maintien de petites populations ou favoriser la recolonisation de milieux restaurés. L'évaluation des capacités de dispersion des poissons anadromes et de leur structure en métapopulation est donc nécessaire afin de mieux comprendre le fonctionnement des populations et définir des mesures de gestion appropriées. Pourtant, dispersion et structure en métapopulation des salmonidés restent encore très mal connues, en particulier en ce qui concerne le saumon Atlantique (*Salmo salar*, Fig. 1). L'enjeu est donc de pouvoir identifier et discriminer les individus dispersants de ceux revenant dans leur rivière natale afin d'évaluer le taux de dispersion et leur contribution à la population locale.



Figure 1 : *Salmo salar*

Afin d'évaluer le taux de dispersion et la contribution des dispersants à la population locale, il est nécessaire de connaître l'origine spatiale (rivière natale) des individus. L'analyse microchimique des otolithes permet cette identification avec une grande fiabilité (Martin *et al.* 2013 ; Brennan *et al.* 2015; Daverat & Martin, 2016). Cependant, cette approche est létale puisque qu'elle impose le sacrifice d'individus pour prélever les otolithes. Actuellement, l'échantillonnage se base principalement sur l'acquisition d'individus morts capturés par pêche. L'échantillonnage associé est potentiellement biaisé (captures sélectives) et limité, car dépendant des taux de prélèvement et participations des pêcheurs, ainsi que de la période d'ouverture de la pêche. Une alternative serait d'utiliser l'analyse microchimique des écailles de salmonidés. En effet, les écailles représentent un échantillonnage non létal, facile à prélever et abondant (une large collection est déjà disponible sur de nombreuses populations en France, voir par exemple <https://colisa.fr/>).

Dans le cadre des projets OTOLITHES (2009-2012), HIVISABA (2012-2013) et CARPOMIBA (2013-2017) soutenus financièrement par le Conseil Général 64, l'Agence de l'Eau Adour-Garonne, le Centre national de la Recherche Scientifique (CNRS), l'INRA (Saint-Pée-sur-Nivelle) et l'Université de Pau (UPPA), un outil innovant a été développé à

l'IPREM (UMR 5254 CNRS/UPPA), la microchimie des otolithes (contenu en éléments chimiques d'une pièce calcifiée de l'oreille interne du poisson). Cet outil, basé sur des méthodes de pointe en chimie analytique [ablation laser couplée à des spectromètres de masses quadripolaire (Sr, Ba, *etc.*) et multicollection (isotopes du strontium)], a été testé sur des saumons juvéniles et adultes d'une vingtaine de rivières appartenant à 9 bassins de la façade Atlantique (Adour, Allier, Asturies, Bidasoa, Bretagne, Dordogne, Galice, Garonne, Nivelle). Les résultats indiquent qu'il est possible de déterminer/discriminer à l'aide de la composition chimique des otolithes (Sr:Ca, Ba:Ca et $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ principalement) le bassin d'origine des juvéniles (Fig. 2), mais également d'affiner l'analyse au niveau du sous-bassin, voire de la rivière pour une très large majorité d'individus. L'origine piscicole d'un certain nombre d'individus a également pu être déterminée.

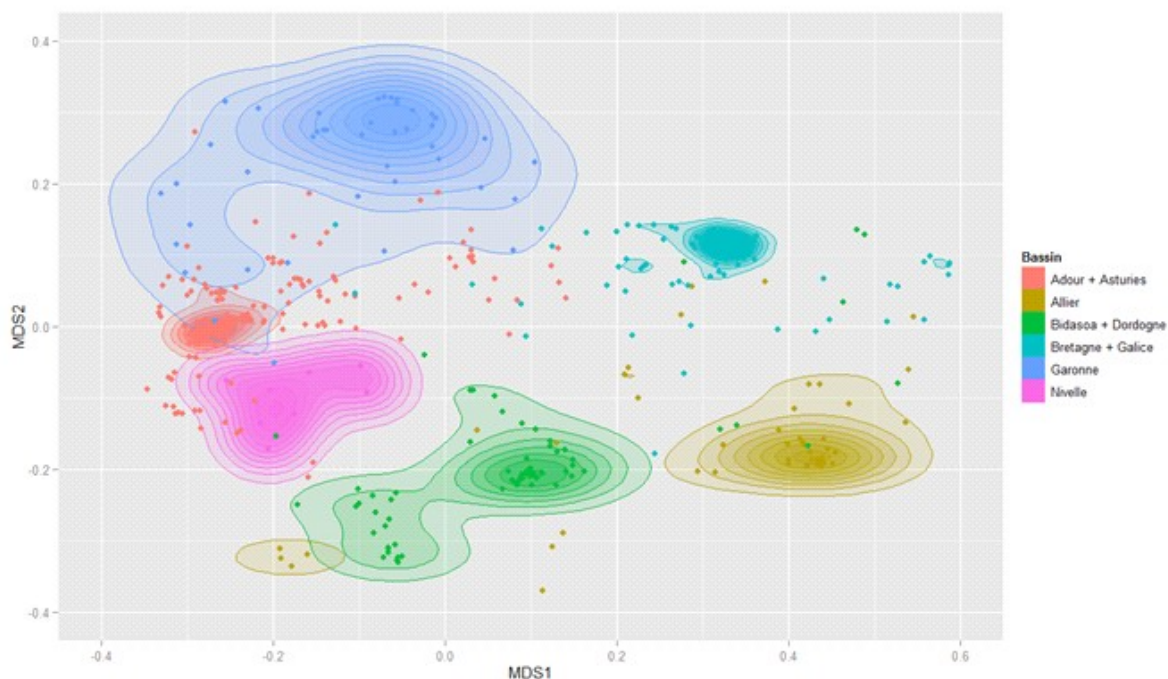


Figure 2 : Ordination discriminante réalisée à partir des signatures élémentaires et isotopiques des otolithes. Le plan correspond aux deux axes d'une NMDS (non-metric multidimensional scaling) basée sur la matrice de confusion obtenue par Randomforest. Plus les points sont éloignés dans le plan, plus grande est la capacité discriminante associée. Toute superposition correspondant à une erreur de classification possible. Certains bassins proches ont été regroupés.

Cet outil a été par la suite appliqué à plus de 750 saumons adultes de retour en rivière entre 2009 et 2015 dans le bassin de l'Adour et la Nivelle. Outre la quantification de l'importance du soutien aux effectifs (alevinage), nous avons aussi pu déterminer l'origine des individus au niveau du bassin avec une très bonne certitude, mais également affiner l'analyse au niveau du sous-bassin, voire de la rivière pour une large majorité d'individus. Cette très bonne réassignation des individus sur la base des signaux otolithométriques a été possible malgré la variabilité inter-annuelle des signaux géochimiques dans les rivières d'origine.

Pour éviter le sacrifice qu'imposent le prélèvement des otolithes, une alternative serait d'utiliser l'analyse microchimique des écailles de salmonidés. En effet, les écailles représentent un échantillonnage non létal, facile à prélever et abondant (une large collection est déjà disponible sur de nombreuses populations en France, voir par exemple <https://colisa.fr/>). Des études réalisées sur la truite fario (*Salmo trutta*) ont montré que les écailles semblent fournir une étiquette biogéochimique de performance comparable avec les otolithes (Wells *et al.*, 2003a ; Ramsay *et al.* 2011, 2012). Étant donné la grande variabilité inter-élément et interspécifique de déposition (Zimmerman *et al.* 2013; Tzadik *et al.* 2017),

une étude complémentaire sur le saumon Atlantique semble indispensable et prometteuse comme récemment démontré par Flem *et al.* (2017). Ces études se sont cependant concentrées sur des individus juvéniles n'ayant jamais changé de conditions environnementales au cours de leur vie et pour lesquelles l'analyse in toto des écailles est possible. Dans le cas d'adultes anadromes, la superposition/juxtaposition de dépôts marins sur la zone formée en phase juvénile (absence de recouvrement protégeant la zone de dépôt juvénile contrairement à l'otolithe) pourrait diluer la signature rivière originelle, nécessitant une approche analytique spécifique (décapage de surface par exemple). De plus, la composition chimique des écailles pourrait ne pas être figée comme celle des otolithes, laissant la possibilité d'échanges d'ions pouvant intervenir après passage en milieu marin (changement dans l'hydroxyapatite des écailles après leur déposition en phase juvénile ; voir Ryan *et al.* 2016 pour *Salmo trutta*). La possibilité d'une telle altération chimique (Wells *et al.*, 2003b) chez des poissons anadromes peut affecter les performances d'assignations natales. Des recherches additionnelles sont donc nécessaires pour évaluer la stabilité temporelle des éléments microchimiques chez le saumon Atlantique, notamment après passage en milieu marin, et par suite la possibilité d'adapter un protocole analytique permettant de minimiser les effets des altérations post-dépôt.

Outre le remaniement chimique post-migratoire de l'écaille, une autre difficulté méthodologique vient de la stratification naturelle de l'écaille. Deux couches superposées peuvent être identifiées sur une écaille. La première est une couche externe dure et minéralisée composée de phosphate de calcium (appelée hydroxyapatite). Cette couche externe recouvre la couche basale dont la minéralisation est pauvre et est majoritairement composée de collagène (Fig. 3). La couche externe représente environ 30% de la masse de l'écaille. Durant la croissance de l'écailles, cette couche augmente en aire et non pas en épaisseur car elle se forme par accrémentation d'anneaux concentriques ou circuli et parallèles les uns aux autres. La couche basale est un empilement de couches fibreuses de collagène arrangées de manière lamellaire et dont le nombre croît avec l'âge de l'individu. Chaque nouvelle couche est plus grande que la précédente rendant ainsi l'empilement plus épais au centre de l'écaille (focus) et s'affinant vers les parties antérieures.

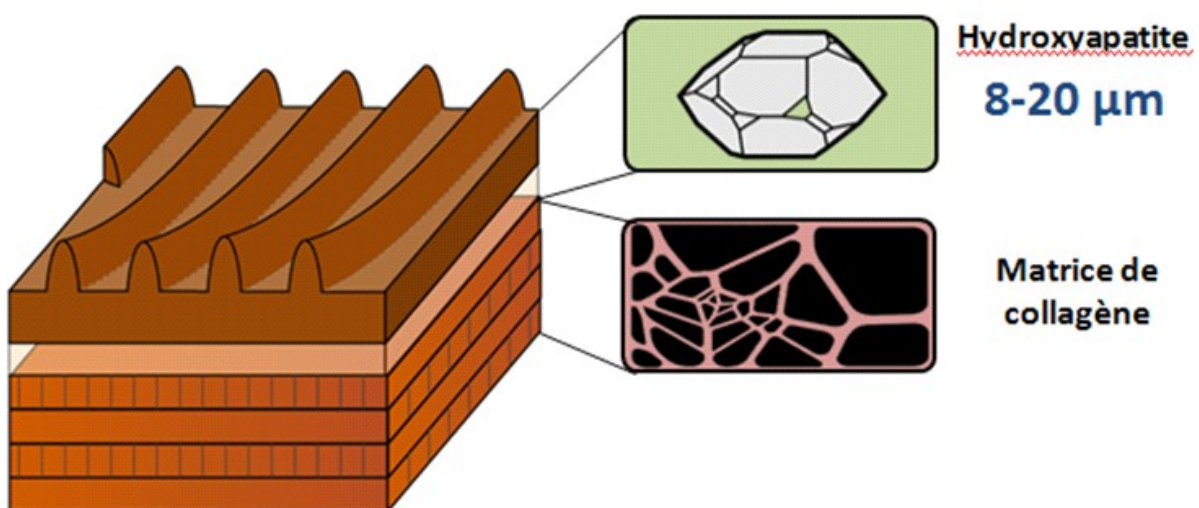


Figure 3 : Stratification d'une écaille. L'épaisseur de la couche d'hydroxyapatite a été mesurée sur les individus utilisés dans la présente étude d'après une coupe transversale médiane.

L'une des principales difficultés méthodologiques rencontrées en travaillant sur l'écaille consiste à n'ablater que la partie superficielle. En effet, seule la couche

superficielle composée d'hydroxyapatite fortement minéralisé renferme les informations microchimiques susceptibles de renseigner l'origine natale des individus. Des coupes fines transversales réalisées au milieu d'écaillés de saumons adultes ont révélé une épaisseur d'environ 8-20 μm , respectivement en fonction du positionnement intra ou inter-circuli (Fig. 3). Un transect d'ablation trop profond sur la zone dorsale de l'écaille pourrait mélanger les signatures chimiques contenues dans la couche externe et dans la couche basale, biaisant ou brisant ainsi potentiellement toutes les mesures réalisées (Fig. 4a). Les dernières technologies accessibles à l'IPREM offrent une résolution analytique bien supérieure à celles utilisées auparavant avec des seuils de détection bien plus bas et une capacité d'ablation superficielle de la matière. Nous serions donc en mesure de n'ablater que la couche superficielle d'intérêt tout en sublimant suffisamment de matériel pour une quantification (Fig. 4b).

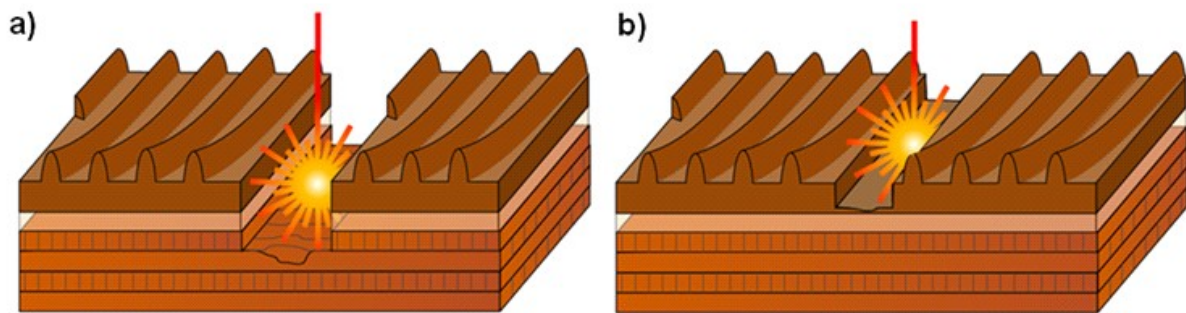


Figure 4 : Ablation laser profonde (a) sublimant une partie de la couche basale constituée de collagène et venant briser les signatures microchimiques ainsi obtenues. Ablation superficielle (b) n'ablatant que la couche superficielle d'intérêt.

Cependant, aucun protocole d'acquisition standard n'existe pour le moment pour évaluer et, si cela est possible, corriger les effets de phénomènes d'altération (remobilisation, dépôt et/ou échanges d'ions) lors du séjour en mer. Il s'agissait donc de développer un protocole d'acquisition des données élémentaires et isotopiques permettant à partir de la zone de l'écaille formée en phase juvénile : premièrement, d'échantillonner la couche superficielle d'hydroxyapatite en limitant la contamination basale due à la présence de collagène ; deuxièmement, dans la mesure du possible, de s'affranchir, ou minimiser les effets marins (altération). La résolution spatiale (bassin, sous-bassin, rivière, etc.) des données ainsi obtenues sera comparée aux données otolithométriques afin de déterminer s'ils constituent une alternative envisageable.

II. Matériel et méthode

Un total de 75 écailles provenant de 70 saumons adultes a été analysé (2 écailles analysées pour 5 individus. À noter que ces pseudo-réplicas seront ultérieurement comptabilisés comme des individus différents). Au total, les 75 individus adultes sélectionnés proviennent de 18 rivières issues de 2 zones géographiques, la Bretagne et le bassin Aquitain sud (Fig. 5). Ces deux zones permettent d'avoir une couverture assez large de la diversité des environnements géochimiques rencontrés en métropole (bassin sédimentaire au sud et granitique au nord).

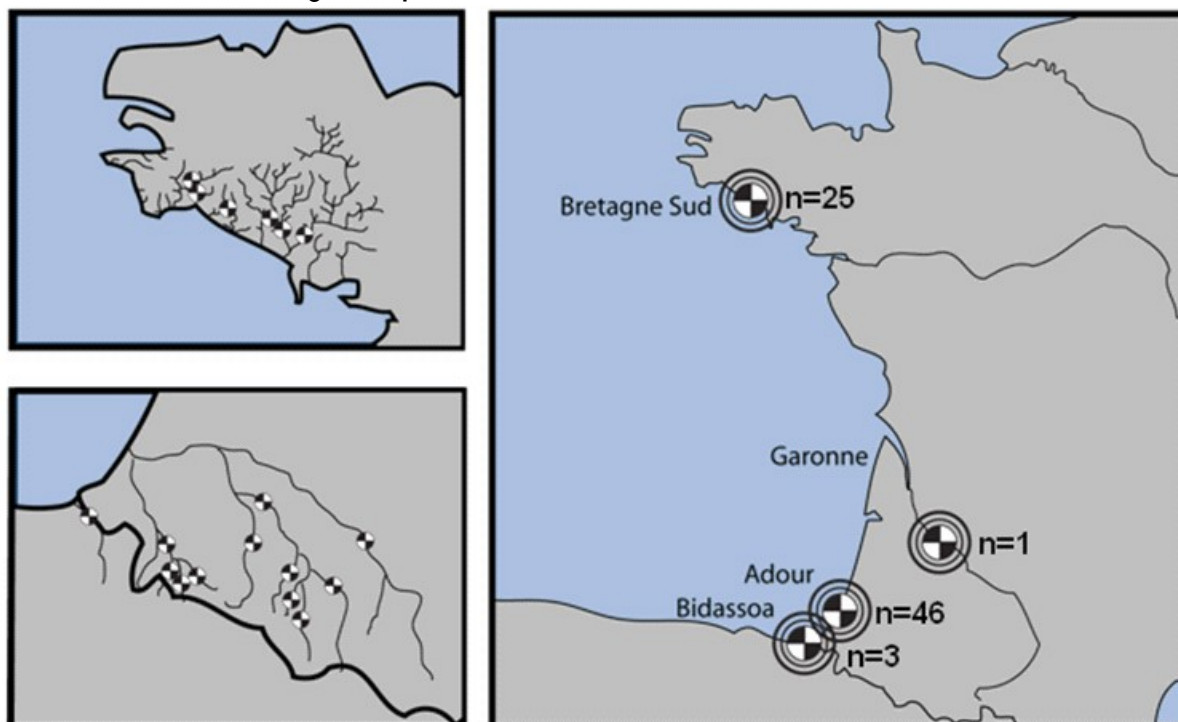


Figure 5 : Bassins de provenance des 75 individus utilisés pour la présente étude. Nombre d'individus échantillonnés indiqué par bassin (N).

45 individus ont été collectés en montaison dans l'estuaire de l'Adour et 25 ont été récupérés via des pêcheurs amateurs dans des rivières du Finistère sud (Fig. 5). Les 45 individus aquitains sélectionnés faisaient partie des individus pour lesquels les otolithes avaient été prélevés et analysés lors du projet CARPOMIBA 2013-2017 (Bareille *et al.*, 2017). L'origine natale de tous ces individus avait été déterminée avec une très bonne probabilité d'assignation ($0,90 \pm 0,08$, moyenne \pm écart-type) grâce au modèle d'assignation préalablement établi sur les données microchimiques des otolithes de juvéniles issus de différentes rivières. Les individus ont été sélectionnés en veillant à conserver le maximum de diversité spatiale au niveau des signatures chimiques identifiées par les eaux de rivières. En l'absence de prélèvement de juvéniles dans les rivières bretonnes, il était impossible d'utiliser un modèle d'assignation comme cela avait été le cas pour les poissons aquitains. Chez les 25 individus retenus dans les rivières du Finistère Sud, l'origine natale supposée correspondait à la rivière de capture. Cette attribution a été rendue possible par la très bonne adéquation entre la signature de l'eau et celle rencontrée dans la partie juvénile des adultes.

Pour les deux pools d'individus (Aquitains et Bretons), l'origine natale inférée par

analyse microchimique des otolithes a ainsi été considérée comme fiable et servira de point de comparaison par rapport aux attributions réalisées chez les mêmes individus à partir des données scalimétriques. Cependant, afin que les modèles Otolithe et Ecaille soient strictement comparables, nous avons construit deux modèles d'assignation reprenant les mêmes éléments chimiques (à savoir Sr, Ba, Mn et Mg).

Tableau 1 : Nombre d'individus sélectionnés par rivière et par bassin pour la comparaison de la microchimie des écailles et des otolithes.

Bassin	Rivière	Écailles	Otolithes
Adour	Aspe	3	14
Adour	Lourdios	2	12
Adour	Oloron	4	22
Adour	Ossau	8	27
Adour	Pau	5	30
Adour	Saison	5	13
Adour	Verts	2	10
Adour	Arnéguy	6	20
Adour	Béhérobie+Nive	8	27
Adour	Laurhibar	3	9
Bretagne	Ellé	5	27
Bretagne	Odet	5	12
Bretagne	Scorf	6	10
Bretagne	Aven	2	2
Bretagne	Blavet	2	2
Bretagne	Jet	5	5
Garonne	Garonne	1	35
Bidasoa	Bidasoa	3	14
Total		75	291

Une fois triées, les écailles ont été nettoyées selon la méthode décrite dans Seeley *et al.* (2015). Après avoir été hydratées pendant 5min dans de l'eau milliQ, les écailles ont été placées dans un bain à ultrason pendant 5min avant d'être nettoyées de toute matière organique à l'aide d'une brosse à dents à poils doux. Les écailles ont été ensuite placées entre deux lames afin qu'elles gardent une forme plane lors du séchage à l'air ambiant pendant une nuit à l'étuve.

Les concentrations élémentaires ont été analysées par un système d'ablation laser couplée à un spectromètre de masse à plasma induit (LA-ICP-MS) de la plateforme PAMAL (Plateforme d'Analyse des Métaux Traces par Ablation laser) de l'IPREM (Institut des Sciences Analytiques et de Physico-Chimie pour l'Environnement et les Matériaux, Pau). Cette technique consiste à échantillonner une fine quantité de matière de la surface d'un solide grâce à un laser et la transférer dans le spectromètre pour en déterminer la composition en ions d'intérêt. Le laser utilisé est un laser femtoseconde (IR 1030nm, Alfamet, Amplitude/, Bordeaux) équipé d'une caméra qui permet de régler précisément la zone de tir à quelques microns. La spécificité de ce laser est sa cadence de tir qui est de

l'ordre du femto seconde (360fs) permettant de réaliser un micro-échantillonnage des solides avec une haute résolution spatiale.

Comme précédemment mentionné, l'une des principales difficultés méthodologiques rencontrées en travaillant sur l'écaille consiste à n'ablaier que la partie superficielle (composée d'hydroxyapatite fortement minéralisée). Des coupes fines transversales réalisées au milieu d'écailles de saumons adultes ont révélé une épaisseur d'environ 20-8 μm , respectivement en fonction du positionnement intra ou inter-circuli. Après une phase de mise au point, nous avons défini les conditions optimum d'ablation pour lesquelles seule la couche externe est échantillonnée en quantité suffisante pour quantifier les éléments déjà utilisés dans les modèles d'assignation utilisant les otolithes (Sr, Ba, Mg, Mn). Les paramètres utilisés sont les suivants: fréquence de tir de 20Hz, vitesse de 5 $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$, avec un diamètre de 10 μm à l'impact, en stratégie "Scan 2D" de 160 μm de large (Tabouret *et al.* 2010). Comparée à une stratégie "Raster scan", la stratégie "Scan 2D" permet d'augmenter la quantité de matière ablatée en surface et non en profondeur et donc d'augmenter la sensibilité de l'analyse sans atteindre la sous-couche de collagène. La stratégie d'ablation de type "Scan 2D" a donc été retenue pour l'analyse des échantillons d'écailles. La figure 6 présente une coupe transversale d'écaille de saumon adulte sur laquelle les deux types d'ablations laser ont été réalisées. En ce qui concerne le deuxième objectif analytique, à savoir minimiser une possible altération chimique de la couche superficielle (hydroxyapatite) lors du séjour en mer, il reposait sur deux critères : premièrement, l'altération se fait exclusivement par dépôt en surface et pas par échange ionique à travers toute la couche superficielle ; deuxièmement ce dépôt de surface est de faible épaisseur et la couche superficielle est suffisamment épaisse pour qu'un décapage de surface puisse être possible. Cependant, compte tenu de la très faible épaisseur de la couche d'hydroxyapatite (8-20 μm), un décapage de surface n'est pas envisageable car il ne resterait pas assez de matériel pour détecter convenablement les éléments d'intérêt sans pénétrer dans la couche basale. En outre, cette très faible épaisseur rendait difficile la vérification en coupe du type d'altération, dépôt de surface ou contamination plus globale de toute la couche superficielle.

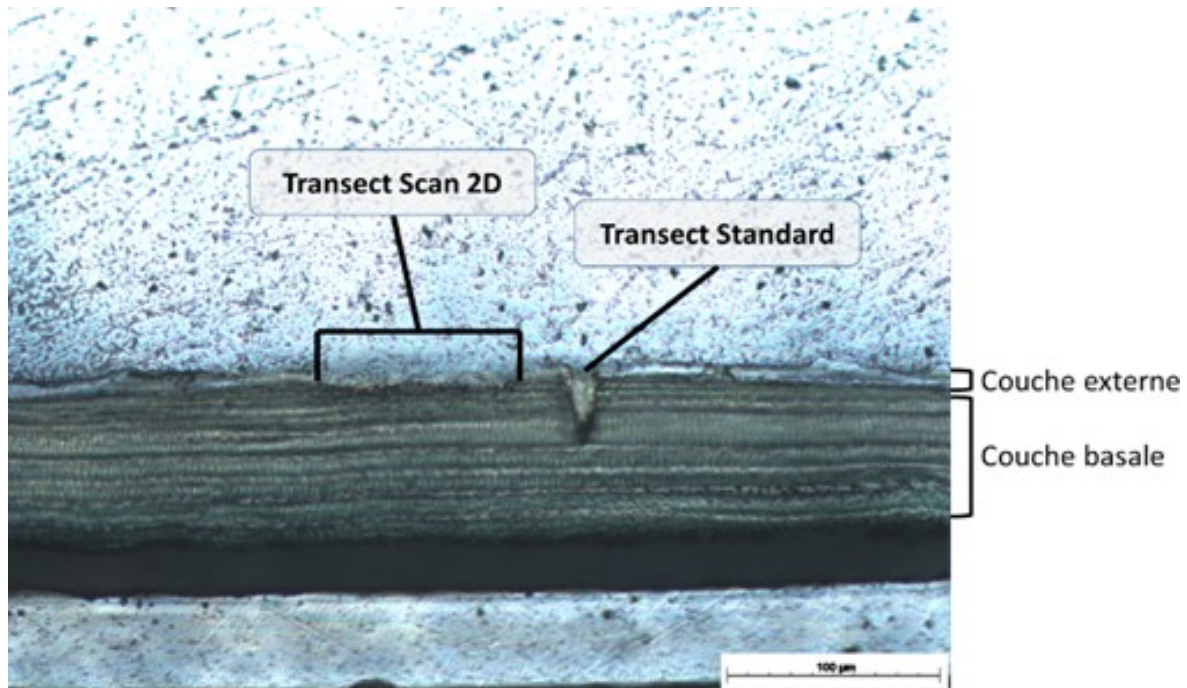


Figure 6 : Coupe transversale d'une écaille de saumon Atlantique (*Salmo salar*) présentant deux modes d'ablation laser différents (Photo R. Semperez)

Les transects réalisés partent tous du centre du focus (début de vie du poisson) et finissent dans la partie de l'écaille qui correspond à la vie marine du saumon. Une fois échantillonnée, la matière est transportée par un flux d'argon jusqu'au spectromètre de masse (Perkin Elmer DRC II). Dans les conditions utilisées dans ce projet, la sensibilité analytique et la haute résolution spatiale de cette technique permettent de déterminer des concentrations élémentaires avec des limites de détection de l'ordre du ppm. Les résultats bruts ont été normalisés grâce à des standards externes [pastilles de verre certifiées (NIST 612, NIST 610), poudre d'otolithes certifiées (FEBS 1) et broya d'os (SRM 1486)] et rapportés à la quantité de calcium (Ca) ablatée. Seule la partie du transect positionnée avant l'anneau de départ en mer (croissance en rivière) a été conservée pour les analyses ultérieures. Ces transects comprenaient un nombre variable de mesures entre écailles, en fonction de leur taille/croissance. Par souci d'homogénéité, les données microchimiques ont été standardisées en réduisant arbitrairement le nombre de mesures à 10 sur chaque transect au moyen d'une moyenne mobile locale. Une telle série de valeurs permet de mieux appréhender la robustesse d'assignation des individus. À noter toutefois que les données utilisées à partir des otolithes ne présentaient pas une telle finesse et consistaient simplement en une seule série de valeurs multiélémentaires (moyenne de la totalité de la zone correspondante au développement juvénile en rivière).

Une partition de la variance (ANOVA) a été réalisée à partir des données microchimiques obtenues dans l'eau, les otolithes et les écailles afin de déterminer la variation inter-rivière (exprimée en pourcentage). Cette variation conditionne en effet très fortement le potentiel discriminant des analyses réalisées ultérieurement et est en mesure de renseigner l'altération potentielle des écailles suite au séjour en domaine marin.

Afin de comparer les performances discriminantes des données microchimiques issues de l'écaille et de l'otolithe, deux analyses discriminantes ont été réalisées : l'une basée sur les otolithes de 291 individus juvéniles déjà exploités dans le cadre du projet CARPOMIBA, l'autre basée sur les 75 individus adultes pour lesquels les données microchimiques issues des otolithes permettaient une reclassification non équivoque. Afin

d'explorer au mieux la résolution spatiale de ces analyses discriminantes, une série exhaustive d'analyses embrassant toutes les échelles possibles a été réalisée. Pour ce faire, une première analyse discriminante a tenté de différencier toutes les rivières à disposition (étape 1, Fig. 7). La matrice de confusion associée a ensuite été utilisée pour identifier les deux regroupements de rivières présentant la meilleure discrimination, puis les trois regroupements de rivières présentant le même critère etc. et ainsi de suite jusqu'à l'obtention du modèle complet initiale (étape 2, Fig. 7).

Le Random Forest (RF) est un algorithme de 'machine learning' particulièrement efficace pour les problématiques de classification/prédiction qui peut se substituer aux traditionnelles analyses discriminantes linéaires ou quadratiques. Cette méthode a déjà été appliquée avec succès pour discriminer des populations de poissons en utilisant la microchimie des otolithes (Mercier *et al.*, 2011). En tant que méthode non-supervisée, l'avantage du RF est qu'il y a relativement peu de paramètres à définir. Pendant la phase de création du modèle, le RF génère un grand nombre d'arbres de classification grâce auxquels il va pouvoir générer une règle discriminante plus performante que s'il était basé sur un arbre simple. Les arbres de classification fractionnent le jeu de données de façon dichotomique en suivant des règles récursives. Dans un RF, plus le nombre d'arbres est important et plus la variance des résultats va diminuer. Tout au long de cette étude, le nombre d'arbres générés a été fixé à 1000, permettant d'obtenir un bon compromis entre temps de calcul et stabilisation de la variance.

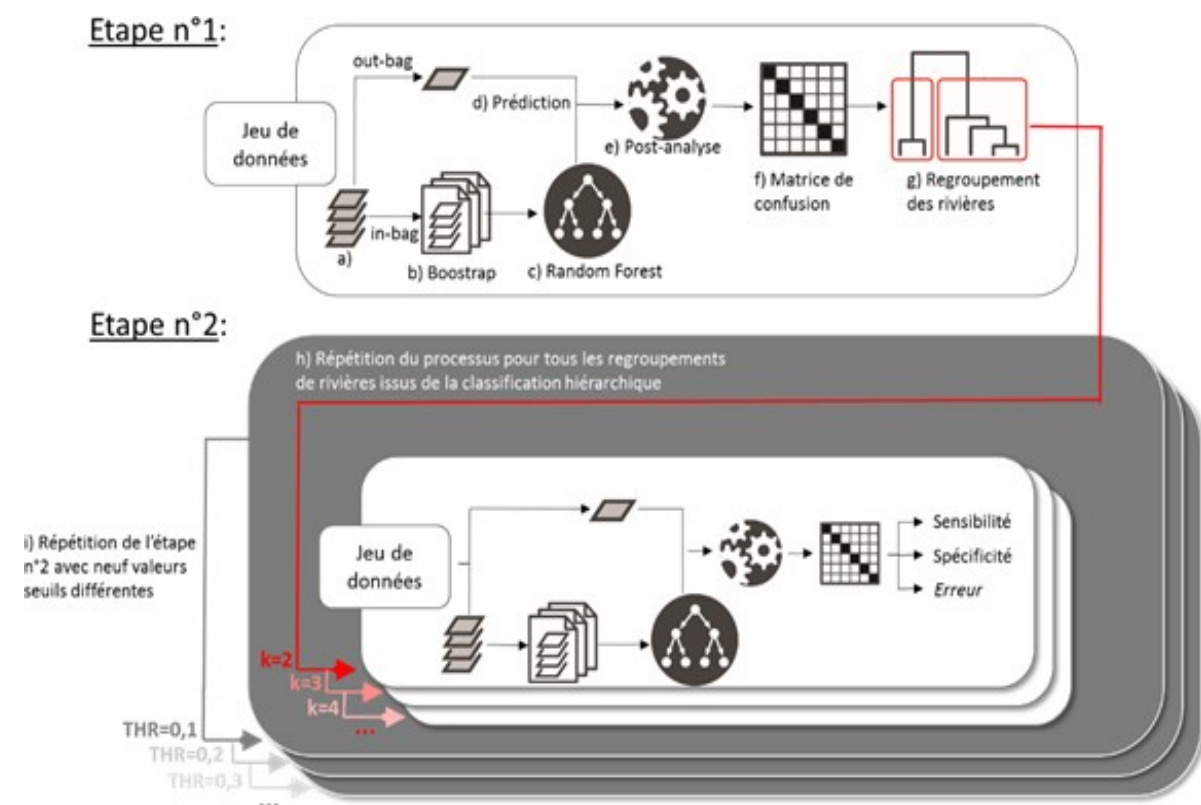


Figure 7 : Récapitulatif des analyses effectuées lors des analyses discriminantes.

Les résultats du RF permettent d'estimer individuellement la probabilité relative d'appartenance à chacune des rivières (ou regroupement de rivières) pour chacun des points du transect. À ce stade, seules les probabilités d'attributions dépassant une valeur seuil (THR) fixée arbitrairement sont conservées. Ce critère permet ainsi de mesurer nos indices de performances discriminantes (voir ci-dessous) uniquement sur les individus présentant un niveau de certitude fixé. L'utilisation d'une haute valeur de THR ne conserve

donc que les individus ayant une très bonne probabilité d'assignation, mais a également pour conséquence de retirer un très grand nombre d'individus, rendant parfois impossible toute mesure de performance, faute d'individus. Afin que les calculs puissent néanmoins être effectués pour de hautes valeurs seuils (THR), chaque ligne/colonne de la matrice de confusion ne présentant pas de données a été arbitrairement remplie de façon équiprobable, pénalisant ainsi peu les mesures de performances associées. En plus de l'utilisation d'une valeur seuil, les résultats issus des RF ont été filtrés de façon à diminuer le bruit d'assignation au sein d'un même transect (peut vraisemblable biologiquement parlant). Pour ce faire, les singletons observés dans les transects individuels (un seul point attribué à une rivière unique, parmi les 10 qui constituent le transect) ont été supprimés en se basant sur l'algorithme de Niels Teichert (2018). Au sein d'un transect, le RF va potentiellement attribuer certains points à des rivières différentes. Si l'un des points est isolé, c'est-à-dire que les deux points d'avant et les deux points d'après indiquent une rivière différente de la sienne, l'assignation de ce point sera changée de façon à corroborer l'ensemble du transect.

Afin de ne pas réaliser un raisonnement circulaire qui consisterait à utiliser les mêmes données pour construire un modèle et à en estimer les performances, une validation croisée a été réalisée. Elle consiste à n'utiliser qu'une fraction (in-bag fraction, tirage aléatoire avec remise de 75% des données initiales) des données disponibles pour créer le modèle et à déterminer grâce à ce modèle l'origine des individus restant (out-bag fraction, Fig. 7). Afin d'explorer un maximum de configurations, 1000 itérations de la création de l'in-out bag fraction ont été réalisées. Étant donné que l'origine réelle des poissons est supposée connue, il est possible de quantifier les performances prédictives du modèle ainsi créé. Les performances discriminantes d'un modèle discriminant peuvent être visualisées sous forme de matrice de confusion (Fig. 7). Ce type de matrice se présente sous forme de tableau à double entrées. La première (représentées en ligne dans tout le reste du rapport) correspond aux rivières réelles d'origine. La deuxième entrée (représentée en colonne) représente la rivière d'origine prédite par le modèle à partir des signatures microchimiques. Une classification hiérarchique ascendante peut être obtenue à partir des matrices de confusion après transformation en matrice de distance et permet une visualisation complète du potentiel discriminant entre rivières, ainsi que des confusions possibles. Le pourcentage d'individus incorrectement reclassifiés dans out-bag fraction à travers toutes les itérations est une métrique synthétique permettant d'estimer la performance globale du modèle discriminant.

Afin d'explorer un grand nombre de configurations possibles, nous avons réalisé toute une série de modèles utilisant une valeur seuil (THR) allant de 0,1 à 0,9 par pas de 0,1 et pour un nombre de regroupements de rivières allant de 2 à 18. Pour chacun de ces modèles, la performance associée (pourcentage d'individus incorrectement reclassifiés) a été enregistrée.

III. Résultats

Les figures 8 à 11 illustrent le contraste existant dans la composition en strontium, baryum, magnésium et manganèse relevée entre les différentes rivières dans l'eau (lorsque disponible/quantifiable), ainsi que dans la partie juvénile des otolithes ou des écailles. Une partition de la variance a été réalisée à l'aide d'une ANOVA et la fraction attribuable aux différences inter-rivières y est clairement indiquée sous forme de pourcentage. De façon générale, plus cette variance est importante, meilleure peut être la discrimination entre les sites. Si cette fraction demeure comparable entre les otolithes et les écailles pour le manganèse et dans une moindre mesure le baryum, elle chute drastiquement pour le magnésium (d'un facteur 2) et surtout pour le strontium (d'un facteur 5).

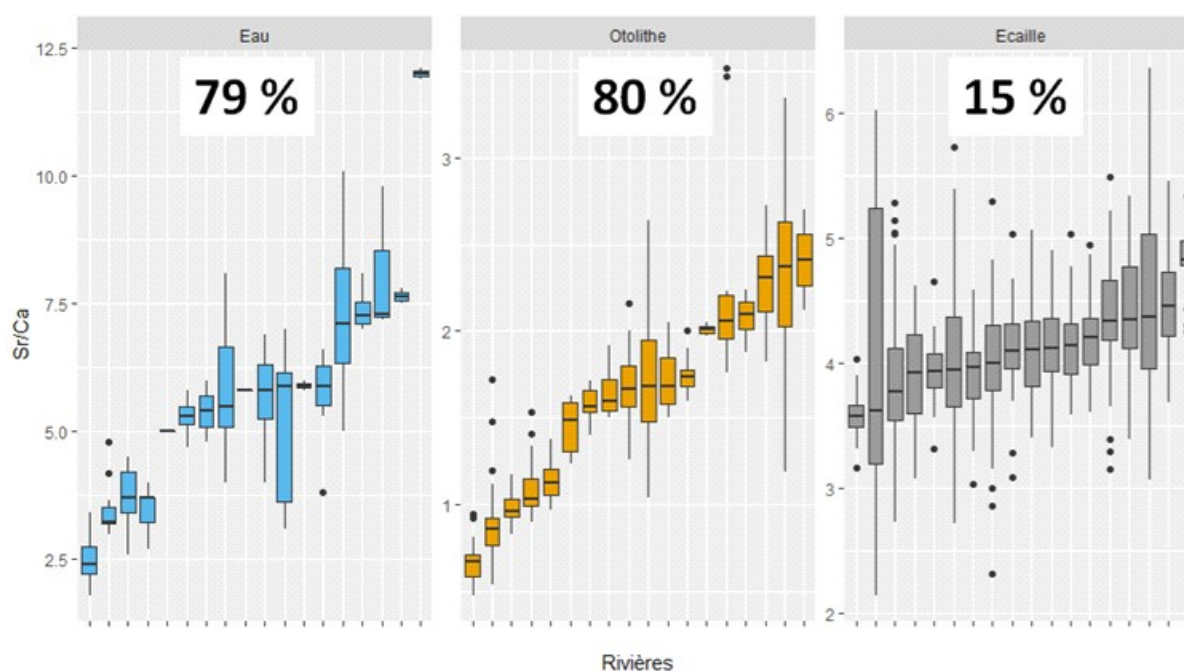


Figure 8 : Quantification et visualisation de la variabilité inter-rivière de la concentration en strontium. Dans chaque onglet (eau, otolithe, écaille), les rivières ont été ordonnées par valeurs croissantes, sans correspondance d'un onglet à l'autre. La valeur indiquée en haut de chaque onglet correspond au pourcentage de variance inter-rivière déterminé par l'ANOVA.

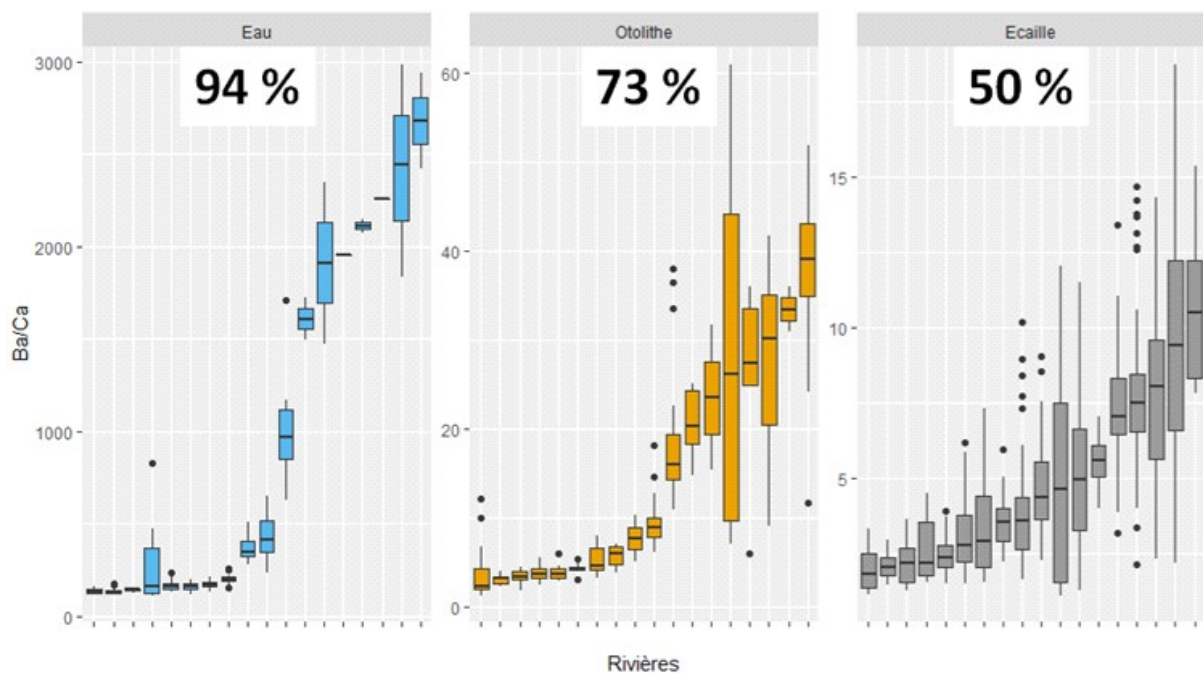


Figure 9 : Quantification et visualisation de la variabilité inter-rivière de la concentration en baryum. Dans chaque onglet (eau, otolithe, écaille), les rivières ont été ordonnées par valeurs croissantes, sans correspondance d'un onglet à l'autre. La valeur indiquée en haut de chaque onglet correspond au pourcentage de variance inter-rivière déterminé par l'ANOVA.

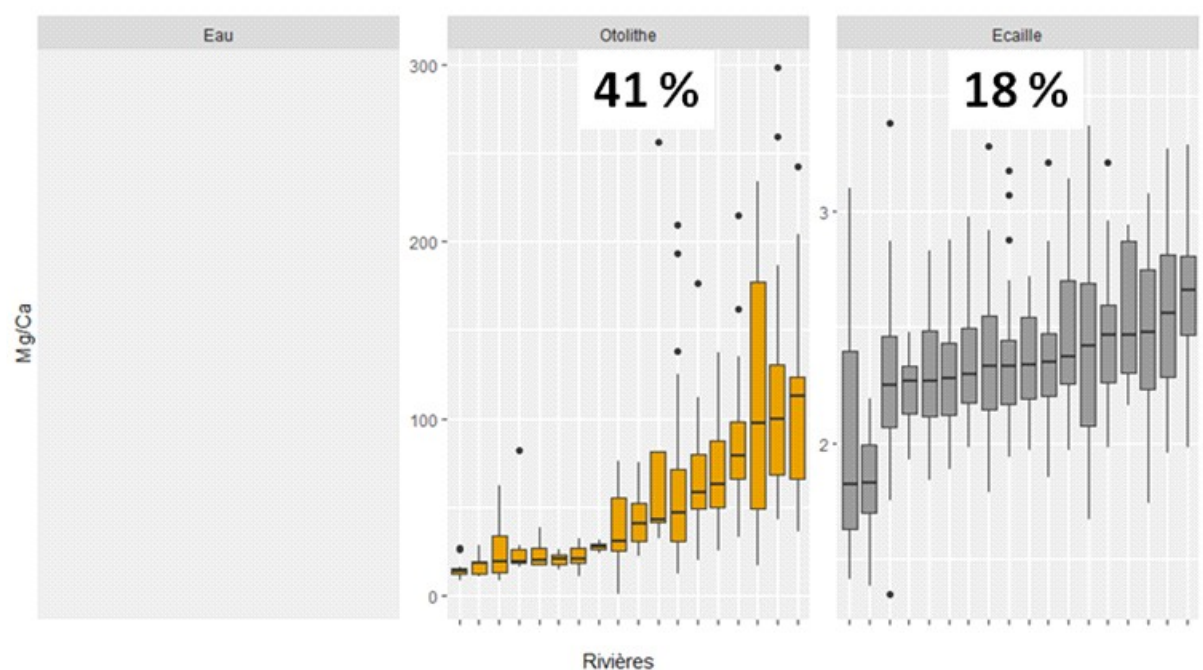


Figure 10 : Quantification et visualisation de la variabilité inter-rivière de la concentration en magnésium. Dans chaque onglet (otolithe, écaille), les rivières ont été ordonnées par valeurs croissantes, sans correspondance d'un onglet à l'autre. La valeur indiquée en haut de chaque onglet correspond au pourcentage de variance inter-rivière déterminé par l'ANOVA.

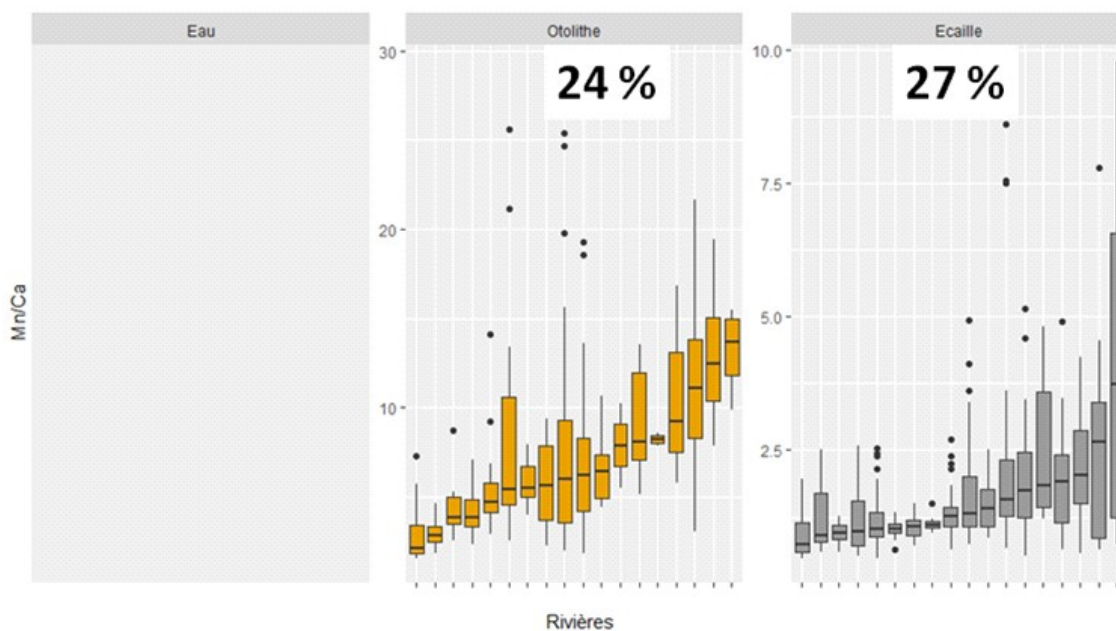


Figure 11 : Quantification et visualisation de la variabilité inter-rivière de la concentration en manganèse. Dans chaque onglet (otolithe, écaille), les rivières ont été ordonnées par valeurs croissantes, sans correspondance d'un onglet à l'autre. La valeur indiquée en haut de chaque onglet correspond au pourcentage de variance inter-rivière déterminé par l'ANOVA.

L'uniformisation des signatures microchimiques enregistrées dans les écailles pour certains éléments ne permet pas d'obtenir une bonne corrélation entre les valeurs obtenues à partir des écailles et des otolithes (Fig. 12).

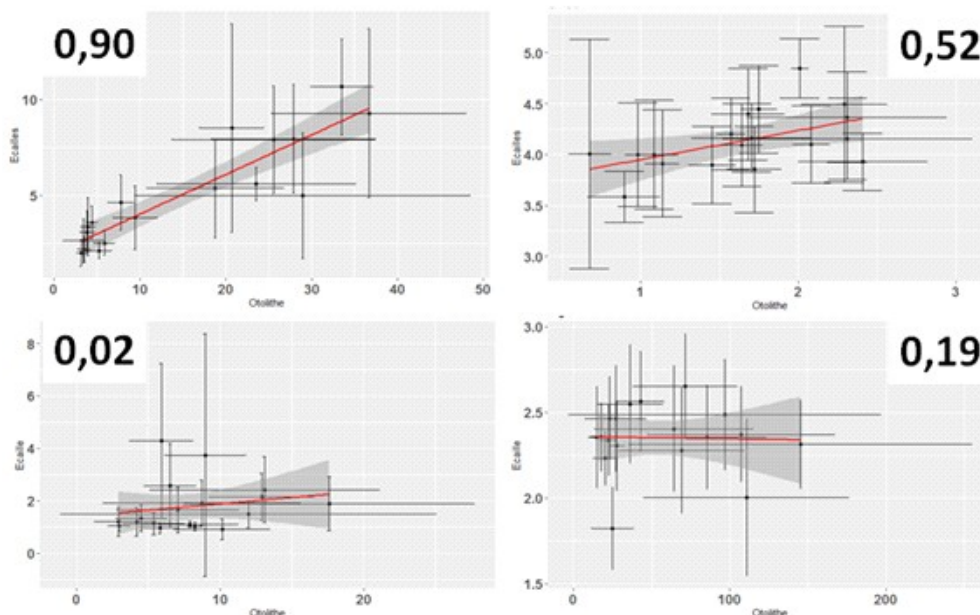


Figure 12 : Corrélation entre les signatures moyennes (\pm écart-type) obtenues par rivière à partir des otolithes (abscisse) et des écailles (ordonnée). Baryum en haut à gauche, Strontium en haut à droite, le magnésium en bas à gauche et le manganèse en bas à droite. Coefficient de Pearson indiqué en gras pour chaque association.

En ce qui concerne la discrimination inter-rivière, le pouvoir discriminant de toutes les analyses réalisées a été synthétisé dans la figure 13. On y voit l'erreur globale moyenne de reclassification (pourcentage d'individus incorrectement reclassifiés) en fonction du nombre de regroupements de rivières (de 2 grands regroupements à 18 rivières individualisées). Un total de 9 courbes est représenté pour chaque pièce sclérifiée,

correspondant sans distinction, à des valeurs seuil (THR) allant de 0,1 à 0,9 par pas de 0,1. Pour rappel, ces valeurs seuils correspondent à la sélection des individus dépassant un certain niveau de certitude d'assignation (probabilité relative d'assignation). Globalement les performances discriminantes basées sur les otolithes sont toujours largement supérieures à celles des écailles, quelle que soit la résolution spatiale considérée. Ainsi, il est possible de différencier 5 grands regroupements de rivières avec une erreur moyenne de reclassification d'environ 20% à partir des otolithes, contre près de 70% à partir des écailles (alors qu'une assignation aléatoire produirait une erreur de 80%). De façon similaire, la discrimination complète des 18 rivières considérées entraîne une erreur de reclassification moyenne d'environ 40% en se basant sur les otolithes et de plus de 85% en se basant sur les écailles. À titre de comparaison, une attribution aléatoire des individus résulterait en une erreur moyenne de 94%, signe que les écailles sont très faiblement informatives à ce niveau de résolution spatiale.

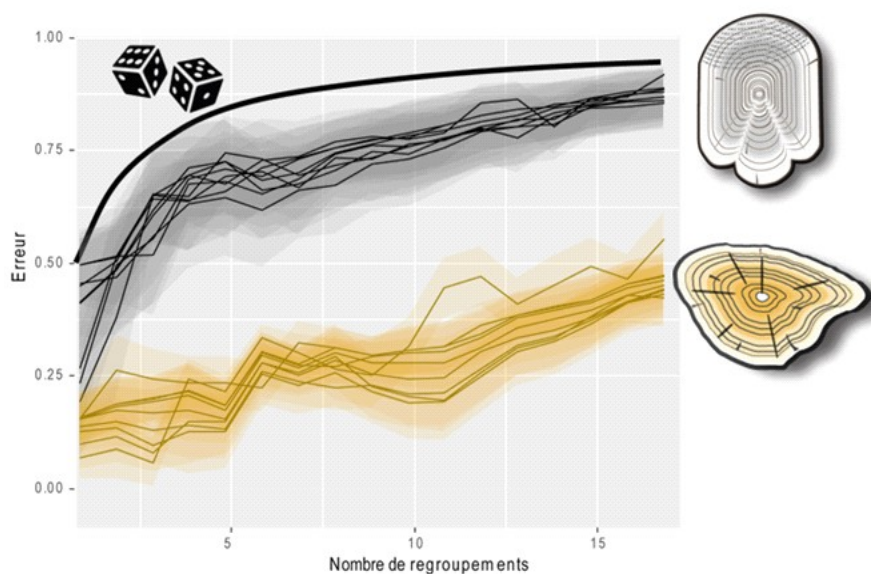


Figure 13 : Performances des analyses discriminantes (Erreur, pourcentage d'individus incorrectement reclassifiés) en fonction de la résolution spatiale considérée pour les otolithes (gris) et les écailles (ocre). Isoligne attendue en cas d'assignation aléatoire des individus en noir.

En entrant un peu plus dans le détail des analyses discriminantes, nous nous rendons compte que non content de présenter des performances discriminantes fortement contrastées, les données otolithométriques et scalimétriques présentent des matrices de confusion très faiblement congruentes (coefficient d'entrelacement de seulement 0,56, Fig. 14). En d'autres termes, les erreurs d'assignations réalisées en se basant sur l'une ou l'autre des deux pièces sclérifiées ne présentent aucune similarité et conduisent à des assignations discordantes. Un modèle nul a été créé par randomisation des données afin de tester la signification du coefficient d'entrelacement précédemment obtenu (classification hiérarchique des otolithes conservée, permutation des étiquettes (nom des rivières) dans celle des écailles). La création d'un grand nombre (1000) de matrices de confusion aléatoires de taille similaire et de topologie inchangée résulte généralement sur un coefficient d'entrelacement distribué selon une loi Gaussienne centrée sur 0,55 (Fig. 15). Il est ainsi possible d'affirmer que les matrices de confusions issues des écailles et des otolithes ne sont statistiquement pas liées.

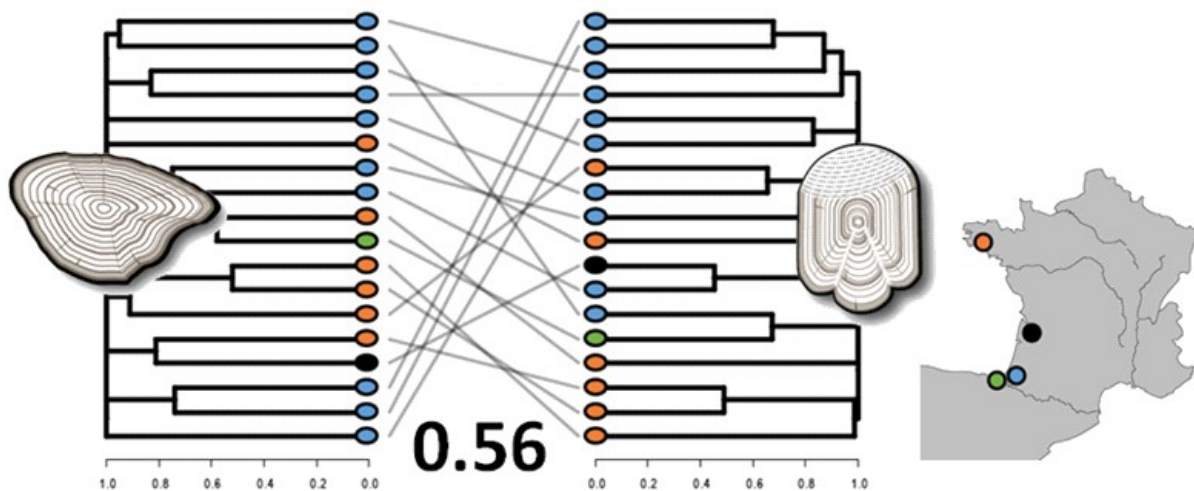


Figure 14 : Comparaison des matrices de confusions (converties en matrices de distances puis en classification hiérarchique utilisant un lien complet) obtenues à partir des écailles (droite) et des otolithes (gauche). Superposition de l'information géographique grâce à un code couleur.

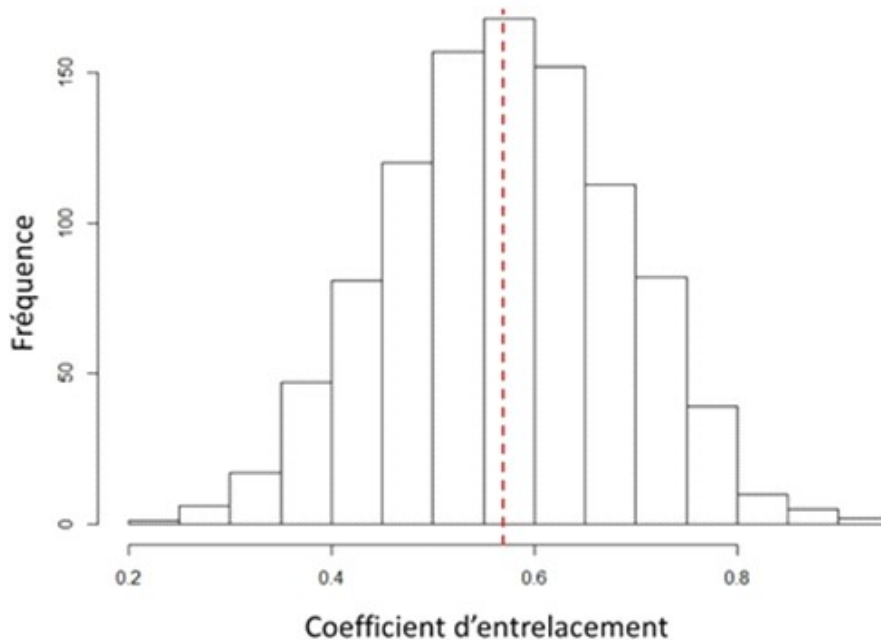


Figure 15 : Distribution du coefficient d'entrelacement entre arbres de classification randomisés (1000 itérations) de taille comparable à celle obtenue à partir des pièces sclérifiées.

IV. Discussion

Les résultats ont montré que l'assignation de l'origine natale des saumons est, à résolution spatiale identique, beaucoup plus performante lorsqu'elle se base sur la microchimie des otolithes que sur celle des écailles. Dans tous les cas, même à faible résolution spatiale (tentative de discrimination de seulement quelques regroupements de rivières) les écailles ont des performances à peine meilleures que ce que ferait une assignation aléatoire des individus. Dans ce contexte, même si l'étude ne portait pas sur cet aspect particulier, il semble peu vraisemblable que la microchimie des écailles soit en mesure de discriminer les différents bassins versant. Des analyses complémentaires permettraient cependant de valider ce point.

Cette baisse de performance ne peut pas être imputable à une ablation laser trop profonde qui aurait atteint la couche basale de collagène, comme cela a pu être le cas dans des études antérieures rencontrées dans la littérature. Le fait que l'analyse discriminante basée sur les otolithes utilise des poissons juvéniles en nombre ($n=291$) alors que celle réalisée sur les écailles utilise des données juvéniles restreintes ($n=75$) extraites d'individus adultes peut en partie expliquer une différence de puissance statistique. Ce point a été traité en ré-échantillonnant un nombre restreint d'otolithes ($n=75$). Ce qui a pour conséquence de très légèrement diminuer les performances du modèle sans toutefois expliquer l'écart considérable observé entre les deux pièces sclérifiées. En revanche, cette baisse de performance est sans nul doute à mettre en relation avec le remaniement chimique des écailles suite au passage des individus en milieu marin. Quelques publications attestent que la microchimie des écailles, tout comme l'otolithe, reflète le milieu dans lequel évolue un poisson et qu'il est ainsi possible de déterminer les mouvements inter-rivière ainsi que l'origine natale des individus (ex. Cappelletti *et al.* 2005, Flem *et al.* 2005, Muhlfield *et al.* 2005, Adey *et al.* 2009, Ramsay *et al.* 2012, Campbell *et al.* 2015). Cependant, contrairement à l'otolithe, les dépôts minéraux ne sont pas inertes et la composition élémentaire des écailles peut être remaniée, tout particulièrement en cas de changement drastique du milieu, comme cela est le cas pour le passage d'une rivière vers une masse océanique. Ce point a plusieurs fois été évoqué dans la littérature sans toutefois être jamais complètement confirmé (ex. Ryan *et al.*, 2019). Les quatre éléments considérés dans cette étude semblent être affectés avec toutefois une ampleur variable. L'absence de corrélation entre le ratio Sr:Ca et le Strontium de l'eau supporte l'hypothèse de l'altération des signatures. Comparés aux otolithes, tous les transects dévoilent des concentrations relativement homogènes du focus jusqu'au départ en mer. Étant donné la forte variabilité inter-rivière de la concentration en strontium, une telle homogénéisation du signal ne peut provenir que d'un remaniement tardif intervenant au niveau des écailles après la migration en milieu marin. En d'autres termes, l'intégralité de la couche superficielle d'une écaille s'enrichit en strontium en milieu marin, gommant toute variabilité/signal antérieur et empêchant toute investigation a posteriori de l'origine natale des poissons anadromes. Il faut également noter que l'altération observée est d'autant plus marquée pour les éléments dont les concentrations en eau de mer sont largement supérieures (Sr $\times 20$, Mg $\times 200$) à celles rencontrées en eaux douces. Au regard du remaniement massif du strontium dans les écailles, les analyses isotopiques initialement prévues n'ont pas été effectuées, car elles n'avaient aucune chance d'apporter un complément d'information. Elles n'auraient fait que souligner la "contamination" marine tardive de l'écaille. Cela est regrettable, car l'isotopie du strontium était un élément discriminant prépondérant dans les analyses antérieurement réalisées sur les otolithes. Un processus de remaniement similaire semble à l'œuvre concernant le magnésium dont

la concentration est beaucoup plus élevée en milieu marin. De façon opposée, le milieu marin est très pauvre en manganèse et l'écaïlle ne peut donc pas s'enrichir de façon post-migratoire. Cela est également vrai pour le baryum dont la concentration est très faible dans les couches superficielles en milieu océanique (Bruland *et al.*, 2013), limitant le risque de dépôt post-migration. À noter cependant que la variabilité inter-rivière du baryum est sensiblement atténuée dans les écaïlles par rapport aux otolithes, sans que les mécanismes chimiques/physiologiques sous-jacents ne soient connus. Cette observation est d'autant plus surprenante que le baryum est a priori métaboliquement inerte (Wells *et al.*, 2000).

Afin de mieux illustrer ce remaniement, la figure 16 présente l'ensemble des transects réalisés à partir des poissons collectés à Arneguy (Bassin de l'Adour, 20 otolithes, 6 écaïlles), comprenant aussi bien la partie juvénile passée en rivière que celle adulte en mer. Cette rivière a été sélectionnée car elle présente une très faible concentration en strontium, contrastant bien avec le milieu marin qui en est chargé. Les données ont été standardisées de façon à ce que la zone pré-migratrice soit arbitrairement comprise dans l'intervalle [0-1] et la zone post-migratrice dans l'intervalle [1-2]. Si l'augmentation du strontium est très bien marquée pour l'ensemble des individus sur les otolithes après passage en mer, aucune augmentation n'apparaît de façon claire sur les écaïlles. Il faut imaginer que la concentration en strontium contenu dans l'écaïlle durant la phase juvénile était initialement beaucoup plus basse que ce qui a été finalement quantifié à partir de poissons ayant séjourné en milieu marin. Ce remaniement post-migration a pour effet de masquer les signatures élémentaires existant entre les rivières avant migration, limitant de ce fait très fortement l'assignation rétrospective des adultes migrants.

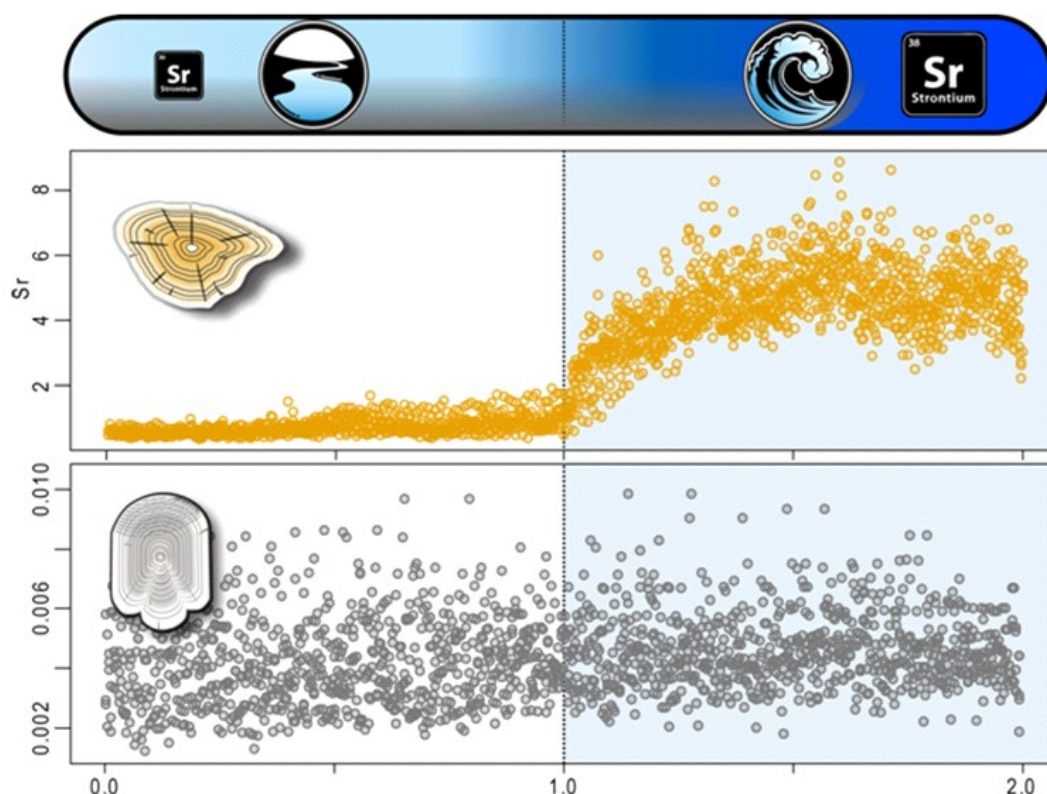


Figure 16 : Superposition des signatures en strontium après standardisation de transects réalisés sur les otolithes (haut) et les écaïlles (bas) prélevés à Arneguy. À noter que le milieu marin est très fortement enrichi en strontium par rapport au milieu dulçaquicole.

De façon similaire, la figure 17 illustre la décroissance de la concentration en baryum dans les otolithes suite au passage en mer. Cette tendance est très fortement atténuée lorsque l'on considère les transects réalisés sur les écailles (à mettre en relation avec la diminution modérée de la variance inter-rivière observée pour le baryum, comparé au strontium). Il en résulte une altération post-migratoire de la signature enregistrée dans les écailles et correspondant à la phase juvénile dulçaquicole. Dans la mesure où le rapport Ba :Ca est 100 fois plus important dans les eaux de cette rivière par rapport à celle de l'océan (Arnéguy : Ba :Ca = 100.10⁻⁵ contre 1. 10⁻⁵ µg/µg), il est difficile d'invoquer une contamination de la partie de l'écaïlle lors du séjour en mer. L'atténuation du Ba :Ca pourrait provenir d'échanges, mais cette fois-ci dans le sens inverse du Sr et du Mg, c'est-à-dire une perte post-migratoire de Ba préalablement accumulé dans l'écaïlle lors du stade juvénile. L'assignation rétrospective des rivières d'origine à partir de données microchimiques recueillies sur les écailles de saumons adultes anadromes est donc fortement limitée.

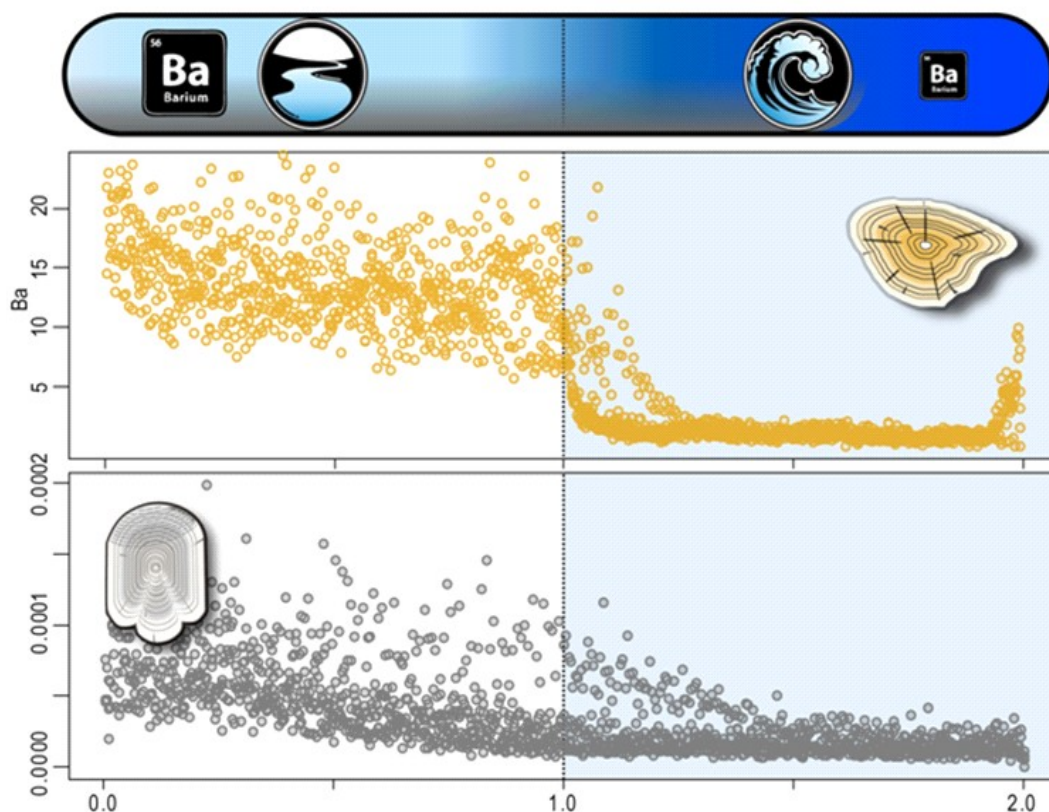


Figure 17 : Superposition des signatures en baryum après standardisation de transects réalisés sur les otolithes (haut) et les écailles (bas) prélevés à Arnéguy. À noter que le milieu marin est très fortement appauvri en baryum par rapport au milieu dulçaquicole.

La majorité de nos écailles provenaient d'individus ayant séjourné au moins deux hivers en mer. Or l'étendue du remaniement post-migratoire pourrait dépendre du temps de résidence en mer. Ryan *et al.*, (2019) ont par exemple mis en évidence une forte corrélation entre la perte de performance discriminatoire et le temps passé dans un nouvel environnement. Etant donné que la cinétique du remaniement n'est pas connue, il est impossible de prédire si les saumons n'ayant passé qu'une courte période en mer présentent également des signatures scalimétriques altérées. Ce point mériterait d'être spécifiquement abordé chez les individus anadromes "castillons" n'ayant passé qu'un seul hiver en mer. Il est cependant probable que le remaniement intervienne assez rapidement à l'échelle de seulement quelques mois.

V. Conclusion

Après avoir déverrouillé l'aspect méthodologique (ablation superficielle sans contamination par la couche basale), il n'en demeure pas moins que les performances discriminantes des données scalimétriques sont très fortement réduites par rapport à celles obtenues grâce aux otolithes et à peine meilleures qu'une attribution aléatoire des données. Dans ce contexte, nous ne recommandons malheureusement pas de recourir à cet outil pour déterminer l'origine natale de poissons anadromes à une fine résolution spatiale. Il ne semblerait pas non plus que cet outil soit bien adapté pour discriminer à plus large échelle la migration entre bassins versants éloignés, bien que notre échantillonnage n'était pas adapté pour aborder spécifiquement ce point. Des études ultérieures pourraient venir confirmer cela. Nous tenons cependant à préciser que la microchimie des écailles reste pleinement applicable chez des individus sédentaires effectuant des mouvements inter-rivières/affluents ou chez des juvéniles changeant d'habitats sans jamais transiter par le milieu marin, ou du moins entre environnements géochimiques pas aussi contrastés que eaux douces-eaux salées.

VI. Bibliographie

- Adey, E. A., Black, K. D., Sawyer, T., Shimmiel, T. M., Trueman, C. N. (2009) Scale microchemistry as a tool to investigate the origin of wild and farmed *Salmo salar*. Marine Ecology Progress Series, 390: 225-235.
- Brennan, S. R., Zimmerman, C. E., Fernandez, D. P., Cerling, T. E., McPhee, M. V., Wooller, M. J. (2015). Strontium isotopes delineate fine-scale natal origins and migration histories of Pacific salmon. Science Advances, 1(4): e1400124.
- Bruland, K.W., R. Middag, et M.C. Lohan (2014). Controls of trace metals in seawater. in Treatise on geochemistry, 19 51. Elsevier.
- Campbell, L. A., Bottom, D. L., Volk, E. C., Fleming, I. A. (2015) Correspondence between scale morphometrics and scale and otolith chemistry for interpreting juvenile salmon life histories. Transactions of the American Fisheries Society, 144:55-67.
- Cappo, M., De'ath, G., Boyle, S., Aumend, J., Olbrich, R., Hoedt, F., Perna, C., Brunskill, G. (2005) Development of a robust classifier of freshwater residence in barramundi (*Lates calcarifer*) life histories using elemental ratios in scales and boosted regression trees. Marine and Freshwater Research, 56: 713-723.
- Carlson, S.M., Cunningham, C.J., Westley, P.A. (2014). Evolutionary rescue in a changing world. Trends in Ecology & Evolution, 29: 521-530.
- Daverat, F., Martin, J. (2016). Microchemical and sclerochronological analyses used to infer fish migration. An Introduction to Fish Migration, Ed. Morais P. & F. Daverat, CRC Press, p149-168.
- Flem, B., Moen, V., Grimstvedt, A. M. (2005) Trace element analysis of scales from four populations of Norwegian Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) for stock identification using Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. Applied Spectroscopy, 59: 245-251.
- Flem, B., Moen, V., Finne, T. E., Viljugrein, H., Kristoffersen, A. B. (2017). Trace element composition of smolt scales from Atlantic salmon (*Salmo Salar* L.), geographic variation between hatcheries. Fisheries Research, 190: 183-196.
- Martin, J., Bareille, G., Berail, S., Pécheyran, C., Gueraud, F., Lange, F., Daverat, F., Bru, N., Beall, E., Barracou, D., Donard, O. (2013). Persistence of a southern atlantic salmon population: Diversity of natal origins from otolith elemental and Sr isotopic signatures. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 70: 182-197.
- Muhlfeld, C. C., Marotz, B., Thorrold, S. R., FitzGerald, J. L. (2005) Geochemical signatures in scales records stream of origin in westslope cutthroat trout. Transactions of the American Fisheries Society 134: 945-959.
- Ramsay, A. L., Milner, N. J., Hughes, R. N., McCarthy, I. D. (2011). Comparison of the performance of scale and otolith microchemistry as fisheries research tools in a small upland catchment. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 68(5): 823-833.
- Ramsay, A. L., Milner, N. J., Hughes, R. N., McCarthy, I. D. (2012). Fish scale $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values provide biogeochemical tags of fish comparable in performance to element concentrations in scales and otoliths. Hydrobiologia, 694(1): 183-196.
- Rieman, B., Dunham, J. (2000). Metapopulations and salmonids: A synthesis of life history patterns and empirical observations. Ecology of Freshwater Fish, 9: 51-64.

- Ryan, D., Shephard, S., Kelly, F. L. (2016). Temporal stability and rates of post-depositional change in geochemical signatures of brown trout *Salmo trutta* scales. *Journal of Fish Biology*, 89(3): 1704-1719.
- Ryan, D., Shephard, S., Gargan, P., Roche W. Estimating sea trout (*Salmo Trutta* L.) growth from scale chemistry profiles: An objective approach using LA-ICPMS (2019). *Fisheries Research*, 211: 69-80.
- Seeley, M. E., Logan, W. K., Walther B. D. (2017) Consistency of elemental and isotope-ratio patterns across multiple scales from individual fish: Consistent chemical patterns in scales . *Journal of Fish Biology*, 91(3): 928-46.
- Tabouret, H., Bareille, G., Claverie, F., Pécheyran, C., Prouzet, P., Donard, O. F. X. (2010) Simultaneous use of strontium:calcium and barium:calcium ratios in otoliths as markers of habitat: Application to the European eel (*Anguilla anguilla*) in the Adour basin, South West France. *Marine Environmental Research*, 70: 35-45.
- Tzadik, O. E., Curtis, J. S., Granneman, J. E., Kurth, B. N., Pusack, T. J., Wallace, A. A., Hollander, D. J., Peebles, E. B., Stallings, C. D. (2017). Chemical archives in fishes beyond otoliths: A review on the use of other body parts as chronological recorders of microchemical constituents for expanding interpretations of environmental, ecological, and life-history changes. *Limnology and Oceanography: Methods*, 15(3): 238-263.
- Wells, B. K., Gretchen E. B., Thorrold, S. R., Jones, C. M. (2000). Incorporation of strontium, cadmium, and baryum in juvenile spot (*Leiostomus Xanthurus*) scales reflects water chemistry. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57(10): 2122-2129.
- Wells, B. K., Rieman, B. E., Clayton, J. L., Horan, D. L., Jones, C. M. (2003)a. Relationships between water, otolith and scale chemistries of westslope cutthroat trout from the Coeur d'Alene River, Idaho: the potential application of hard-part chemistry to describe movements in fresh water. *Transactions of the American Fisheries Society*, 132: 409-424.
- Wells, B. K., Thorrold, S. R., Jones, C. M. (2003)b. Stability of elemental signatures in the scales of spawning weakfish, *Cynoscion regalis*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 60: 361-369.
- Zimmerman, C. E., Swanson, H. K., Volk, E. C., & Kent, A. J. (2013). Species and life history affect the utility of otolith chemical composition for determining natal stream of origin for Pacific salmon. *Transactions of the American Fisheries Society*, 142(5): 1370-1380.

INRAE



Avec le soutien financier de



INRAE

www.inrae.fr



www.agrocampus-ouest.fr



www.univ-pau.fr