



2022. Work Package 3 – Evaluer l’aptitude de la forme de l’otolithe du saumon atlantique pour discriminer son origine à différentes échelles spatiales de la Bidassoa au Rhin

Gilles Bareille, Anthony Fontaine, Hélène Tabouret, Christophe Pécheyran,
Fabien Morat

► To cite this version:

Gilles Bareille, Anthony Fontaine, Hélène Tabouret, Christophe Pécheyran, Fabien Morat. 2022. Work Package 3 – Evaluer l’aptitude de la forme de l’otolithe du saumon atlantique pour discriminer son origine à différentes échelles spatiales de la Bidassoa au Rhin. IPREM UMR5254 CNRS/UPPA - Institut des Sciences analytiques et de physico-chimie pour l’Environnement et les matériaux; Université de Perpignan (Laboratoire d’Excellence ‘‘CORAIL’’, Perpignan, France). 2022. hal-04449691

HAL Id: hal-04449691

<https://univ-pau.hal.science/hal-04449691>

Submitted on 9 Feb 2024

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.



Université de Pau et des Pays de l'Adour, UPPA/CNRS, UMR5254 IPREM:

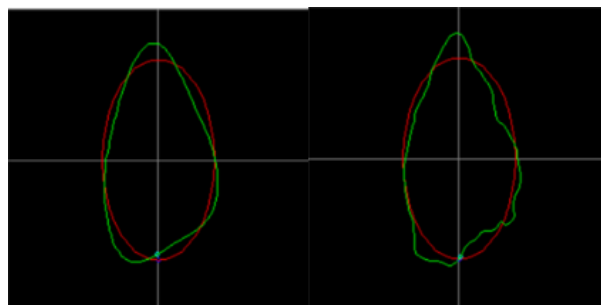
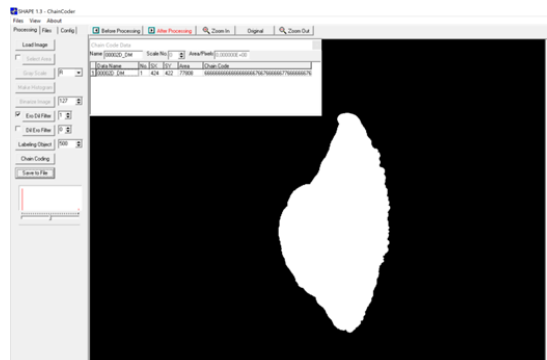
Gilles Bareille (gilles.bareille@univ-pau.fr)

Anthony Fontaine, Jordan Lacoste, Hélène Tabouret, Christophe Pécheyran,

EPHE-UPVD-CNRS, USR 3278 CRIOBE, Université de Perpignan : Fabien Morat

Work Package 3 – Evaluer l'aptitude de la forme de l'otolithe du saumon atlantique pour discriminer son origine à différentes échelles spatiales de la Bidasoa au Rhin.

Evaluate the ability of Atlantic salmon otolith shape to discriminate the origin of fish at different spatial scales from Bidasoa to the Rhine



Sommaire:

Summary:	p 5
1 - Work Package 3 dans le contexte du projet ECOSAG:	p 7
2 - Contexte Scientifique du projet ECOSAG:	p 8
2.1 – Contexte général	p 8
2.2 – Le saumon Atlantique en Nouvelle-Aquitaine	p 10
2.3 – Connaître l’origine des saumons de retour pour accéder à la connectivité entre populations	p 11
3 - Objectif du Projet ECOSAG et du Work Package 3	p 13
4 – Résultats obtenus du Work Package 3 (Action 3 du projet ECOSAG) :	p 15
4.1 – Méthodes utilisées pour la description de la forme des otolithes	p 16
4.2 – Tests préliminaires à l’élaboration d’une ou de base(s) modèle(s) « forme des otolithes »	p 19
4.2.1 – Rôle de l’ontogénèse : Comparaison otolithes d’adultes vs juvéniles	p 20
4.2.2 – Asymétrie bilatérale : comparaison otolithe droit vs gauche pour une même origine	p 22
4.2.3 – Influence du remplacement de l’aragonite par de la vaterite	p 24
4.3 – Elaboration de bases modèles « Forme des otolithes »	p 25
4.4 – Tests d’efficacité des bases modèles « Forme des otolithes » D et G	p 30
4.4.1 – Assignation au bassin de capture exclusivement via la « forme des otolithes »	p 31
4.4.2 – Assignation par la forme et assignation microchimique	p 33
4.5 – Résumé et perspectives sur la « Forme des otolithes » D et G du saumon atlantique	p 37
5 – Conclusions	p 38
6 – Références	p 41

Liste des figures et tableaux:

Figure 1 : Surface proximale d'un otolithe de saumon Atlantique ; localisation du sulcus, et des axes dorsal, ventral, antérieur et postérieur

Figure 2 : Exemple d'un otolithe vatéritique. De gauche à droite : face proximale avec lumière normale ; face proximale surexposée ; face distale en lumière normale montrant une zone centrale translucide en aragonite avec le reste de l'otolithe plus transparent (vatérite).

Figure 3 : Photo d'un otolithe numérisé en image binaire ChainCoder

Figure 4 : A gauche la forme d'un otolithe traduit par 4 harmoniques, à droite par 28 harmoniques

Figure 5 : Principe de la description d'un contour fermé par les descripteurs de Fourier elliptiques Morat (2007)

Figure 6: Représentation graphique de l'analyse discriminante pour les otolithes Droits. Ellipse rouge : individus vatéritiques ; ellipse verte : adultes normaux ; ellipse bleue : juvéniles.

Figure 7: Analyse discriminante comparative entre les otolithes de poissons adultes et juvéniles du bassin de l'Adour. Ellipse rouge : Adultes ; Ellipse bleue : Juvéniles

Figure 8: A Gauche représentation moyenne du contour des otolithes pour les saumons Adultes du bassin de l'Adour, à Droite même représentation pour les Juvéniles. Axe dorsal-ventral sur la verticale et axe antérieur-postérieur sur l'horizontale

Figure 9 : Représentation graphique de l'analyse discriminante pour les otolithes Gauches + Droits miroir

Figure 10 : Représentation graphique de l'analyse discriminante pour les otolithes Gauches Ellipse rouge : individus vatéritiques ; ellipse verte : adultes normaux ; ellipse bleue : juvéniles

Figure 11: Carte des secteurs géographiques étudiés. Du Nord au Sud: 1 Rhin ; 2 Normandie ; 3 Finistère Sud ; 4 Allier ; 5 Dordogne ; 6 Garonne ; 7 Adour ; 8 Nivelle ; 9 Bidassoa ; 10 Asturies ; 11 Galice

Figure 12 : Représentation graphique de l'analyse discriminante pour les otolithes Droits.

Figure 13: Représentation graphique de l'analyse discriminante pour les otolithes Gauches

Figure 14 : Localisation des différents bassins hydrographiques échantillonnés et effectifs de saumons collectés pour établir le « modèle bassins ».

Figure 15: dendrogramme montrant les différents groupes de bassins discriminés en fonction du taux moyen de reclassement correct (gauche). Choix du modèle explicitant les 6 groupes discriminés pour un taux moyen de bon reclassement de 7% (droite).

Tableau 1 : nombre d'otolithes droits (D), gauche (G), gauche + droit miroir (G+DM), normaux (N), vatéritique (V), d'individus juvéniles (juv) et adultes (adu) utilisés pour réaliser les tests préliminaires à partir des bassins Adour, Allier et Rhin.

Tableau 2 : comparaison des taux de bon reclassement entre juvéniles et adultes pour quatre origines dans le bassin de l'Adour.

Tableau 3: comparaison des taux de bon reclassement entre otolithe gauche et droit miroir pour quatre origines dans le bassin de l'Adour.

Tableau 4: nombre d'otolithes droits et gauches utilisés dans les bases modèles D et G.

Tableau 5: Matrice des pourcentages de reclassement correct pour chaque secteur géographique sur la base de l'otolithe gauche (G), calculé via une « jackknife-cross calibration » de l'analyse canonique discriminante (CDA). Le nombre d'individus de chaque secteur géographique est également donné dans la dernière colonne du tableau. Les lignes correspondent aux secteurs géographiques d'origine des individus, les colonnes aux secteurs géographiques attribués par l'analyse discriminante canonique.

Tableau 6: Matrice des pourcentages de reclassement correct pour chaque secteur géographique sur la base de l'otolithe droit (D), calculé via une « jackknife-cross calibration » de l'analyse canonique discriminante (CDA). Le nombre d'individus de chaque secteur géographique est également donné dans la dernière colonne du tableau. Les lignes correspondent aux secteurs géographiques d'origine des individus, les colonnes aux secteurs géographiques attribués par l'analyse discriminante canonique.

Tableau 7: Matrice des pourcentages de reclassement correct pour les 4 sous-groupes du bassin de l'Adour (fine échelle spatiale) sur la base des otolithes droit (D) et gauche (G), calculé via une « jackknife-cross calibration » de l'analyse canonique discriminante (CDA). Le nombre d'individus est également donné dans la dernière colonne du tableau. Les lignes correspondent aux secteurs géographiques d'origine des individus, les colonnes aux secteurs géographiques attribués par l'analyse discriminante canonique.

Tableau 8: effectifs d'otolithes D et G d'origine inconnue pour chaque bassin de capture.

Tableau 9 : % d'assignation des individus d'origine inconnue à chaque secteur géographique avec les modèles « forme otolithe » D et G. les lignes correspondent aux secteur de capture et les colonnes aux secteurs géographiques assignés par les modèles formes. n.d. : individus non attribué à une origine en raison d'une probabilité d'assignation < 0.70 .

Tableau 10 : performance du « modèle bassins » en termes de % de reclassement correct (en gris) des individus dans leur groupe bassin d'origine et de mauvaise attribution à un autre bassin (en jaune).

Tableau 11: nombre et % d'individus assignés comme fidèle à leur bassin de capture ou vagabonds à partir des 3 modèles otolithe « forme D », « forme G » et microchimie, dans les bassins Adour, Garonne et Dordogne.

Summary:

On the basis of otoliths of adult Atlantic salmon returning to the Adour, Gironde and Nivelle basins, the scientific project ECOSAG (2019-2024) aims to: (1) assess the role of natural reproduction and restocking programs on exchanges and renewal of Atlantic salmon populations in Nouvelle-Aquitaine and (2) determine whether some spawning rivers in these basins and life strategies contribute more effectively to the return of spawners.

To meet these objectives, it was imperative to get the natal (anadromous or fish farming) and geographic (developmental rivers at the juvenile stage) origins of the returning adult salmon. The otolith offers multiple potentialities for providing information on origins (natal and geographic) and life traits, essential parameters for addressing connectivity between populations at the spatial scales of basins, sub-basins and rivers, and identifying different strategies at the juvenile stage.

While microchemistry has already been developed on Atlantic salmon otolith (Martin et al., 2013 a, b; Bareille et al., 2017), this method is particularly tedious to implement and quite expensive. However, it was retained as the main tool for investigations of natal and geographic origins, waiting for a new, faster and less expensive approach.

The otolith shape has been used on marine species to discriminate between different fish stocks with success (Cf Thesis K. Mahé, 2020), but it remained to be explored on anadromous fish such as Atlantic salmon (Friedland and Reddin, 1994) while it turns out to be faster to implement and is inexpensive (taking photos and analyzing with biostatistical tools).

As part of the ECOSAG project, a scientific action has been planned with a request for funding from the National Biodiversity Office (OFB) and NASCO. This action or Work Package 3 is part of the search for a rapid and inexpensive method to assess the origin of returning adult salmon. The objective of this action was to test the ability of the otolith shape to discriminate between different origins of returning salmon.

It is now accepted that the otolith shape results from the control of abiotic and biotic factors, the genotype of individuals and ontogenic processes (see the literature review in Mahé, 2020). These factors and processes may act synergistically or antagonistically to the end result of Atlantic salmon otolith shape into adulthood. Due to potential confounding effects, it was first necessary to perform various tests in order to define the databases that could be used to try to assign a geographical origin via the shape of the otolith. As a result, three tests were carried out in order to verify the effects of the factors ontogeny (juvenile / adult), bilateral asymmetry (left / right) and the presence of vaterite on the form of otoliths in Atlantic salmon. It turns out that these 3 factors have confounding effects on the discrimination of salmon populations.

Ontogenesis leads to a marked differentiation in the shape of Atlantic salmon between juvenile and adult stages. However, geographic differences observed in the young stage seem to persist in the adult stage. The Atlantic salmon otolith exhibits bilateral asymmetry in shape (difference in shape between right and left otolith). This asymmetry appears to differ in intensity depending on the geographic origin and is relatively variable. Finally, the presence of vaterite leads to a significant change in the shape of the otolith for the same geographic origin. These three

observations suggest that it is not opportune to simultaneously using otoliths from juvenile and adult individuals (effects of ontogeny), right and left otoliths (presence of bilateral asymmetry) and otoliths with and without vaterite, to discriminate geographic origins. The influence of these three factors resulted in a significant reduction in the number of staff making it possible to constitute the model databases in our case, > 56% G otoliths and > 53% D otoliths had to be discarded.

Low numbers of right otolith D (n = 277) and left otolith G (n = 229) were useful to develop two models for assigning geographical origin on the basis of elliptical Fourier descriptors (EFD's) of the otolith shape via a canonical discriminant analysis (CDA). Number of otoliths was distributed very heterogeneously in 11 geographic sectors (Adour, Garonne, Dordogne, Nivelle, Allier, Bidassoa, Finistère, Normandy, Rhine, Asturias, Galicia). This analysis seemed to differentiate, as a first approximation, the 11 distinct geographic origins with high correct reclassification rates with the two otoliths D and G.

However, two tests were carried out to verify the veracity of the original form assignments from otoliths from individuals collected in the Adour and Gironde basins (Garonne, Dordogne). These two tests aimed to verify the high level of fidelity to the original basin ("homing") which prevails in Atlantic salmon, 92-94% of individuals from natural reproduction and 50-85% in individuals from restocking (Jonsson et al. 2003; Horreo et al. 2012; Leunda et al. 2013; Ford et al. 2015; Jonsson and Jonsson 2017). The first test was based on the assumption that a very large majority of the salmon caught in a basin originated from that basin. The second test consisted of comparing the rates of "homing" and "straying" obtained via the otolith shape with those evaluated on the basis of the microchemistry of the otolith.

In both cases, the results are clear: the two "form D and G" models are not likely to provide, as they stand, geographic assignments on a large spatial scale that are sufficiently reliable, especially for basins whose otolith numbers are not sufficiently substantial in database. In addition, even for the basin that is most represented in the databases (Adour basin), the shape of the otolith does not seem, at this stage, to be as efficient as the microchemistry of the otolith. Finally, a preliminary analysis was carried out on the Adour basin to test the efficiency of assignment by shape at a finer scale, that is to say within watersheds, and again the results do not seem conclusive to us either. Therefore, the assignment of a geographical origin to individuals of unknown origin, on the basis of the two otolith shape models developed in this work, appears to be very uncertain.

In view of the initial objective which was to replace the microchemistry of the otolith by a faster and less expensive method (the form), other investigations are to be carried out to resolve the inconsistency between shape models and their effectiveness when applied to individuals of unknown origin. It seems essential to identify what are the confounding factors to take into account and what types of information the otolith shape would be able to provide us. Some avenues to explore are in particular: the heterogeneity of the sampling, the role of phenotypes characterized by somatic growths and variable otoliths (age-1 + vs age-2 +), the role of cohorts (difference in shape according to years), the role of natal origin (fish farming or natural reproduction), and finally, to what extent asymmetry could potentially aid in the discrimination of individuals based on their geographic, natal or phenotype origin.

1 - Work Package 3 dans le contexte du projet ECOSAG:

Le Work Package 3 représente une des actions du projet scientifique ECOSAG (2019-2024). Ce projet va étudier les saumons atlantiques de retour dans les bassins Adour, Gironde et Nivelle en Nouvelle-Aquitaine avec principalement deux objectifs scientifiques qui sont :

- Premièrement, d'évaluer le rôle de la reproduction naturelle et des programmes de repeuplements sur les échanges et le renouvellement des populations de saumon atlantique de Nouvelle-Aquitaine ;
- Deuxièmement, de déterminer si certaines rivières-frayères et stratégies de vie contribuent avec une meilleure efficacité au retour de géniteurs.

Pour apporter des éléments de réponses à ces objectifs, il était impératif de pouvoir disposer d'informations sur les origines natales (anadrome ou pisciculture) et géographiques (rivières de développement au stade juvénile) et sur l'histoire de vie des smolts (âge de départ en mer, changement d'habitat) des saumons de retour dans les différents bassins d'études (Adour, Garonne-Dordogne, Nivelle), mais aussi de disposer de ces informations sur d'autres bassins adjacents (Allier, Bidassoa, Bretagne) susceptibles d'alimenter le secteur d'étude via du vagabondage (straying). Le projet ECOSAG repose donc sur notre capacité à déterminer ces origines et histoires de vie.

L'utilisation de l'outil microchimie des otolithes est envisagée pour plusieurs raisons. Premièrement, il a été préalablement montré que les rapports élémentaires (Sr/Ca, Ba/Ca, Sr/Ba) et isotopiques ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) présentaient de réelles aptitudes à discriminer une grande majorité des rivières et des piscicultures de grossissement dans le bassin de l'Adour (Martin et al., 2013a, b), ceci en relation avec une diversité de substrats géologiques. Deuxièmement, cette méthode présente l'avantage d'accéder à une résolution de discrimination beaucoup plus fine que la génétique, souvent jusqu'à la rivière d'origine (Martin et al., 2013a, b ; Barnett-Johnson et al., 2008, 2010 ; Brennan et al., 2015 ; Marklevitz et al., 2016). Enfin, l'utilisation de certains éléments chimiques devrait aussi permettre d'estimer l'âge du départ en mer et des changements d'habitats au cours de la vie juvénile.

Cependant, la fiabilité d'une assignation d'origine et la résolution spatiale via l'utilisation de la microchimie des otolithes dépendent d'un critère essentiel : les différents habitats sources (piscicultures, rivières) doivent être chimiquement différenciés. Ceci peut s'avérer difficile lorsqu'on multiplie le nombre de bassins et de rivières dans la mesure où l'on risque de voir émerger des rivières de bassins versants éloignés mais traversant des substrats géologiques similaires, et donc avec des signatures élémentaires et isotopiques très proches. Lors de nos investigations précédentes nous avons effectivement été confronté à ce problème entre quelques rivières au sein du Golfe de Gascogne (Bareille et al., 2017). D'autre part, la mise en œuvre de cet outil est particulièrement onéreuse car elle requiert un long travail de préparation en préalable à des analyses non triviales sur des appareillages de pointe (couplage ablation laser / spectrométrie de masse : LA-ICP-MS et LA-MC-ICP-MS).

La « **forme des otolithes** » est utilisée depuis quelques années pour discriminer différents stocks de poissons en milieu marin (Afanasyev et al., 2017; Hüsey et al. 2016; Burke et al., 2008; Ferguson et al., 2011; Morat et al. 2012; Mahé, 2020). Elle résulte de la combinaison de facteurs exogènes abiotiques (température, pH, profondeur d'eau, nature du substrat) et biotiques (disponibilité et type de nourriture), de facteurs endogènes (génétique) et des

processus développementaux (ontogénie) (Campana and Casselman, 1993 ; Tuset *et al.*, 2003 ; Vignon et Morat, 2010 ; Vignon, 2012 ; Mapp *et al.*, 2017 ; Morat *et al.*, 2017 ; Afanasyev *et al.*, 2017 ; Mahé, 2020). La variabilité de ces différents facteurs détermine la variation de la forme de l'otolithe et son niveau biologique : interspécifique, inter-populationnel et intra-populationnel. Selon quel est ou quels sont les facteurs influençant majoritairement la forme des otolithes, l'identification de stocks sera possible (variabilité inter-population) ou complexe si certains facteurs sont confondants (variabilité intra-population). La forme n'a cependant été que peu utilisée sur des espèces d'eaux douces et migratrices anadromes (Friedland and Reddin, 1994 ; Capoccioni *et al.*, 2011; Koeberle *et al.*, 2020; Morat *et al.*, 2008) bien qu'elle ne nécessite aucune préparation spécifique et ne requiert que des analyses peu coûteuses (prise de photo et analyse avec des outils biostatistiques).

Le Work Package 3 s'inscrit dans ce contexte, et plus particulièrement dans une des actions du projet ECOSAG (2019-2024), action qui a pour objectif de tester la capacité de la **forme de l'otolithe (otolith shape)**, à discriminer différentes origines de saumons de retour.

2 - Contexte Scientifique du projet ECOSAG:

2.1 – Contexte général

De multiples perturbations environnementales dont le changement global, la réduction des habitats et de la continuité écologique, la contamination des hydrosystèmes, l'exploitation, etc., affectent la durabilité des ressources biologiques et en particuliers d'espèces migratrices. Le saumon atlantique (*Salmo salar* L. 1758) constitue, à ce titre, une espèce patrimoniale remarquable sous étroite surveillance du Conseil International pour l'Exploitation de la Mer (CIEM) au regard de la régression généralisée de ces stocks dans son aire de distribution (ICES 2006, International Council for the Exploration of the Sea). 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 (connectivité) et de leur structure en métapopulation est donc nécessaire pour mieux comprendre leur fonctionnement et définir des mesures de gestion appropriées. Les populations de saumon sont caractérisées par une structure génétique hiérarchique (Perrier, 2010 ; Bradbury *et al.*, 2013), certaines régions présentant de faible structuration en faveur d'échanges entre populations de rivières proches, alors que d'autres secteurs présentent des signes d'isolation génétique parmi des rivières et même au sein de réseaux hydrographiques plus vastes (Dionne *et al.*, 2009), suggérant une contribution variable de poissons divagants au renouvellement de stocks. La structuration des populations dépendrait du degré de connectivité des milieux, de la superficie des habitats et de l'adaptation locale, qui peuvent soit isoler les populations en réduisant la survie et la forme physique des immigrants ou soit favoriser leur mélange (Bradbury *et al.*, 2013). La migration de reproduction vers le cours d'eau qui l'a vu naître (*phylopatricité ou homing*) présente chez le saumon atlantique des niveaux élevés mais pas strict (Jonsson *et al.*, 2003), 6-8% des individus issus de

reproduction naturelle disperseraient vers des bassins non-natal (*strayers ou errants*). Des taux de divagation plus forts et variables ont été même observés chez les individus issus de repeuplement 15-50% (Jonsson *et al.*, 2003 ; Horreo *et al.*, 2012 ; Leunda *et al.*, 2013 ; Ford *et al.*, 2015 ; Jonsson et Jonsson, 2017), les plus forts taux étant observés entre systèmes hydrographiques proches. En France, l'outil génétique a permis de montrer l'existence d'une structuration génétique au niveau de 5 populations (Perrier, 2010 ; Perrier *et al.*, 2011), dont 2 représentant des bassins hydrographiques spécifiques (Allier, Adour) et 3 des zones géographiques regroupant différents bassins versants côtiers de plus petites tailles (rivières Bretonnes, rivières de basse Normandie, rivières de haute Normandie), suggérant des niveaux variables de connectivité. Mais peu d'informations sont disponibles sur la connectivité à l'intérieur et entre ces entités génétiques, sur le rôle des repeuplements et sur la connectivité à fine échelle spatiale, en particuliers dans la région Nouvelle-aquitaine située dans la zone sud de son aire de répartition.

D'autre part, la diversité de trait de vie en eau douce (taille et âge d'émigration en mer, mouvement entre habitats, etc.) apparaît également comme une composante cruciale de la résilience des populations de poissons (Hanski, 1998). L'expression et le succès de certains traits de vie peuvent être largement contrôlés par les conditions hydroclimatiques (débits), la température et la disponibilité de la nourriture et des habitats. Dans le cas du saumon Chinook, différentes stratégies de migration en domaine continental (changements de rivières, dévalaison précoce ou tardive, etc.) ont été observées grâce à la microchimie des otolithes. Certaines de ces stratégies pourraient contribuer significativement à la survie et à la contribution des adultes de retour (Shrimpton *et al.*, 2014 ; Sturrock *et al.*, 2015 ; Phillis *et al.*, 2018). Chez le saumon atlantique les migrations en domaine continental au stade juvénile sont peu documentées, les tacons étant a priori plutôt sédentaires du moins jusqu'à leur premier automne (Juanes *et al.*, 2000). Des données récentes indiquent cependant une augmentation, au cours de ces dernières décennies, du taux de smolt migrant à l'âge-1⁺ par rapport à l'âge-2⁺ en Europe (80% vs 60%) (Aprahamian *et al.*, 2008 ; Rivot *et al.*, 2009).

Enfin, l'interaction de plusieurs facteurs (capacité d'accueil du milieu, compétition avec d'autres espèces, paramètres physico-chimiques du milieu, densité-dépendance de la croissance, etc.), peut engendrer une grande variabilité au niveau des taux de recrutement et de vagabondage et générer différents traits de vie selon les rivières, et par suite, se traduire par une efficacité plus ou moins variable de chacune de ces rivières-frayères au renouvellement des stocks.

Dans le contexte du changement global, les prévisions suggèrent une amplification de la variabilité saisonnière des débits et une augmentation de la température de l'eau, deux paramètres jouant un rôle essentiel sur le recrutement, la croissance et la survie lors du stade juvénile, mais aussi sur la survie des géniteurs (température). De tels changements dans la température et les débits risquent d'engendrer des modifications positives ou négatives au niveau des taux de croissance et ainsi des conditions de vie ou de survie, et ainsi avoir des répercussions sur les stratégies de vie aussi bien chez les individus de piscicultures que chez les individus issus de reproduction naturelle, en favorisant en particulier la mobilité entre rivières d'une région (Horreo *et al.*, 2011) et donc l'errance. La nature et l'intensité des échanges entre populations sont en outre des éléments clés pour préserver la diversité génétique et donc évaluer la persistance de l'espèce (Griffiths *et al.*, 2010).

Une meilleure connaissance de la connectivité multi-échelle entre les différentes populations, de l'origine de saumons errants et du rôle des programmes de repeuplement

dans les échanges, des rivières-frayères soutenant les meilleurs retours et des stratégies de vie gagnantes, s'avère donc essentielle pour comprendre quels sont les déterminants contribuant à la durabilité des populations, surtout dans les secteurs géographiques fortement impactés par la prédominance de repeuplements comme dans la Région Nouvelle-Aquitaine.

2.2 – Le saumon Atlantique en Nouvelle-Aquitaine

La région Nouvelle-Aquitaine est un des derniers refuges du Saumon atlantique sauvage dans la marge sud de son aire de distribution (Dumas et Prouzet, 2003). Trois bassins hydrographiques (Adour, Nivelle et Gironde) aux caractéristiques différentes en dimension de bassins versants, taille des populations (abondance de géniteurs de retour) et importance du soutien aux effectifs (alevinage), abritent en effet encore des saumons dans cette région. L'Adour, de taille intermédiaire, est colonisé par une population significative de saumon (2 500 - 4 500 adultes de retour/an, MIGRADO, 2017, hors prélèvements par la pêche) soutenue par de la reproduction naturelle (Gave d'Oloron et Nives) et une population en cours de restauration (Gave de Pau). C'est d'ailleurs le seul bassin en Nouvelle Aquitaine dans lequel l'activité pêche professionnelle et amateur est encore présente. La Nivelle, bassin de petite taille, est colonisée par une population de petite taille (50-100 adultes de retour/an, source MIGRADO) avec exclusivement de la reproduction naturelle. Enfin, la Gironde, bassin de grande dimension constitué des sous-bassins Dordogne et Garonne, est colonisée par une population de taille modérée (200 à 750 poissons/an au total ces dernières années, source MIGADO), largement soutenue par de l'alevinage. Ces trois populations sont par ailleurs entourées par deux populations de taille modérée, la Bidassoa (250-500 adultes de retour/an : source gouvernement de Navarre) au sud de la Nivelle, et la Loire (200-1000 adultes de retour/an : source LOGRAMI) au nord de la Garonne-Dordogne, qui font toutes les deux l'objet d'un programme de restauration s'appuyant sur des repeuplements.

Des efforts considérables ont été consentis dans le cadre des plans de gestion quinquennaux des poissons migrateurs (PLAGEPOMI) pour faciliter l'accès des géniteurs aux zones favorables et fonctionnelles à la reproduction (rétablissement de la libre circulation), restaurer les habitats, réduire ou interdire les captures et enfin repeupler des rivières dans lesquelles les populations de saumons avaient fortement régressé ou disparu. Les programmes de repeuplement sont omniprésents sur l'ensemble du Sud Gascogne (Loire à Bidassoa). Cependant, la connectivité entre ces populations est mal connue car peu de données sont disponibles quant à l'origine des saumons de retour. Les mesures d'évaluation de l'efficacité des programmes de repeuplements sont également différentes selon les bassins hydrographiques. Sont utilisés sur les bassins Garonne-Dordogne (MIGADO, 2018) et Allier (LOGRAMI, 2018) la génétique de parenté, sur l'Adour des marquages partiels par adipose fin clip certaines années (MIGRADO, 2018) et la microchimie des otolithes entre 2009 et 2015 (Martin et al., 2013b ; Bareille et al., 2017), et enfin sur la Bidassoa (Leunda et al., 2013) des marquages par coded wire tag-CWT. Les méthodes d'assignation génétique de parenté et de marquage permettent d'obtenir uniquement des informations (taux de retour, taux de survie) dans le cas de rivières alimentées par des poissons de repeuplements. Ces informations sont souvent partielles dans le cas des marquages car ils ne sont applicables que sur des individus ayant atteint une taille minimale, ce qui limite leur application aux

déversements tardifs, et nécessite un marquage de masse compte tenu des plus faibles taux de retour pour les poissons issus de repeuplements. L'assignation par génétique de parenté permet quant à elle d'accéder à la proportion d'individus issus de la reproduction naturelle, mais pas à la rivière de naissance et de développement de ces derniers. Enfin, dans la mesure où chaque bassin travaille de façon indépendante, la collecte d'informations sur les repeuplements est en général spécifique à chaque bassin.

2.3 – Connaitre l'origine des saumons de retour pour accéder à la connectivité entre populations

Evaluer la connectivité des populations de saumons ainsi que l'efficacité de rivières-frayères et de stratégies de vie, nécessite cependant de disposer de méthodes capables de fournir des données cruciales comme l'origine natale (reproduction naturelle vs pisciculture) et géographique (rivière-frayère ; rivière de déversement), l'historique d'occupation d'habitats ainsi que la taille et l'âge de départ en mer pour tous les adultes de retours, applicables à l'ensemble des bassins hydrographiques. Les méthodes classiques de marquages et de génétique de parenté mise en œuvre à ce jour en Nouvelle Aquitaine, ne le permettent cependant pas. L'utilisation de marqueurs génétiques (genomic DNA) pourrait être une alternative mais leur résolution spatiale ne s'avèrerait pas suffisamment fine (Perrier, 2010 ; Perrier *et al.*, 2011) par rapport à celle pouvant être obtenue via la microchimie des otolithes (Barnett-Johnson *et al.*, 2010). D'autre part, dans le bassin de la Garonne-Dordogne un profil génétique métissé est observé entre les populations Adour et Allier (Perrier, 2010). Il est le résultat de l'utilisation des géniteurs de ces deux populations pour restaurer le système Gironde.

L'otolithe, un outil aux multiples facettes

La microchimie constitue une méthode prometteuse pour identifier les habitats occupés en eaux douces par des poissons lors de leurs différents stades de vies. L'otolithe, ou « pierre d'oreille » du poisson, présente des caractéristiques précieuses : il enregistre chronologiquement les différentes phases de la vie du poisson via le dépôt de couches journalières et l'incorporation d'éléments chimiques dans ces couches. La microchimie et la morphométrie des otolithes, méthodes qui ont émergé depuis quelques années, présentent un potentiel intéressant pour accéder à des informations rétrospectives sur les environnements de vie des poissons, leur âge et croissance (Campana, 1999 ; Campana & Casselman, 1993).

La microchimie des otolithes, basée sur un marquage chimique naturel de tous les individus sans aucune manipulation, permet dans certains cas d'accéder à une résolution fine à l'intérieur de bassins hydrographiques à condition qu'il existe une discrimination géochimique suffisante des différentes rivières (Kennedy *et al.*, 2000 ; Wells *et al.*, 2003 ; Walther and Limburg, 2012 ; Martin *et al.*, 2013 ; Brennan *et al.*, 2015). En effet, la concentration de certains éléments (Sr, Ba) et isotopes ($^{87}\text{Sr} : ^{86}\text{Sr}$) dans l'otolithe est intimement liée à la composition chimique du milieu où réside le poisson (Campana et Thorrold, 2001 ; Walther *et al.*, 2008 ; Martin *et al.*, 2013a, b ; Morais et Daverat, 2016). Ces éléments ont été alors utilisés comme marqueurs d'habitats et ont permis de reconstituer les différents milieux occupés par le poisson depuis sa naissance jusqu'à sa capture. Cette

approche a été utilisée avec succès sur plusieurs espèces de poissons anadromes ou holobiotiques (ombres, corégones, truites, saumons, barramundis) afin de discriminer relativement finement des rivières-frayères, des piscicultures et/ou des déplacements en milieu d'eau douce (McCulloch *et al.*, 2005 ; Clarke *et al.*, 2007 ; Barnett-Johnson *et al.*, 2008, 2010 ; Perrier *et al.*, 2011 ; Muhfeld *et al.*, 2012 ; Brennan *et al.*, 2015 ; Padilla *et al.*, 2015 ; Marklevitz *et al.*, 2016 ; Shrimpton *et al.*, 2014 ; Sturrock *et al.*, 2015 ; Phillis *et al.*, 2018). D'autres éléments chimiques (Mn, Zn), pour lesquels aucune relation n'a été observée entre le milieu de vie (composition chimique de l'eau) et l'otolithe chez de nombreuses espèces dont le saumon atlantique (Martin *et al.*, 2013a), seraient incorporés dans les otolithes sous un fort contrôle physiologique (Woodcok *et al.*, 2012 ; Loewen *et al.*, 2016). Ces éléments pourraient cependant s'avérer intéressants pour accéder à des informations sur des changements de croissance par exemple (Sturrock *et al.*, 2014). Compte tenu de la complexité des facteurs intervenants dans leur incorporation, ils ont été cependant peu utilisés pour le moment.

En Nouvelle Aquitaine, la microchimie des otolithes a été développée au sein de l'UMR 5254 IPREM à Pau, et utilisée en particulier sur l'anguille (Tabouret *et al.*, 2010), le saumon atlantique du bassin de l'Adour (thèse de J. Martin, 2013 ; Martin *et al.*, 2013a, b ; Bareille *et al.*, 2017 - projet CARPOMIBA 2013-2017) et l'aloise (Martin *et al.*, 2015 ; Randon *et al.*, 2018 ; Nachon *et al.*, 2019 ; projet FAUNA-SHAD'EAU). Les premiers travaux réalisés sur le saumon étaient cantonnés au bassin de l'Adour. Ils ont prouvé l'utilité de cette approche permettant grâce aux indicateurs Sr:Ca, Ba:Ca et $^{87}\text{Sr} : ^{86}\text{Sr}$: (1) d'identifier la proportion de géniteurs de retour correspondant à chaque sous-bassins et rivières ou groupes de rivières dans ce bassin via un modèle d'assignation de la rivière de développement au stade juvénile (« origine géographique Adour ») appliqué avec succès aux années de retours (2011-2015) et (2) d'estimer le taux de retours des repeuplements effectués sur le gave de Pau. Dans le cadre du projet CARPOMIBA (Bareille *et al.*, 2017), l'approche microchimie des otolithes a été étendue au-delà du bassin de l'Adour en incluant dans le modèle d'assignation d'une origine, des otolithes de saumons adultes de retour dans divers bassins hydrographiques ou régions (Galice, Asturies, Bidassoa, Nivelle, Garonne-Dordogne, Allier, Finistère sud), ceci afin d'identifier l'origine d'éventuels vagabonds dans le bassin de l'Adour. La constitution d'une telle base de données d'origine nécessite un travail de longue haleine et couteux. Il n'a été abordé pour le moment que de façon préliminaire. Il nous est alors apparu opportun de poursuivre ces investigations, mais aussi de s'intéresser à des méthodes alternatives moins couteuses et moins énergivores en temps pouvant suppléer l'approche microchimie.

Il est reconnu aujourd'hui que la forme de l'otolithe (*otolith shape*) résulte du contrôle de facteurs abiotiques et biotiques, du génotype des individus et des processus ontogéniques (Campana and Casselman, 1993 ; Tuset *et al.*, 2003 ; Vignon et Morat, 2010 ; Mapp *et al.*, 2017 ; Morat *et al.*, 2017 ; Afanasyev *et al.*, 2017 ; Mahé, 2020). Par suite, la forme des otolithes a été fréquemment utilisée comme outil pour discriminer différents stocks de poissons, mais cela principalement sur des espèces strictement marines (Campana and Casselman, 1993 ; Tuset *et al.*, 2003 ; Campana, 2005 ; Burke *et al.*, 2008 ; Ferguson *et al.*, 2011 ; Mahé *et al.*, 2016). En milieu continental, les conditions environnementales, le régime alimentaire et la constitution génétique peuvent être variables d'un bassin à un autre ou d'une rivière à une autre, suggérant qu'une discrimination géographique par cet outil est possible. D'autre part, peu d'études ont comparé microchimie et forme des otolithes avec

des résultats contrastés (Sturrock et al., 2012). En ce qui concerne le saumon atlantique, nous avons recensé une seule étude sur la forme des otolithes (Friedland and Reddin, 1994). Cette étude a porté sur la comparaison de poissons capturés en mer et d'origine connue (individus marqués) provenant de plusieurs rivières américaines, canadiennes, irlandaises et écossaises. Une bonne discrimination de l'origine par continent d'origine a été obtenue (88% de bonne classification), par contre l'efficacité de la classification par pays d'origine s'est avérée moins précise (64-69%). Au regard de la structuration génétique et de la variabilité des conditions environnementales rencontrées en milieu continental, il n'est pas exclu qu'elle puisse cependant permettre la discrimination d'origines géographiques à de plus fines échelles, inter et/ou intra-bassin. Toutefois, cela dépend très largement du rôle des différents facteurs intervenant dans l'établissement de la forme des otolithes de saumons adultes. Certains de ces facteurs pouvant engendrer une variabilité de forme à une échelle si fine (intra-population) que la discrimination à une échelle plus large (inter-population) devient plus difficile (Mille, 2015 ; Vignon, 2015).

Enfin, le couplage morphométrie/microchimie a permis d'estimer la taille des juvéniles au moment de leur départ en mer (stade smolt) grâce à l'existence d'une relation linéaire entre le rayon de l'otolithe et la taille du poisson juvénile (Sturrock et al., 2015), la microchimie servant dans ce cas à délimiter le moment du départ en mer sur l'otolithe. Cette approche n'a cependant pas été fréquemment utilisée alors qu'elle est susceptible d'apporter des informations complémentaires en termes de stratégies de vie et de conditions de vie.

En résumé : il ressort que l'otolithe offre de multiples potentialités pour fournir des informations sur les origines (natale et géographique) et les traits de vies, paramètres essentiels pour aborder la connectivité entre populations aux échelles spatiales bassins, sous-bassins et rivières, et identifier différentes stratégies au stade juvénile. Cela nécessite d'étendre les modèles d'assignation Adour, « pisciculture » et « rivière de développement », à l'ensemble des rivières et piscicultures à saumons de Nouvelle-Aquitaine (+Allier et Bidassoa). Pour écarter le risque de confusion dans les signatures chimiques entre rivières et/ou piscicultures des différents bassins, une approche multi-traceurs est souhaitable. La forme de l'otolithe pourrait amener une dimension supplémentaire dans le potentiel de discrimination, mais cela reste à explorer. Enfin, l'otolithe peut également apporter des informations utiles à l'identification de traits de vies, que ce soit au travers de l'âge et de la taille lors du départ en mer (morphométrie, autres éléments chimiques : Mn, Zn) ou de changements d'habitats pendant le développement juvénile (Sr :Ca, Ba :Ca et $^{87}\text{Sr} : ^{86}\text{Sr}$).

3 - Objectif du Projet ECOSAG et du Work Package 3

Au regard du contexte présenté précédemment, le projet ECOSAG (2019-2024) propose de mieux comprendre le fonctionnement des populations de saumon Atlantique à l'échelle de la Nouvelle Aquitaine via l'utilisation des diverses potentialités de l'otolithe (microchimie et morphométrie). Le but final étant :

(1) d'étudier la connectivité à des échelles inter et intra-bassin, d'estimer le rôle des repeuplements dans cette connectivité, et d'identifier et de quantifier les rivières sources

d'errants en élargissant la base origine au-delà de la Nouvelle-Aquitaine (Allier, Bretagne, Normandie, Rhin, Bidassoa, Asturies-Cantabrie, Galice);

(2) d'identifier les rivières-frayères les plus efficaces ainsi que différentes stratégies de vie au stade juvénile (âge de départ en mer, migration entre rivières) participant préférentiellement au renouvellement des populations.

Ces objectifs reposent sur la capacité à déterminer une origine natale (anadrome ou pisciculture) et une origine géographique (rivière de déversement ou de naissance) pour chacun des saumons adultes de retour qui seront collectés dans les différents bassins hydrographiques de Nouvelle-Aquitaine et d'ailleurs. Pour cela nous envisageons de continuer à développer l'outil microchimie des otolithes (affiner les modèles d'assignations déjà réalisés et en développer d'autres), mais aussi de tester de nouvelles approches méthodologiques (« forme des otolithes »), et enfin à les appliquer aux saumons de retour dans les différents bassins hydrographiques.

Différentes actions ont été identifiées dans le cadre du projet ECOSAG afin de répondre aux objectifs :

Action 1 : Développement de modèles d'assignation d'une origine géographique (rivière de déversement ou de naissance) sur la base de la microchimie des otolithes

- A1.1_ Amélioration des modèles déjà réalisés à l'échelle « Bassins/Régions » et « Adour spécifique » (Bareille et al., 2017) via l'ajout d'autres bassins ou rivières.

- A1.2_ Développement d'un modèle spécifique à la Gironde.

Action 2 : Développement d'un modèle d'assignation d'une origine natale (anadrome, piscicultures : « **modèle Repeuplement** »). Ce modèle intégrera toutes les piscicultures à saumons de Nouvelle-Aquitaine mais aussi les piscicultures de deux bassins adjacents proches de la zone d'étude, la Bidassoa (à l'ouest) et l'Allier (au nord).

Action 3 (Work Package 3) : Evaluation de la capacité de la « **forme des otolithes** » à discriminer des origines à différentes échelles spatiales (bassins, sous-bassins, rivières individuelles, piscicultures). Les performances de la forme des otolithes à discriminer selon différentes échelles spatiales seront examinées sur des individus pour lequel on disposera d'une origine sur la base de la microchimie des otolithes. Si cette approche se révèle fructueuse, un « **modèle forme** » sera développé de façon complémentaire ou alternative à la microchimie.

Action 4 : Evaluation de l'âge-rivière et la taille des smolts lors du départ en mer. Ceci sera réalisé, respectivement, via l'utilisation des profils microchimiques du Mn et du Zn et de la relation « taille juvénile » en fonction de la « taille de l'otolithe ».

Action 5 : Application des différents modèles à des saumons adultes de retour dans les 3 bassins. Evaluation de la connectivité, du rôle des repeuplements, de l'efficacité des rivières-frayères et de différentes stratégies de vie sur le renouvellement des populations en Nouvelle-Aquitaine. Ces applications seront ciblées sur des années représentant des retours de géniteurs quantitativement variables (2013-2016 pour la Gironde ; 2016-2019 pour l'Adour).

4 – Résultats du Work Package 3 (Action 3 du projet ECOSAG) : « *Evaluer l'aptitude de la forme de l'otolithe du saumon atlantique à discriminer son origine à différentes échelles spatiales de la Bidassoa au Rhin* »

Le rôle de la génétique sur la forme des otolithes est largement admis aujourd'hui (Vignon et Morat, 2010 ; Vignon, 2015). L'ontogénèse a été également identifiée comme un des facteurs affectant de façon différenciée la vitesse de croissance des otolithes le long des axes antérieur-postérieur et dorsal-ventral (Figure 1), impactant de ce fait significativement la forme à différents stades de vie (Mille, 2015 ; Mahé, 2020). Si c'est le cas pour le saumon atlantique, dont la croissance au stade juvénile se déroule en eaux douces et le développement adulte en mer, alors il ne sera pas possible d'établir une base modèle d'assignation d'origine incluant à la fois des individus juvéniles et adultes. Il était donc essentiel d'évaluer le rôle de l'ontogénèse sur la variabilité de la forme des otolithes de saumons avant de tester son potentiel discriminatoire d'origines.

D'autre part, bien que potentiellement variable géographiquement, la forme des otolithes droits et gauches pourrait être asymétrique chez certaines espèces (Mille, 2015 ; Mahé et al., 2018 ; Mahé, 2020). Il était essentiel de vérifier l'existence ou non d'une telle asymétrie bilatérale entre les otolithes droits et gauches chez le saumon atlantique, d'autant plus qu'elle a été observée pour des saumons Chinook élevés en pisciculture (Koeberle et al., 2019). Elle se traduirait par la nécessité d'établir des bases de données distinctes, alors que dans le cas de symétrie entre les deux otolithes il ne serait nécessaire d'établir qu'une seule base de données incluant à la fois les otolithes droits et gauches.

Enfin, il a été également démontré une augmentation de l'occurrence de cristaux de vatérite en remplacement de l'aragonite chez des saumons à forte croissance (Reimer et al., 2017). Or, la cristallisation de vatérite crée un dimorphisme des otolithes (Oxman et al. 2007) et donc des formes différentes d'otolithes selon la présence d'aragonite ou de vatérite.

L'évaluation du potentiel de la forme des otolithes à discriminer des origines repose sur le développement d'une base modèle permettant, à partir d'individus d'origines diverses et connues, d'assigner rétrospectivement sur des individus d'origine inconnue une origine grâce à la forme.

Avant de présenter les premiers résultats que nous avons obtenus sur le potentiel de la forme à discriminer une origine chez le saumon atlantique (4.3), nous présenterons brièvement la méthodologie mise en œuvre pour caractériser la forme des otolithes (4.1). Puis, nous développerons les résultats de tests préliminaires qui ont été nécessaires pour identifier quels

types d'échantillons étaient les plus adaptés, en particuliers au regard des facteurs exposés ci-avant (4.2 : Ontogénèse, possible asymétrie des otolithes droit et gauche, influence négative de la présence de vatérite).

4.1 – Méthodes utilisées pour la description de la forme des otolithes

Numérisation des otolithes

La première étape a consisté dans la prise de photos sous loupe binoculaire (Optech : modèle LFZ) avec numérisation grâce à un capteur CCD relié à la loupe et à un ordinateur. Chacun des otolithes a fait l'objet de trois prises de photos sur fond noir afin, de faciliter les contrastes entre otolithe et fond, et de limiter au maximum les impuretés. Une première photo de la face proximale (face avec sulcus visible) a été prise en exposition normale (Figure 1) en lumière réfléchie, rostre vers le haut de l'image. Cette prise de vue devait permettre d'inspecter

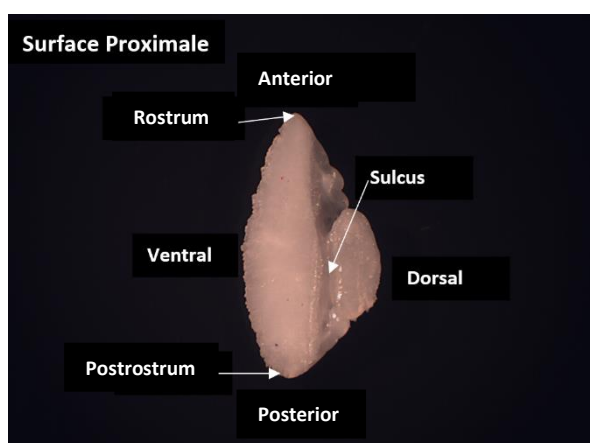


Figure 1 : Surface proximale d'un otolithe de saumon Atlantique ; localisation du sulcus, et des axes dorsal, ventral, antérieur et postérieur

visuellement la présence ou non de vatérite. La seconde photo représente exactement la même face de l'otolithe mais en surexposition afin d'augmenter le contraste otolithe/fond. C'est cette dernière photo qui sera analysée pour la description de la forme. La dernière photo représente la face distale (face opposée) avec une exposition normale dans le but de vérifier l'état de l'otolithe, en particulier vis-à-vis de la présence de vatérite. La vatérite se distingue de l'aragonite par son aspect généralement plus transparent, alors que l'aragonite est plus translucide en lumière réfléchie (Figure 2).



Figure 2 : Exemple d'un otolithe vatéritique. De gauche à droite : face proximale avec lumière normale ; face proximale surexposée ; face distale en lumière normale montrant une zone centrale translucide en aragonite avec le reste de l'otolithe plus transparent (vatérite).

Description de la forme par transformées elliptiques de Fourier

L'analyse de la forme des otolithes a été effectuée par le biais du groupe de logiciels libre d'accès « Shape Ver.1.3 » (Iwata 2002).

La première étape a consisté dans la conversion de l'image numérique 24 bits obtenue sous loupe binoculaire en image binaire grâce au module « ChainCoder » (Figure 3).

Lors d'une deuxième étape avec le même module, le contour de l'otolithe est extrait sous la forme d'une longue chaîne de code. Cette chaîne traduit le déplacement d'un pixel le long du contour de l'objet. Cette étape permet de créer un fichier de type « .chc ». Puis ces fichiers sont convertis sous la forme de fichiers « .nef » grâce au module « Chc2Nef ». Ce module permet de convertir les fichiers précédents en descripteurs elliptiques de Fourier normalisés (Elliptic Fourier Descriptors « EFDs »).

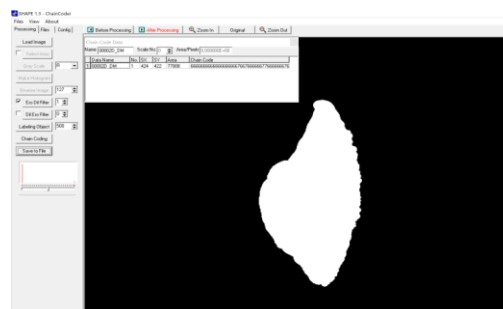


Figure 3 : Photo d'un otolithe numérisé en image binaire ChainCoder

Les descripteurs sont normalisés par rapport à la taille de la première ellipse. Il est alors possible de comparer la forme de l'otolithe d'un individu à un autre même si au départ les otolithes n'avaient pas la taille.

Le contour de l'otolithe est décrit sous la forme d'une fonction périodique qui s'exprime en une somme de termes d'une série trigonométrique de sinus et de cosinus. Cette série est caractérisée par des composantes appelées harmoniques, formées de 4 coefficients (A, B, C et D) qui servent de variables descriptives de la forme de l'objet. L'otolithe est donc décrit par deux séries trigonométriques, $x(t)$ et $y(t)$, correspondant aux projections du contour sur l'axe des abscisses et des ordonnées d'un repère quelconque. Ces projections sont fonction de la distance (t) mesurée le long du contour à partir d'un point arbitraire.

La forme d'un otolithe peut être décrite avec différents degrés de précision (Morat, 2007), et ce, en fonction du nombre d'harmoniques retenues pour reconstituer sa forme (Figure 4).

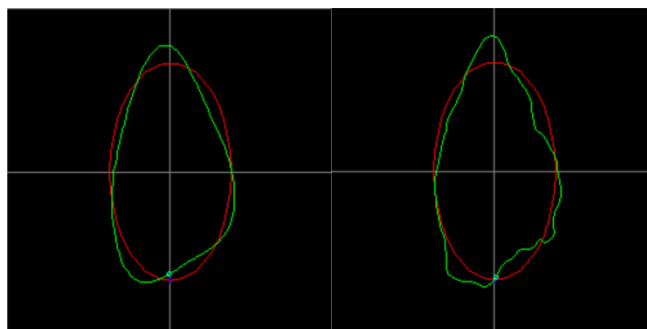


Figure 4 : A gauche la forme d'un otolithe traduit par 4 harmoniques, à droite par 28 harmoniques

Les deux séries trigonométriques, $x(t)$ et $y(t)$, correspondant aux projections du contour sur l'axe des abscisses et des ordonnées d'un repère quelconque, ont été calculées selon les équations ci-après :

$$x(t) = \frac{A_0}{2} + \sum_{j=1}^m (A_j \cos j\omega t + B_j \sin j\omega t)$$

$$y(t) = \frac{C_0}{2} + \sum_{j=1}^m (C_j \cos j\omega t + D_j \sin j\omega t)$$

Avec :

- A_j, B_j, C_j, D_j coefficients de Fourier à la j ème harmonique
- t : Distance de l'arc mesurée le long du contour à partir d'un point de départ

arbitraire. $t \in [0, T]$, T étant le périmètre du contour fermé (approximation par le polygone équivalent). T est aussi la période des fonctions $x(t)$ et $y(t)$, ce qui permet de définir la longueur d'onde $\omega=2\pi/T$

- j : nombre d'harmoniques

- m : nombre total d'harmoniques utilisées pour approcher $x(t)$

A la fonction $x(t)$ correspond la projection du contour sur l'axe des abscisses, les deux coefficients de Fourier A_j et B_j sont alors calculés par la méthode des moindres carrés.

$$A_j = \frac{T}{2\pi^2 j^2} \sum_{p=1}^k \frac{\Delta x_p}{\Delta t_p} * \left(\cos \frac{2\pi j t_p}{T} - \cos \frac{2\pi j t_{p-1}}{T} \right)$$

$$B_j = \frac{T}{2\pi^2 j^2} \sum_{p=1}^k \frac{\Delta x_p}{\Delta t_p} * \left(\sin \frac{2\pi j t_p}{T} - \sin \frac{2\pi j t_{p-1}}{T} \right)$$

Avec :

- k : nombre de points du contour (indexé par p)

- Δx_p : déplacement sur l'axe des abscisses du contour entre les points $p-1$ et p

- Δt_p : longueur du segment linéaire compris entre les points $p-1$ et p

- t_p : somme cumulée des longueurs de segment Δt_p .

Pour la fonction $y(t)$ correspondant à la projection du contour sur l'axe des ordonnées, les coefficients C_j et D_j sont calculés de la même façon. Le couple (A_0, C_0) indique les coordonnées du barycentre de l'objet.

La transformée elliptique de Fourier permet donc de calculer à partir d'un contour fermé à k points, 4 coefficients par harmoniques (A_j et B_j pour l'axe des abscisses, C_j et D_j pour l'axe des ordonnées, Figure 5) **Figure**.

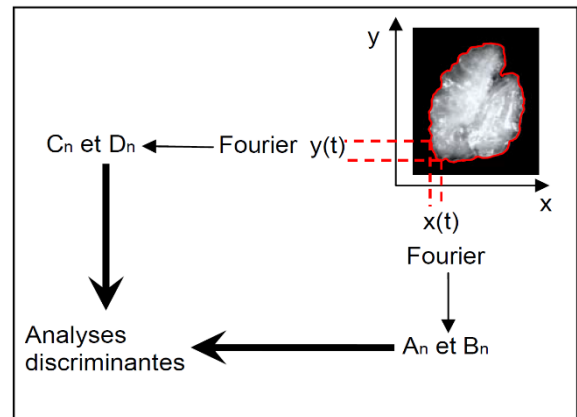


Figure 5 : Principe de la description d'un contour fermé par les descripteurs de Fourier elliptiques Morat (2007)

Nous avons utilisé ces descripteurs de Fourier comme variable explicative de la forme. La précision de la reconstitution de la forme est fonction du nombre d'harmonique utilisé. Il est considéré que la forme est correctement traduite quand elle est définie à 99.99%. La puissance de Fourier (F) a été utilisée pour calculer le nombre limite d'harmoniques nécessaires à la reconstitution de la forme à 99.99% selon le calcul suivant :

$$F(n_k) = \sum_{HI=1}^{n_k} \frac{A_{HI}^2 + B_{HI}^2 + C_{HI}^2 + D_{HI}^2}{2}$$

- k est la valeur cumulée pour la k ème harmonique

- A_{HI} , B_{HI} , C_{HI} and D_{HI} sont la HI ème Harmonique

- n_k est le nombre total d'Harmoniques

Dans cette étude, le calcul de la puissance de Fourier sur les otolithes présents dans notre base de données (n=638) suggère que 28 harmoniques sont nécessaires pour reconstituer 99.99 % de la forme du plus complexe des otolithes. La première harmonique de chaque échantillon a été supprimée car elle a servi à la normalisation de chaque otolithe, nécessaire pour comparer les otolithes les uns avec les autres, et ainsi s'affranchir de différences de taille en raison d'âges différents et/ou de taux de croissances différents selon les individus.

Analyse statistique

L'analyse statistique des données, coefficients A, B, C et D de chaque harmonique a été effectuée en collaboration avec le partenaire du projet, Fabien Morat, de l'université de Perpignan.

Le traitement des descripteurs elliptiques de Fourier (EFAs) obtenus pour la partie base-modèle a été réalisé suivant un modèle statistique de type CDA (*Canonical Discriminant Analysis*), une analyse discriminante multivariée sous contrainte. Elle permet de tester, à l'aide d'un certain nombre de variables quantitatives (dans notre cas, les descripteurs elliptiques de Fourier), l'appartenance des individus à des groupes prédéfinis (les différentes origines géographiques : bassins hydrographiques, sous bassins ou régions ; les otolithes droits et gauche ; les individus juvéniles et adultes) où les objets s'arrangent selon leurs axes de variations principaux. L'analyse discriminante vise à trouver les combinaisons linéaires des descripteurs qui en maximise la variance intergroupe et minimise la variance intragroupe, contrairement à une analyse en composantes principales (ACP). Cette méthode est une approche statistique qui étudie l'intégrité de groupes prédéfinis (quel bassin, adulte ou juvénile, etc.) en recherchant des spécificités propres à ceux-ci. La qualité et la validité de la discrimination des différents groupes ont été évaluées dans toutes les analyses par le Lambda de Wilk (λ) (Ramsay et Silverman 2005). Ce nombre évalue la performance du CDA et varie de 0 (discrimination élevée) à 1 (faible discrimination). Le taux de reclassement des individus dans les groupes prédéfinis a été déterminé par le test de Cohen-Kappa.

4.2 – Tests préliminaires à l'élaboration d'une ou de base(s) modèle(s) « forme des otolithes »

Nos premières investigations ont porté sur l'examen des points suivants :

(1) vérifier que pour un groupe de poisson de même origine, la forme de l'otolithe acquise au stade adulte ne divergeait pas significativement de celle générée au stade juvénile (processus ontogénétiques) dans la rivière d'origine que l'on cherche à identifier ; dans le cas où cette hypothèse ne serait pas vérifiée, alors la base modèle ne pourra pas utiliser des otolithes d'individus juvéniles mais exclusivement d'adultes en espérant que l'altération de la forme juvénile originelle lors du séjour en mer permettra encore d'en discriminer l'origine.

(2) vérifier que les otolithes droits et gauches n'ont pas une forme significativement différente (asymétrie bilatérale). Si c'est le cas, il sera possible d'utiliser indifféremment l'un ou l'autre ou les deux dans une base modèle unique. Si ce n'est pas le cas, il sera nécessaire de construire

deux bases modèles distinctes, otolithe droit et otolithe gauche, un seul otolithe pouvant être utilisable dans certains cas soit parce que l'autre est cassé, vatéritique ou a été préalablement utilisé pour la microchimie ;

(3) vérifier que la présence d'une cristallisation anormale (vatérite à la place d'aragonite) n'induit pas une modification de la forme susceptible d'altérer le pouvoir discriminatoire d'une origine spécifique.

Les résultats obtenus conditionnent les choix qu'il sera nécessaire de faire pour construire une (ou des) base(s) de données afin d'évaluer le pouvoir de discrimination de la forme des otolithes. Les otolithes d'individus de trois bassins (Adour, Allier, Rhin) ont été utilisés pour réaliser les 3 tests explicités ci-dessus (Tableau 1) car nous disposons d'adultes (adu) et de juvéniles (juv) de mêmes origines (validé par la microchimie), des otolithes avec une cristallisation normale en aragonite (N) ainsi que des otolithes contenant de la vatérite (V) et des otolithes droits (D) et gauches (G). Une échelle spatiale « bassin » a été testée sur ces 3 bassins ; une échelle spatiale plus fine (« sous-bassins ») a également été abordée sur l'Adour.

BV	Sous-Bassin	Groupe	Otolithe G+D	Otolithe G	Otolithe D
Bassin versant de l'Adour	Nives	AD_Nives_N_adu	35	17	18
		AD_Nives_N_juv	22	10	12
		AD_Nives_V_adu	10	6	4
	Oloron	AD_Olo_N_adu	209	107	102
		AD_Olo_N_juv	40	33	7
		AD_Olo_V_adu	110	55	55
		AD_Olo_V_juv	13	7	6
	Pau	AD_Pau_N_adu	35	23	12
		AD_Pau_N_juv	29	24	5
		AD_Pau_V_adu	26	16	10
		AD_Pau_V_juv	23	12	11
Allier	Allier	AL_N_adu	15	7	8
		AL_N_juv	6	4	2
		AL_V_adu	7	0	7
Rhin	Rhin	RH_N_adu	30	16	14
		RH_N_juv	18	10	8
		RH_V_adu	10	4	6
		Total	638	351	287
		Total Normaux (N)	439	251	188
		Total Vatérîte (V)	199	100	99
		Total Adulte	487	251	236
		Total Juv	151	100	51

Tableau 1 : nombre d'otolithes droits (D), gauche (G), gauche + droit miroir (G+DM), normaux (N), vatéritique (V), d'individus juvéniles (juv) et adultes (adu) utilisés pour réaliser les tests préliminaires à partir des bassins Adour, Allier et Rhin.

4.2.1 – Rôle de l'ontogénèse : Comparaison otolithes d'adultes vs juvéniles

Une comparaison de la forme des otolithes entre juvéniles et adultes a été réalisée à deux échelles spatiales, bassins (Adour, Allier, Rhin) et sous-bassins/rivière de l'Adour (Oloron, Nives, Pau, gave d'Ossau).

Le premier test incluait les otolithes normaux (N) et vatéritiques (V) des bassins Rhin (RH), Allier (AL) et des 3 sous-bassins, Oloron (Olo), Nives (Nives) et Pau (Pau) du bassin de l'Adour (AD). La discrimination selon le type d'otolithes (N ou V) et l'origine du poisson, montre que la forme des otolithes des adultes (ellipse verte) diffère en général significativement de celle des juvéniles correspondants (ellipse bleu), que ce soit pour les otolithes normaux et vatéritiques (Figure 6).

Le deuxième test a été mené en focalisant uniquement sur les otolithes normaux des 3 sous-bassins du bassin de l'Adour (AD), Nives (Nives), Pau (Pau) et Oloron (Olo). Les individus du sous-bassin Oloron ont par ailleurs été séparés en deux entités origines distinctes, ceux d'origine plus spécifique gawe d'Ossau (Oss) affluent du sous-bassin d'Oloron et les autres affiliés aux autres secteurs du sous-bassin Oloron.

On peut voir sur la figure 7 une distinction évidente entre les juvéniles et les adultes au niveau de l'axe des abscisses (PC1 : 28%). On distingue également que les différents groupes d'origines se différencie plus largement chez les adultes que chez les juvéniles sur l'axe 2 (PC2 : 18%).

Cette différence de forme est confirmée en comparant la forme moyenne normalisée des otolithes de saumons Adour juvéniles à celle des adultes (Figure 7). La comparaison entre les deux montre une forme plus arrondie pour les juvéniles que pour les adultes. Ceci semble associé à l'accroissement plus rapide au niveau de l'axe rostre/post-rostre (antérieur-postérieur) de l'otolithe lors du grossissement en mer en comparaison à l'axe ventral/dorsal (Figure 8). Ce phénomène d'évolution d'une forme sphérique vers une forme plus allongée (elliptique), due à une croissance préférentielle le long de l'axe antérieur-postérieur, a déjà été observé sur d'autres espèces de poissons (Mille, 2015 ; Mahé, 2020) et peut donc constituer un facteur confondant lors d'assignation à des stocks si l'on ne dispose pas de bases de données incluant des individus de même classe d'âge (juvéniles et adultes par exemple).

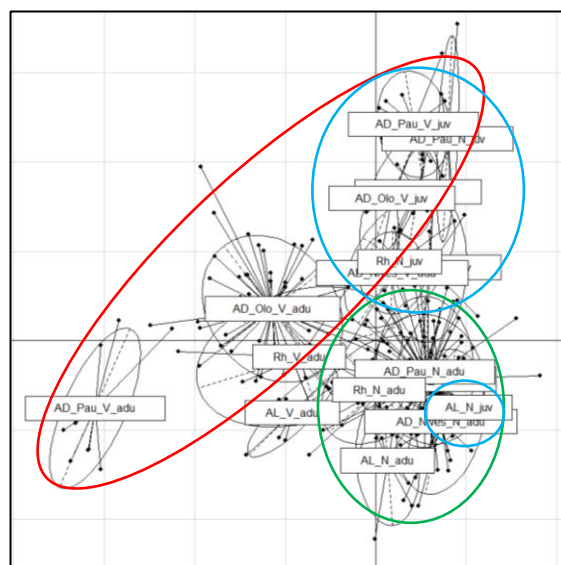


Figure 6: Représentation graphique de l'analyse discriminante pour les otolithes Droits. Ellipse rouge : individus vatéritiques ; ellipse verte : adultes normaux ; ellipse bleue : juvéniles.

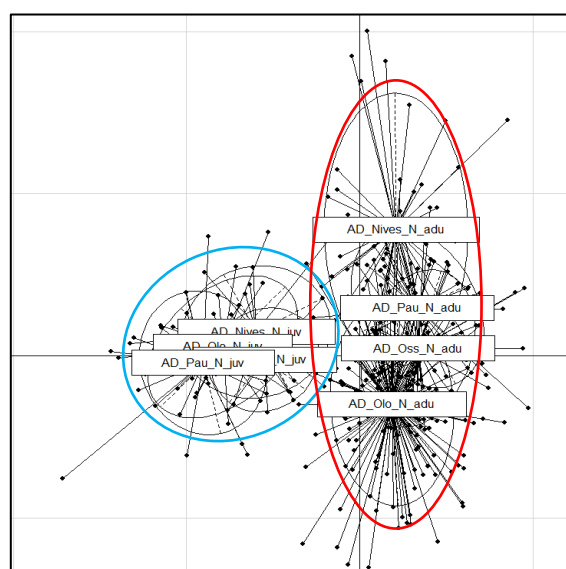


Figure 7: Analyse discriminante comparative entre les otolithes de poissons adultes et juvéniles du bassin de l'Adour. Ellipse rouge : Adultes ; Ellipse bleue : Juvéniles

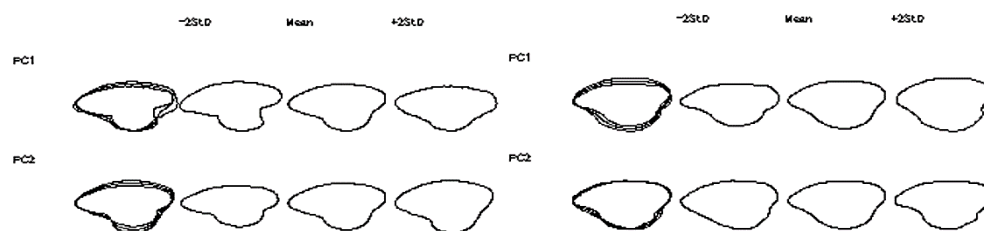


Figure 8: A Gauche représentation moyenne du contour des otolithes pour les saumons Adultes du bassin de l'Adour, à Droite même représentation pour les Juvéniles. Axe dorsal-ventral sur la verticale et axe antérieur-postérieur sur l'horizontale

Sur la base de ce test, il apparaît évident que la forme de l'otolithe au stade adulte diffère de celle au stade juvénile. Toutefois, il semble que les discriminations observées entre différentes origines géographiques au stade jeune soient retrouvées au stade adulte, suggérant que l'influence des facteurs environnementaux qui engendreraient la discrimination de secteurs géographiques (sous-bassins/rivières) au stade juvénile est préservée chez les adultes en accord avec Koeberle et al. (2019). Il faut cependant signaler que nos résultats montrent un moins bon taux de reclassement par la forme avec les adultes qu'avec les juvéniles pour certaines origines (Nives et Ossau, tableau 2), suggérant une perte de discrimination, mais ce n'est pas systématique (Oloron et Pau : taux de bon reclassement juvénile/adulte similaires). En raison des faibles effectifs d'individus ces observations sont toutefois à prendre avec précaution.

Taux de bon reclassement	Juvéniles		Adultes	
	N	%	N	%
Nives	22	82	35	66
Oloron	29	90	148	89
Ossau	11	82	61	72
Pau	28	82	36	81

Tableau 2 : comparaison des taux de bon reclassement entre juvéniles et adultes pour quatre origines dans le bassin de l'Adour.

En raison de la divergence au niveau de la forme générale des otolithes entre individus juvéniles et adultes, il n'apparaît pas envisageable d'inclure des juvéniles dans la base modèle au risque d'augmenter la dispersion de forme pour une origine donnée et donc de recouvrement entres origines différentes. Cela représente 28% d'otolithes gauches et 18% d'otolithes droits à supprimer de la base modèle.

4.2.2 – Asymétrie bilatérale : comparaison otolithe droit vs gauche pour une même origine

Compte tenu du résultat précédent, nous avons exploré une éventuelle différence de forme entre les otolithes droits et gauches uniquement sur des otolithes de saumons adultes avec

une cristallisation normale (aragonite). Notre choix s'est une nouvelle fois porté sur les individus collectés sur le bassin de l'Adour au regard d'effectifs suffisamment conséquents. Huit groupes d'otolithes ont été constitués à partir des 4 origines géographiques Oloron (sans Ossau) (AD_Olo), Pau (AD_Pau), Nives (AD_Nives) et gave d'Ossau (AD_Oss), avec pour chaque origine un groupe otilithe gauche (G) et un groupe otilithe droit miroir (DM). Afin que l'otolithe droit soit dans le même sens que le gauche, il nous a fallu utiliser l'image miroir du droit.

La distribution des 8 groupes d'otolithes selon les deux premiers axes obtenus par l'analyse canonique discriminante (CDA) montre que les otolithes gauches sont significativement différenciés de l'image-miroir des otolithes droits et ce quel que soit le groupe considéré (Figure 9, Tableau 3). Ceci suggère l'existence d'une asymétrie de forme entre les deux otolithes G et D. Cette asymétrie apparaît plus marquée au niveau du sous-bassin Pau sujet à des repeuplements intensifs, mais beaucoup moins dans le sous-bassin des Nives. Si l'asymétrie de forme semble préférentiellement visible au niveau de l'axe 1 de la CDA pour Pau et Oloron, elle est plutôt observée au niveau de l'axe 2 pour le gave d'Ossau. Ces observations préliminaires seront à explorer plus en détails sur un jeu de données plus conséquent et sur les otolithes gauche et droit d'un même individu. En effet, dans la base de données origines disponible, les photos des otolithes n'ont pu se faire que sur un seul des otolithes, l'un d'eux ayant été préalablement utilisé pour l'analyse microchimique sans que la photo n'ait été faite.

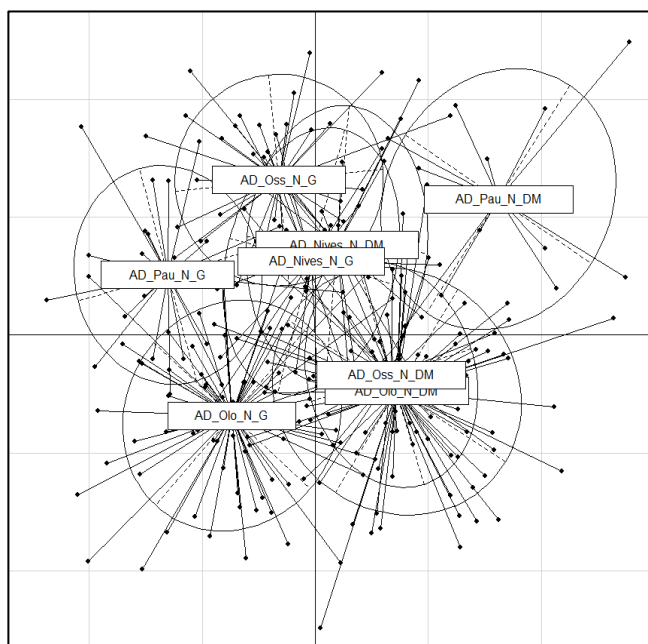


Figure 9 : Représentation graphique de l'analyse discriminante pour les otolithes Gauches + Droits miroir

Il conviendra donc de renouveler ce test sur des individus d'origines connus mais dont les deux otolithes ont été photographiés. Ce travail est en cours sur les bassins de l'Adour, de l'Allier et de la Garonne-Dordogne.

Ces résultats semblent néanmoins cohérents avec l'étude de Koeberle et al. (2020) qui ont mis en évidence une asymétrie de forme entre les deux otolithes d'une autre espèce de saumon (saumon Chinook, *Oncorhynchus tshawytscha*). Cette asymétrie a été mise en relation avec des opérations de repeuplement, l'asymétrie étant très largement représentée chez les individus issus de piscicultures en comparaison aux individus issus de reproduction naturelle.

Ces observations pourraient également expliquer pourquoi l'asymétrie apparaît plus franche au niveau du gave de Pau au regard des repeuplements intensifs dont il est le siège aujourd'hui. Dans le cas du gave d'Oloron, le soutien aux effectifs a été arrêté il y a quelques années, alors que dans les Nives il n'a été que très limité. Dans le cas d'une influence des repeuplements sur l'asymétrie, ceci semble cohérent avec l'éloignement des barycentres des groupes G et DM pour Oloron et Pau sur la figure 9 au niveau de l'axe 1 de la CDA. En ce qui concerne l'Ossau, cela semble plus complexe à expliquer.

Nos résultats montrent que le taux de reclassement par la forme avec l'otolithe gauche ou droit miroir n'est pas systématiquement différent (tableau 3), le taux étant parfois meilleur avec le gauche (Oloron, Ossau) ou avec le droit miroir (Pau, Nives). Toutefois, en raison des faibles effectifs d'individus ces observations sont à prendre avec précaution et il nous apparaît plus prudent de ne pas établir une base modèle intégrant simultanément les otolithes D et G. Ils devront être analysés séparément.

Taux de bon reclassement	Gauche		Droit miroir	
	N	%	N	%
Nives	17	65	18	83
Oloron	73	86	75	80
Ossau	34	91	27	85
Pau	23	96	12	100

Tableau 3: comparaison des taux de bon reclassement entre otolithe gauche et droit miroir pour quatre origines dans le bassin de l'Adour.

4.2.3 – Influence du remplacement de l'aragonite par de la vaterite

L'observation des photographies des otolithes en face proximale et distale nous a permis de constater que la présence de vaterite était très variable selon les otolithes. Certains individus présentaient de la vaterite dès le stade juvénile alors que pour d'autre exclusivement lors du développement en mer. Aussi, pour tester les effets de la présence de vaterite, nous avons utilisé la base de données contenant à la fois les juvéniles et les adultes, soit les individus de l'Adour, de l'Allier et du Rhin.

La forme des otolithes « anormaux » (V : avec présence de vaterite) est souvent assez différente de celle des individus avec des otolithes normaux. Une discrimination apparaît selon l'axe 1 et 2 pour l'otolithe droit (D, Figure 6) et principalement selon l'axe 2 pour le gauche (G, Figure 10) et le G+Dmiroir, que ce soit pour des individus juvéniles ou adultes.

Les cristaux de vaterite sont généralement plus gros et pointus que ceux sous forme d'aragonite, résultant en moyenne dans des otolithes plus large et plus grands que les otolithes normaux (Oxman et al. 2007). Ceci pourrait expliquer la différence de forme observée dans nos résultats. D'autre part, le fait que la présence de vaterite peut être quantitativement très variable d'un individu à un autre, devrait conduire à des différences de forme entre N et V plus ou moins importantes selon les individus.

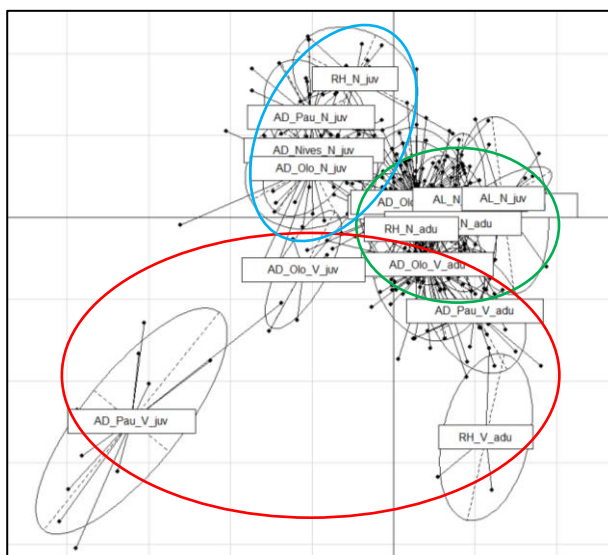


Figure 10 : Représentation graphique de l'analyse discriminante pour les otolithes Gauches Ellipse rouge : individus vateritiques ; ellipse verte : adultes normaux ; ellipse bleue : juvéniles

Il semblerait que la vitesse de croissance des otolithes impacte de façon significative la formation de vatérite (Bowen II et al., 1999 ; Morat et al., 2008 ; Reimer et al., 2017). Les sujets à croissance rapide auraient trois fois plus de chance d'en former. Ceci permet d'expliquer pourquoi les saumons issus de piscicultures, qu'ils proviennent de souches de poissons sauvages, hybrides ou de parents enfermés, ont plus de chance de développer de la vatérite en raison d'une croissance plus rapide. La présence de vatérite sur des otolithes de saumons originaire du milieu naturel (Reimer et al., 2017) suggère que certains milieux sont soumis à des conditions environnementales qui favorisent une croissance rapide (température optimale et abondance de nourriture).

Les individus avec des otolithes anormaux ne devront pas, par conséquent, être intégrés dans la base modèle. Cela représente 28% d'otolithes gauches et 35% d'otolithes droits qu'il n'est pas opportun de garder dans la base modèle.

Résumé des tests préalables

- ✓ 3 tests ont été menés afin de vérifier les effets des facteurs ontogénèse (juvénile/adulte), asymétrie bilatérale (gauche/droit) et présence de vatérite sur la forme des otolithes du saumon atlantique.
- ✓ Il s'avère que ces 3 facteurs présentent des effets confondants sur la discrimination de populations de saumon.
- ✓ Toutefois, des différences géographiques observées au stade jeune semble persister au stade adulte.
- ✓ Il en résulte que seul les otolithes d'individus adultes et ne présentant pas de vatérite (N) semblent utilisables pour établir des bases de données « otolithe droit » et « otolithe gauche », les deux otolithes d'un individu ne pouvant pas être combiné ensemble en raison d'une asymétrie bilatérale.
- ✓ L'influence de ces facteurs a pour conséquence une réduction significative des effectifs permettant de constituer les bases modèles de données dans notre cas, 56% d'otolithes G et 53% d'otolithes D.

4.3 – Elaboration de bases modèles « Forme des otolithes »

Compte tenu des résultats obtenus au niveau des tests préalables, nous avons élaboré deux bases modèles séparées, composées exclusivement d'individus adultes présentant des otolithes sans vatérite (N), une sur la base de l'otolithe droit (D) et l'autre avec l'otolithe gauche (G). Les otolithes utilisés proviennent d'individus adultes analysés en microchimie :

- Dans le cadre de la thèse de J. Martin (2009-2013) avec exclusivement des individus capturés dans le bassin de l'Adour entre 2009 et 2011.
- Dans le cadre du projet CARPOMIBA (2013-2017) avec des individus capturés dans le bassin de l'Adour entre 2012 et 2015, ainsi que des individus collectés dans 8 régions géographiques différentes (Allier, Finistère sud, Dordogne, Garonne, Nivelle, Bidassoa, Asturies et Galice).

- Dans le cadre de ce projet, avec des individus capturés dans deux autres secteurs géographiques, la Normandie et le Rhin.

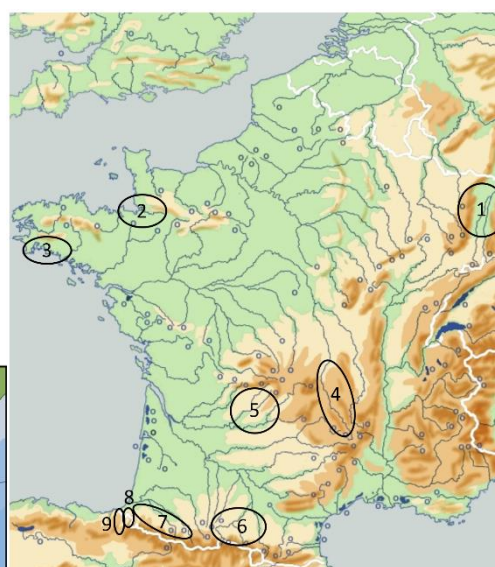
Cela représente un total de 277 otolithes D et 229 otolithes G (tableau 4), réparti de façon très hétérogène dans 11 secteurs géographiques de la Galice au Rhin (figure 11). Pour une très grande majorité des individus analysés en microchimie préalablement à l'étude ECOSAG (2019-2024), la prise de photographie des otolithes n'était pas systématiquement faite à l'époque. Du coup, nous ne disposons que d'un seul otolithe, soit le D soit le G, sur ces individus. Si l'on ajoute à cela qu'il a fallu éliminer les otolithes vatéritiques et cassés, les deux bases de données s'en trouvent substantiellement réduites (<300 contre 900 si nous avions disposés des deux otolithes sur chaque individu sans aucun cassé et tous sans vatérite).

Il est à noter que pour les 10 secteurs géographiques autres que l'Adour les quantités d'individus sont très variables (de 2 à 40, tableau 4). Ceci risque d'affaiblir la représentativité de la variabilité intra-population au niveau de certains secteurs géographiques, en particuliers Nivelle-NIV, Allier-AL, Asturies-AST, Rhin-RH, Bidassoa-BID. Afin que l'Adour n'est pas un poids trop important en nombre d'individus par rapport aux autres secteurs géographiques, nous avons séparé l'Adour en quatre entités géographiques différentes, les sous-bassins Pau (AD-Pau) et Nives (AD-Nives), la rivière Ossau (AD-Oss) et les autres affluents du sous-bassin Oloron (AD-Olo). Ceci apparaissait justifié au regard des résultats obtenus lors de la comparaison juvénile/adulte qui montraient une discrimination possible de ces 4 sous-groupes au niveau de l'Adour. D'autre part, pour 3 secteurs géographiques (Asturies-AST, Galice-GAL, Normandie-NOR) nous ne disposons que des otolithes D.

Secteurs géographiques	Otolithe Droit	Otolithe Gauche
Adour	132	141
Allier	8	7
Asturie	9	
Bidasoa	2	10
Dordogne	17	17
Finistère sud	15	15
Galice	26	
Garonne	11	19
Nivelle	3	4
Normandie	40	
Rhin	14	16
Total	277	229

Tableau 4: nombre d'otolithes droits et gauches utilisés dans les bases modèles D et G.

Figure 11: Carte des secteurs géographiques étudiés. Du Nord au Sud: 1 Rhin ; 2 Normandie ; 3 Finistère Sud ; 4 Allier ; 5 Dordogne ; 6 Garonne ; 7 Adour ; 8 Nivelle ; 9 Bidassoa ; 10 Asturies ; 11 Galice



Une analyse multivariée discriminante (Canonic Discriminant Analysis : CDA with jackknifed prediction) a été appliqué aux descripteurs des ellipses de Fourier (EFAs avec 28

harmoniques) sur les deux bases modèles D et G avec les secteurs géographiques comme variables explicatives. Pour évaluer les fonctions discriminantes, le pourcentage de classification correcte des individus aux secteurs géographiques a été calculé via une « jackknife-cross calibration » et le « Wilk's lamda criteria ».

Les résultats de l'analyse discriminante canonique sont présentés sur les figures 12 et 13 au travers des deux premières composantes principales qui expliquent 34% (PC1 : 19% et PC2 : 15%) et 48% (PC1 : 35% et PC2 : 13%) de la variabilité totale de la forme des otolithes des bases de données D et G, respectivement. Cette représentation permet d'avoir une première description de la distribution de chaque secteur géographique les uns vis-à-vis des autres. Globalement, la discrimination est bonne au niveau de l'axe 1 mais le pouvoir discriminant apparait moins important sur l'axe 2 pour les deux otolithes, avec un lamda de wilk's de 1.10^{-4} / 1.12 (axe1/axe2) pour les otolithes D et 2.10^{-4} / 1.07 pour les otolithes G, et des p-value de l'ordre de 2.10^{-16} dans tous les cas.

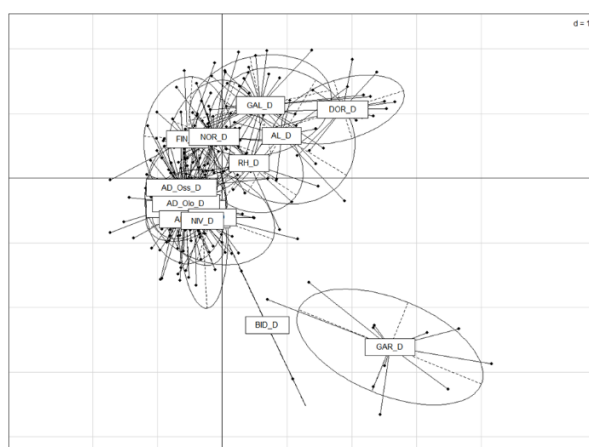


Figure 12 : Représentation graphique de l'analyse discriminante pour les otolithes Droits.

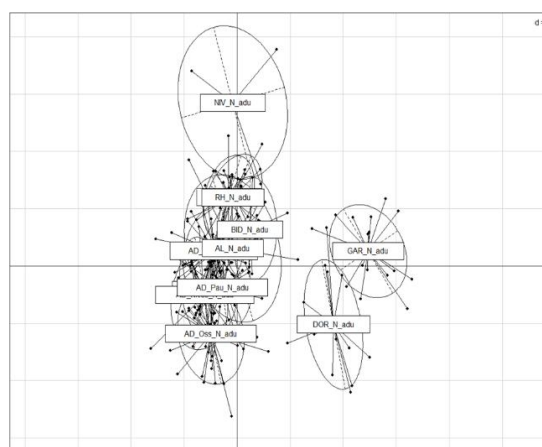


Figure 13: Représentation graphique de l'analyse discriminante pour les otolithes Gauches

AD_Nives : sous-bassin des Nives / AD_Pau : sous-bassin du gave de Pau / AD_Olo : sous-bassin du gave d'Oloron sans le gave d'Ossau / AD_Oss : rivière gave d'Ossau / AL : Allier / AST : Asturies / BID : Bidassoa / DOR : Dordogne / FIN : rivières du Finistère sud / GAL : rivières de Galice / GAR : Garonne / NIV : Nivelle / NOR : rivières de Normandie / RH : Rhin.

Il est délicat de comparer les deux otolithes vis-à-vis des secteurs géographiques car 3 ne sont pas représentés dans la base otolithe G (Galice, Normandie et Asturies).

Toutefois, il semble que la Garonne et la Dordogne soient relativement bien discriminées de tous les autres secteurs géographiques sur l'axe 1. Les autres bassins apparaissent plus majoritairement discriminés par l'axe 2 pour les deux otolithes. Des recouvrements existent néanmoins entre secteurs géographiques, du moins au niveau des deux premiers axes discriminants obtenus par la CDA. Ceci ne veut cependant pas forcément dire que la discrimination n'est pas bonne car cette représentation graphique ne tient pas compte des autres axes discriminants nécessaires pour expliquer plus de 90% de la variabilité de la forme dans notre jeu de données.

Au niveau des quatre entités géographiques définies dans le bassin de l'Adour (AD_Olo, AD_Oss, AD_Pau, et AD_Nives), elles montrent des ellipsoïdes relativement proches les unes des autres ce qui somme toute n'est pas forcément illogique car il s'agit d'une même population en termes de génétique (Perrier, 2010). On note cependant l'existence de différences entre ces entités, même si des recouvrements semblent évidents. Ces différences pourraient résulter de différences au niveau de conditions environnementales (température, disponibilité de nourriture, compétition intra et inter-espèces, ...) entre ces sous-bassins et/ou rivières (Vignon et al. 2008). D'autre part, les sous-groupes de l'Adour semblent également se différencier d'autres secteurs géographiques comme la Dordogne, la Garonne, les Asturies et la Galice au niveau de l'otolithe D ; avec l'otolithe gauche, en plus de la Garonne et la Dordogne, les secteurs Nivelle, Rhin, et Finistère semblent également se distinguer de l'Adour.

Le taux de reclassement global est de 86-87% avec les otolithes D et de 95% avec les otolithes G. Le taux de reclassement correct varie pour l'otolithe D selon que l'on utilise des priors égaux ou proportionnels aux effectifs de chaque site, mais pas pour les otolithes G. Il est toutefois nécessaire de rester prudent quant à la comparaison des performances entre les deux modèles D et G, car 3 secteurs géographiques sont absents du modèle G (Galice, Normandie et Asturies). Nous avons également testé un modèle contenant les otolithes G+Dm (image miroir du droit) en faisant abstraction de l'asymétrie de forme entre l'otolithe G et D. Le taux de reclassement correct chute alors à en moyenne 67%, confirmant l'influence négative de l'asymétrie bilatérale dans la discrimination des secteurs géographiques.

Nous avons dans un premier temps regroupé les 4 sous-groupes définis pour l'Adour afin de regarder à une large échelle géographique. Au niveau individuel, avec l'otolithe gauche (G, tableau 5) le taux de reclassement correct varie entre 86% (Allier) et 100% (Dordogne, Finistère, Nivelle et Rhin), avec 98% pour l'Adour.

		<i>Secteur attribué par le modèle</i>								
Otolithe Gauche (%)		GAR	NVL	RHI	ADO	ALL	BID	DOR	FIN	N
Secteur d'origine	GARONNE	95%	0%	0%	0%	0%	0%	5%	0%	19
	NIVELLE	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	4
	RHIN	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	16
	ADOUR	0%	0%	1%	98%	0%	0%	0%	1%	141
	ALLIER	0%	0%	0%	14%	86%	0%	0%	0%	7
	BIDASSOA	0%	0%	0%	10%	0%	90%	0%	0%	10
	DORDOGNE	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	17
	FINISTERE	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	15

Tableau 5: Matrice des pourcentages de reclassement correct pour chaque secteur géographique sur la base de l'otolithe gauche (G), calculé via une « jackknife-cross calibration » de l'analyse canonique discriminante (CDA). Le nombre d'individus de chaque secteur géographique est également donné dans la dernière colonne du tableau. Les lignes correspondent aux secteurs géographiques d'origine des individus, les colonnes aux secteurs géographiques attribués par l'analyse discriminante canonique.

Avec l'otolithe droit (D, tableau 6) le taux de reclassement correct est également élevé au niveau de chaque secteur géographique. Il varie entre 67% (Nivelle) et 100% (Asturies, Bidassoa), avec 95% pour l'Adour, et fluctue entre 80% et 94% pour les autres secteurs géographiques.

		Secteur attribué par le modèle											N
Otolithe Droit (%)		FIN	GAL	GAR	NVL	NOR	RHI	ADO	ALL	AST	BID	DOR	
Secteur d'origine	FINISTERE	87%	0%	0%	0%	7%	0%	7%	0%	0%	0%	0%	15
	GALICE	4%	85%	0%	0%	8%	0%	4%	0%	0%	0%	0%	26
	GARONNE	0%	0%	91%	0%	0%	0%	9%	0%	0%	0%	0%	11
	NIVELLE	0%	0%	0%	67%	33%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	3
	NORMANDIE	3%	0%	0%	0%	80%	3%	15%	0%	0%	0%	0%	40
	RHIN	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	14
	ADOUR	2%	1%	0%	0%	1%	0%	95%	0%	0%	0%	0%	132
	ALLIER	0%	0%	0%	0%	0%	0%	13%	88%	0%	0%	0%	8
	ASTURIE	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	9
	BIDASSOA	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	2
	DORDOGNE	0%	0%	0%	0%	0%	0%	6%	0%	0%	0%	94%	17

Tableau 6: Matrice des pourcentages de reclassement correct pour chaque secteur géographique sur la base de l'otolithe droit (D), calculé via une « jackknife-cross calibration » de l'analyse canonique discriminante (CDA). Le nombre d'individus de chaque secteur géographique est également donné dans la dernière colonne du tableau. Les lignes correspondent aux secteurs géographiques d'origine des individus, les colonnes aux secteurs géographiques attribués par l'analyse discriminante canonique.

Dans un deuxième temps, nous avons regardé les taux de reclassement à une échelle spatiale plus fine, en particuliers au niveau des 4 sous-groupes définis dans le bassin de l'Adour. Les taux de reclassement correct sont également très bons à cette fine échelle, variant entre 81% et 94% pour l'otolithe D et entre 82% et 100% pour l'otolithe G (Tableau 7). Les mauvaises assignations se font généralement entre les 4 sous-groupes, mais aussi quelquefois avec les secteurs géographiques Normandie, Rhin, Finistère et Galice.

D (%)	Nives	Oloron	Ossau	Pau	FIN	GAL	GAR	NIV	NOR	RH	AL	AST	BID	DOR	N
Nives	94	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18
Oloron	0	92	4	0	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	75
Ossau	0	15	81	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	27
Pau	0	17	0	83	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12

G (%)	Nives	Oloron	Ossau	Pau	FIN	GAL	GAR	NIV	NOR	RH	AL	AST	BID	DOR	N
Nives	88	12	0	0	0	----	0	0	----	0	0	----	0	0	17
Oloron	0	95	3	0	3	----	0	0	----	0	0	----	0	0	73
Ossau	0	12	82	3	0	----	0	0	----	3	0	----	0	0	34
Pau	0	0	0	100	0	----	0	0	----	0	0	----	0	0	23

Tableau 7: Matrice des pourcentages de reclassement correct pour les 4 sous-groupes du bassin de l'Adour (fine échelle spatiale) sur la base des otolithes droit (D) et gauche (G), calculé via une « jackknife-cross calibration » de l'analyse canonique discriminante (CDA). Le nombre d'individus est également donné dans la dernière colonne du tableau. Les lignes correspondent aux secteurs géographiques d'origine des individus, les colonnes aux secteurs géographiques attribués par l'analyse discriminante canonique.

Les taux de reclassement correct obtenus avec le saumon apparaissent très élevés au regard de faibles taux de reclassement correct trouvés pour des espèces marines entre différentes zones géographiques (Mille, 2015 et Mahé, 2020 : 28% à 39%). Cette différence peut provenir du fait que les espèces étudiées par ces auteurs appartiennent à des stocks

distribués sur de grandes zones géographiques, plus large que des secteurs de collecte retenus comme variable explicative. Dans notre cas, les zones géographiques préalablement définies concernent pour la plupart des populations françaises génétiquement différenciées (Normandie, Finistère, Adour, Allier : Perrier, 2010), mais aussi très certainement en Espagne (Asturies, Galice). Pour d'autres, il s'agit de populations issus de repeuplements, la Garonne et la Dordogne avec les souches Allier et Adour, le Rhin avec la souche Allier.

Il convient cependant d'être extrêmement prudent car le nombre d'individus utilisés pour établir les bases modèles D et G est relativement faible pour une large majorité des secteurs géographiques. Des données récentes suggèrent une grande variabilité de la forme au niveau intra-population (Mille, 2015 ; Vignon, 2015 ; Mahé, 2020). Cette variabilité pourrait, par conséquent, ne pas être correctement représentée dans notre base de données, du moins dans le cas de certains secteurs géographiques. D'autre part, certains auteurs signalent également des effets significatifs de l'âge, du sexe, de la maturité sexuelle et de la taille corporelle au niveau de la forme (cf citations in Mahé, 2020).

4.4 – Tests d'efficacité des bases modèles « Forme des otolithes » D et G

Afin de vérifier l'efficacité des modèles d'assignation D et G développés ci-avant, nous les avons appliqués à des otolithes de saumons collectés plus récemment :

- A partir de 2016 dans le bassin de l'Adour (2016, 2017, 2018, 2019) ;
- Provenant des bassins Garonne-Dordogne, Bidassoa et Allier.

Pour tous ces individus, on connaît uniquement le bassin (ou sous-bassin) de capture car aucune analyse microchimique n'avait été réalisé. Nous avons procédé de deux façons différentes :

- Premièrement, nous avons formulée l'hypothèse suivante: il est largement reconnu aujourd'hui que la fidélité au bassin de naissance (= homing) prévaut chez le saumon atlantique, 92-94% des individus issus de reproduction naturelle et 50-85% chez les individus issus de repeuplement (Jonsson *et al.*, 2003 ; Horreo *et al.*, 2012 ; Leunda *et al.*, 2013 ; Ford *et al.*, 2015 ; Jonsson et Jonsson, 2017). Les plus forts taux de dispersion étant observés chez les poissons de repeuplement entre systèmes hydrographiques proches. Partant de ce postulat, si nos modèles « forme » D et G sont compétitifs nous devrions alors avoir une assignation massive des individus à leur bassin de capture, et la part de vagabondage devrait être assigné aux bassins de proximité.
- Deuxièmement, nous avons sélectionné un sous-groupe d'individus qui ont été analysés en microchimie afin de leur assigner une origine géographique. Nous avons préférentiellement focalisé sur des individus capturés dans l'Adour en 2016-2017 (≈196), dans la Garonne (≈18), dans la Dordogne (≈33). Sur ces individus l'assignation par la microchimie a été comparée à celle obtenue par la forme.

4.4.1 – Assignment au bassin de capture exclusivement via la « forme des otolithes »

Pour ce test, une fois enlevé les otolithes cassés et vatéritiques, au total 730 otolithes D et 759 otolithes G ont été analysés pour la forme et introduit dans les bases modèles D et G comme individus d'origine inconnue. Le détail du nombre d'otolithes D et G inconnus capturés dans chaque bassin est présenté sur le tableau 8.

	Otolithe	D	G	Total
Secteur d'origine	ADOUR	459	463	922
	ALLIER	139	152	291
	BIDASSOA	8	12	20
	DORDOGNE	91	91	182
	GARONNE	33	41	74
	Total	730	759	1489

Tableau 8: effectifs d'otolithes D et G d'origine inconnue pour chaque bassin de capture.

Le résultat le plus marquant est que l'on ne retrouve pas une assignation majoritaire des individus à leur bassin de capture (Tableau 9). Seul le bassin de l'Adour, 63% avec l'otolithe D et 75% avec l'otolithe G, semble déroger à ce constat, même si pour ce dernier, le taux d'assignation reste faible par rapport au taux élevé de fidélité au bassin d'origine (« homing ») évalué par la microchimie des otolithes (Bareille et al., 2017). En effet, ce taux a été déterminé comme >95% sur une moyenne de 7 années (2009-2015) mais pourrait s'avérer un peu plus faible dans de rares cas (72% en 2011) (Bareille et al., 2017). Les résultats obtenus via la forme de l'otolithe suggèrent également que le vagabondage dans l'Adour proviendrait assez largement (D :17% ; G : 11%) de secteurs géographiques relativement éloignés (Rhin, Normandie, Finistère, Galice), ce qui va à l'encontre de ce qui a été observé dans la littérature, avec préférentiellement un vagabondage de proximité, confirmé par ailleurs dans le bassin de l'Adour via la microchimie des otolithes (Bareille et al., 2017).

Ces incohérences sont encore plus marquées au niveau des autres bassins pour lesquels le % de fidélité serait de 2-4% pour l'Allier, 0-58% pour la Bidassoa, 15-19% pour la Dordogne et 6-24% pour la Garonne. D'après le modèle forme, pour l'ensemble de ces bassins, les sources de vagabonds seraient principalement l'Adour (12-52%), puis dans une moindre mesure le Rhin, la Galice et la Normandie. Enfin, un nombre non négligeable d'otolithes sont assignés avec une probabilité <70% et sont par suite considérés comme des individus d'origine indéterminée (15-24% de D et 0-14% de G), mais cela ne peut pas expliquer de telles valeurs dans l'évaluation du taux de fidélité au bassin hydrographique. Pourtant, les informations disponibles sur les deux bassins Garonne-Dordogne et Allier sont également en faveur de forts taux de fidélité au bassin (données MIGADO et LOGRAMI ; Perrier, 2010).

		Secteur attribué par le modèle												
Otolithe Droit (%)		ADO	ALL	BID	DOR	GAR	NVL	RHI	FIN	GAL	AST	NOR	n.d. (p<0.7)	N
Secteur de capture	ADOUR	63	1	0	2	1	1	3	4	2	1	8	15	459
	ALLIER	22	4	0	7	7	2	14	3	6	6	14	15	139
	BIDASSOA	25	0	0	0	0	0	25	0	25	0	0	25	8
	DORDOGNE	18	7	0	15	8	0	8	1	13	3	12	15	91
	GARONNE	12	9	0	18	6	0	6	0	15	0	9	24	33
Otolithe Gauche (%)		ADO	ALL	BID	DOR	GAR	NVL	RHI	FIN	GAL	AST	NOR	n.d. (p<0.7)	N
Secteur de capture	ADOUR	75	2	3	1	0	0	5	6				8	463
	ALLIER	52	2	5	5	6	2	8	7				14	152
	BIDASSOA	33	0	58	8	0	0	0	0				0	12
	DORDOGNE	31	3	9	19	18	2	3	9				7	91
	GARONNE	15	2	2	17	24	2	15	12				10	41

Tableau 9 : % d'assignation des individus d'origine inconnue à chaque secteur géographique avec les modèles « forme otolithe » D et G. les lignes correspondent aux secteur de capture et les colonnes aux secteurs géographiques assignés par les modèles formes. n.d. : individus non attribué à une origine en raison d'une probabilité d'assignation <0.70.

Ces résultats apparaissent inexplicables au regard des taux élevés de reclassement correct obtenus lors de l'élaboration des modèles D et G, des taux de « homing » chez le saumon atlantique connus comme élevés, et de la prédominance de sources relativement proches de vagabondage (Jonsson *et al.*, 2003 ; Horreo *et al.*, 2012 ; Leunda *et al.*, 2013 ; Ford *et al.*, 2015 ; Jonsson et Jonsson, 2017).

Il est à noter que les secteurs géographiques les plus assignés sont ceux dont le nombre d'individus est le plus important dans les bases modèles D et G (Adour, Normandie, Galice). Il est donc possible qu'il y ait des biais d'assignation liés à l'hétérogénéité de l'échantillonnage. Pourtant, que l'on applique aux modèles des priors égaux ou tenant compte de l'hétérogénéité des effectifs par bassins, les résultats ne diffèrent pas significativement. Dans la seule étude utilisant la forme de l'otolithe sur le saumon atlantique (Friedland and Reddin, 1994), la base de données utilisée était également très hétérogène et l'assignation d'une origine géographique par la forme de l'otolithe à une échelle bassins hydrographiques s'est révélée également relativement moyenne avec seulement 69% de reclassement correct en moyenne.

D'après Randon *et al.* (2020), les otolithes pourraient ne pas avoir la même forme d'une année de capture sur l'autre. Or les otolithes utilisés pour créer les bases modèles et ceux utilisés pour son application ne sont pas issus des mêmes années. Cela pourrait donc être une des causes des écarts constatés entre la base modèle et son application.

Enfin, récemment des travaux ont été menés sur des espèces marines afin d'évaluer l'utilisation de la forme et de ses limites (Mahé, 2020). Parmi les résultats, on peut noter que :

- Les espèces pélagiques auraient des otolithes de plus petite taille que les espèces démersales ou benthiques, et la variabilité de forme de leurs otolithes serait plus importante et plus complexe. Ces espèces pourraient donc présenter une plus grande variabilité intra-population limitant le pouvoir de discrimination inter-population de la forme des otolithes. Dans notre cas, les faibles effectifs utilisés dans les bases modèles pourraient, par conséquent, ne pas couvrir la variabilité intra-groupe réelle de chacune des origines géographiques.
- La discrimination de populations repose sur la classification des individus en groupes qui maximise la variabilité intergroupes par rapport à la variabilité intra-groupe. La variabilité intra-individu est influencée par des facteurs environnementaux et ontogéniques et à leurs interactions. Au niveau intra-

groupe, il faut ajouter à ces sources de variabilité liée à la composante génétique. Il est suggéré que la forme des otolithes est façonnée à la fois de façon synergique ou antagoniste par les facteurs environnementaux et génétiques (Cardinale et al., 2004). Les effets de l'environnement agissent au niveau général sur la forme de l'otolithe alors que les effets génétiques interviennent de façon plus localisés. Les interactions entre ces différents facteurs vont par suite conditionner le degré de discrimination au niveau inter-populations. On ne peut donc pas exclure le rôle important des facteurs génétiques comme facteurs confondants dans notre étude, en particuliers pour le bassin Garonne-Dordogne qui a été restauré avec des souches Allier et Adour. D'autre part, le Rhin supérieur est en cours de restauration à partir de la souche Allier, ce qui pourrait être à l'origine de confusion dans l'assignation entre ces deux bassins. Par contre, c'est plus difficile de trouver une explication logique avec le Finistère, la Normandie et la Galice.

- Il est nécessaire de prendre en compte l'échelle temporelle pour évaluer la variabilité intra-population car elle intègre des effets comme celui de la cohorte ou des changements des conditions environnementales. L'effet année pourrait en particuliers jouer un rôle dans la variabilité inter-population chez le saumon bien que Friedland and Reddin (1994) n'aient pas observé une telle influence sur la forme de l'otolithe.

4.4.2 – Assignation par la forme et assignation microchimique

La deuxième approche pour vérifier l'efficacité de la réassignation d'une origine géographique via la forme de l'otolithe a consisté dans l'analyse de la microchimie de lots d'otolithes sélectionnés dans 3 bassins (Adour, Dordogne et Garonne) et leur assignation à une origine géographique grâce au modèle biostatistique de type analyse discriminante avec Random Forest développé préalablement (Bareille et al., 2013-2017 – projet CARPOMIBA).

Brièvement, ce modèle a été établi pour discriminer le bassin hydrographique d'origine (« modèle bassins ») de saumons capturés dans le bassin de l'Adour. Il est basé sur un peu moins de 500 otolithes d'individus juvéniles ou adultes (Figure 14). Les individus adultes retenus dans la base de données correspondent exclusivement à des poissons pour lesquels la signature chimique de l'otolithe était conforme à celle de la rivière de capture (signature caractérisée sur la base de prélèvements et d'analyses d'eaux).

- 202 otolithes de juvéniles du bassin de l'Adour (12 rivières différentes),
- 8 juvéniles de la Nivelle,
- 50 otolithes d'adultes de 4 rivières de Galice (Ulla, Mhno, Tambre, Lerez),
- 19 otolithes d'adultes de 2 rivières des Asturies (Sella, Deva-Carres),
- 18 otolithes d'adultes de la Bidassoa,
- 43 otolithes d'adultes du sous-bassin de la Garonne,
- 38 otolithes d'adultes du sous-bassin de la Dordogne,
- 49 otolithes de juvéniles (Allier sauvage) et d'adultes du sous-bassin de l'Allier,

- 58 otolithes d'adultes de 6 rivières du Finistère Sud (Ellé, Odet, Scorff, Blavet, Aven, Jet).

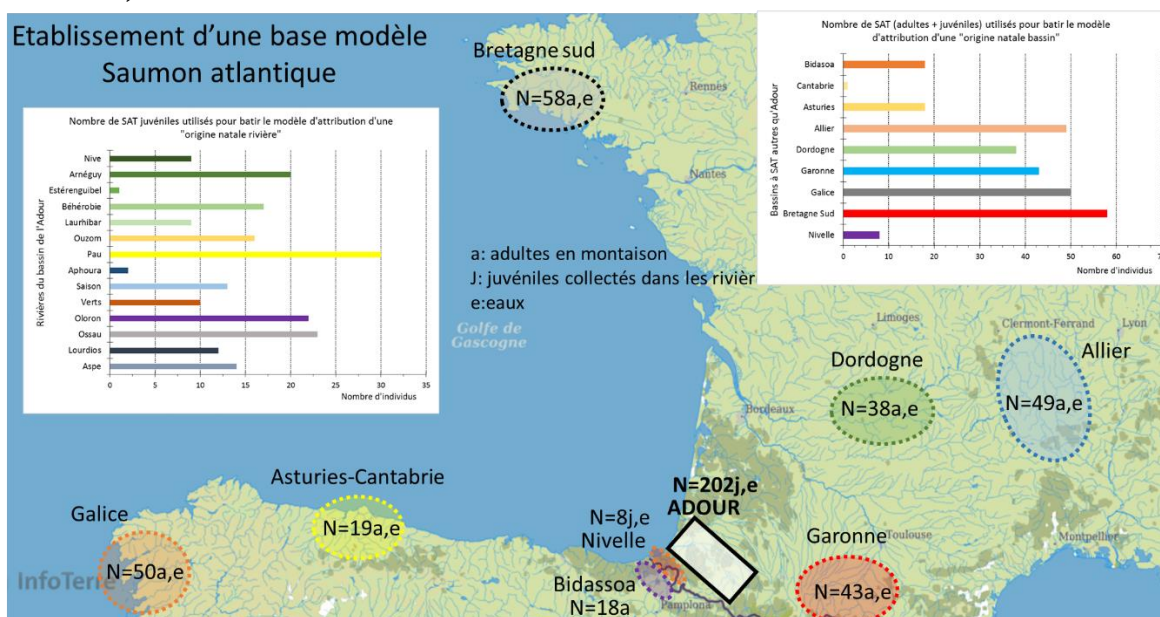


Figure 14 : Localisation des différents bassins hydrographiques échantillonnés et effectifs de saumons collectés pour établir le « modèle bassins ».

La base de donnée microchimie est en constante évolution, avec dans les semaines à venir l'ajout d'otolithes de juvéniles de 4 rivières normandes (Couesnon, Sélune, Sée, Siennne) et d'adultes du Rhin supérieur (capture au piège d'Effezeim), ainsi que de quelques individus supplémentaires de l'Adour (juvéniles), de la Garonne, de la Dordogne, de l'Allier et de rivières de Cantabrie (vagabonds collectés dans la Bidassoa et identifiés sur la base de marques nasales). Ces rivières ont d'ailleurs fait l'objet d'une caractérisation de la signature chimique des eaux en Sr :Ca, Ba :Ca et $^{87}\text{Sr} : ^{86}\text{Sr}$ dans le cadre du présent projet.

Lors de l'élaboration du « modèle bassins » nous avons choisis de retenir un modèle permettant de discriminer 6 groupes avec un taux moyen de reclassement correct de 7% (Figure 15). Ces 6 groupes représentent des bassins hydrographiques spécifiques (Allier, Garonne, Nivelle) ou des groupes de bassins (Adour-Asturies, Bidassoa-Dordogne, Bretagne-Galice). Il est à signaler que parmi ces groupes de bassins toutes les rivières étudiées ne sont pas forcément confondues vis-à-vis de leurs signatures chimiques.

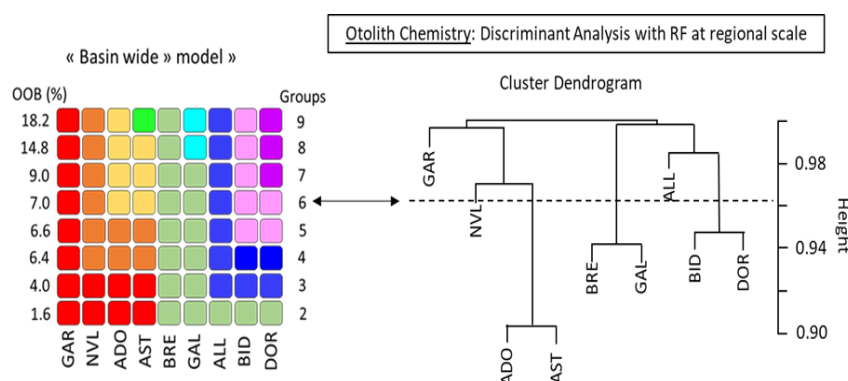


Figure 15: dendrogramme montrant les différents groupes de bassins discriminés en fonction du taux moyen de reclassement correct (gauche). Choix du modèle explicitant les 6 groupes discriminés pour un taux moyen de bon reclassement de 7% (droite).

Pour le modèle choisi, On peut noter que le bassin de l'Adour est bien discriminé de la plupart des autres bassins hydrographiques français colonisés par le saumon (Nivelle, Garonne, Dordogne, Allier et Finistère Sud), ainsi que les bassins de la Bidasoa et de la Galice. Il est cependant difficilement différenciable de deux rivières des Asturies (Deva-Cares, Sella) situé au Nord-Ouest de l'Espagne.

Les performances du « modèle bassins » (Tableau 10) sont relativement bonnes pour le groupe Adour-Asturies avec >97% des individus correctement reclassés dans leur groupe d'origine. Seulement 3% des individus de ce groupe sont attribués à des bassins dont ils ne sont pas originaires (Bidasoa-Dordogne : 0.5% et Garonne : 2%).

Le taux de reclassement correct est en général élevé pour l'ensemble des autres bassins ou groupes de bassins, variant de 75% pour la Nivelle à 93.5% pour le groupe Bidasoa-Dordogne. Le taux de mauvaise attribution reste donc <10% pour les groupes Bidasoa-Dordogne (BD : 7.5%) et Bretagne-Galice (BG : 6.5%), mais >14% pour l'Allier (14.3%), la Garonne (18.6%) et la Nivelle (25%). Pour ces deux derniers bassins, les erreurs de reclassement se font principalement avec le groupe Adour-Asturies, ce qui signifie que la contribution Adour pourrait être surestimée lors de mauvaise attribution de saumons de la Nivelle ou de la Garonne principalement. Pour l'Allier les erreurs de reclassement se produisent avec les bassins Bidasoa-Dordogne et Bretagne Galice essentiellement.

Bassin hydrographique d'origine	Individus (nombre)	% d'individus attribué à chaque groupe de bassins par le modèle					
		AA	AL	BD	BG	G	N
Adour - Asturies (AA)	220	97.3%		0.5%		1.8%	
Allier (AL)	49		85.7%	6.1%	8.2%		
Bidasoa - Dordogne (BD)	67	1.5%	1.5%	92.5%	3.0%		1.5%
Bretagne - Galice (BG)	108	1.9%	2.8%		93.5%	1.9%	
Garonne (G)	43	16.3%			2.3%	81.4%	
Nivelle (N)	8	25.0%					75.0%

	% de poissons correctement reclassés
	% de poissons attribués de façon erroné à d'autres bassins

Tableau 10 : performance du « modèle bassins » en termes de % de reclassement correct (en gris) des individus dans leur groupe bassin d'origine et de mauvaise attribution à un autre bassin (en jaune).

C'est ce modèle qui a été appliqué sur les individus sélectionnés dans le bassin de l'Adour, la Garonne et la Dordogne pour vérifier les assignations obtenues via les modèles « forme de l'otolithe » D et G. Les modèles « microchimie » et « forme » ne comportent cependant pas le même nombre de sources géographiques ; en effet, les otolithes des individus des rivières de Normandie et du Rhin ont été récupérés relativement récemment, aussi les photos des otolithes ont pu être réalisées rapidement mais pas les analyses microchimiques (analyses terminées juste avant la fin d'année 2021). D'autre part, la résolution spatiale du modèle microchimie est plus restreinte (6 groupes) contre 11 pour la forme. Par conséquent, nous avons seulement tester l'hypothèse d'un taux de fidélité élevé au bassin de capture dans un premier temps. Par suite, les assignations obtenues par la « forme de l'otolithe » et la « microchimie » ont été regroupées en 3 sous-groupes, les individus assignés à leur bassin de capture, les individus vagabonds (sans distinction d'origine) et les individus pour lesquels la probabilité d'assignation par l'une ou les deux méthodes était <0.70. Nous avons en effet décidé

de prendre le seuil de probabilité de 70% comme limite permettant de retenir une assignation ou de décider qu'un individu serait non assigné (n.d.).

196 otolithes (D ou G) de saumons adultes capturés en 2016 et 2017 dans le bassin de l'Adour ont ainsi été analysés en microchimie. En raison d'otolithes cassés ou vatéritiques, seulement 152 D et 145 G ont pu être analysés pour leur forme (Tableau 11).

18 et 33 otolithes de saumons adultes capturés respectivement dans la Garonne et la Dordogne ont été analysés en microchimie. 12 D et 17 G pour la Garonne et 25 D et 28 G ont pu être retenus pour l'analyse de forme (Tableau 11).

Le nombre d'individus assignés aux 3 groupes, bassin de capture (« homing »), vagabond (« straying ») et non assigné (n.d. car $p < 0.7$), par les 3 modèles « forme D », « forme G » et « microchimie » sont présentés dans le tableau 11 pour les 3 bassins Adour, Garonne et Dordogne. Les % de « homing » et « straying » ont été calculés à partir du nombre d'individus assignés à une origine géographique (Nombre total N moins individus n.d.).

De forts taux de fidélité au bassin de capture (« homing ») sont retrouvés sur la base de l'assignation avec le modèle microchimie, 93% pour l'Adour, 100% pour la Dordogne et 94% pour la Garonne, en accord avec la littérature.

Sur ces mêmes individus, les deux modèles « forme » suggèrent à l'inverse de très variables taux de « straying » : 18-23% pour l'Adour contre 7% avec la microchimie ; 60-80% pour la Garonne contre 6% avec la microchimie ; enfin, 74-95% pour la Dordogne contre 0% avec la microchimie.

Tableau 11: nombre et % d'individus assignés comme fidèle à leur bassin de capture ou vagabonds à partir des 3 modèles otolithe « forme D », « forme G » et microchimie, dans les bassins Adour, Garonne et Dordogne.

Bassin de l'adour					
Otolithe Droit	"Forme"	Homing	Straying	n.d. ($p < 0.7$)	N
ADOUR	nombre	99	29	24	152
ADOUR	%	77	23	16	152
Otolithe Gauche	"Forme"	Homing	Straying	n.d. ($p < 0.7$)	N
ADOUR	nombre	113	24	8	145
ADOUR	%	82	18	6	145
Microchimie	"Chimie"	Homing	Straying	n.d. ($p < 0.7$)	N
ADOUR	nombre	172	13	11	196
ADOUR	%	93	7	6	196
Bassin de la Gironde					
Otolithe Droit	"Forme"	Homing	Straying	n.d. ($p < 0.7$)	N
DORDOGNE	nombre	1	21	3	25
DORDOGNE	%	5	95	12	25
GARONNE	nombre	2	8	2	12
GARONNE	%	20	80	17	12
Otolithe Gauche	"Forme"	Homing	Straying	n.d. ($p < 0.7$)	N
DORDOGNE	nombre	7	20	1	28
DORDOGNE	%	26	74	4	28
GARONNE	nombre	6	9	2	17
GARONNE	%	40	60	12	17
Microchimie	"Chimie"	Homing	Straying	n.d. ($p < 0.7$)	N
DORDOGNE	nombre	29	0	4	33
DORDOGNE	%	100	0	12	33
GARONNE	nombre	17	1	0	18
GARONNE	%	94	6	0	18

4.5 – Résumé et perspectives sur la « Forme des otolithes » D et G du saumon atlantique

Bien que l'analyse de forme de l'otolithe du saumon atlantique identifie des groupes distincts d'individus, les deux tests menés ci-avant, suggèrent sans ambiguïté, que les deux modèles « forme D et G » ne sont pas susceptibles de fournir en l'état des assignations géographiques suffisamment fiables. C'est surtout le cas pour des bassins dont les effectifs ne sont suffisamment conséquents dans les bases modèles. Toutefois, même pour le bassin le plus représenté dans les bases de données, la forme de l'otolithe ne semble pas, à ce stade des investigations réalisées, aussi performante que la microchimie de l'otolithe. Par conséquent, l'efficacité d'assignation d'une origine géographique à des individus d'origine inconnue sur la base des deux modèles forme apparaît comme faible au regard de l'objectif initial qui était de remplacer la microchimie de l'otolithe par une méthode (la forme) plus rapide et moins onéreuse.

Il apparaît cependant nécessaire de poursuivre les recherches afin d'identifier quels sont les facteurs confondants à prendre en compte et quels types d'informations la forme peut nous apporter.

Aussi, d'autres pistes sont en cours d'exploration :

Nous envisageons de tester une base modèle plus restreinte en nombre de bassins mais avec des effectifs beaucoup plus conséquents pour chaque bassin afin d'évaluer si cela provient d'un défaut d'échantillonnage. Cette base intégrera tous les bassins pour lesquels nous disposons aujourd'hui de plus d'otolithes comme l'Adour, la Garonne, la Dordogne et l'Allier.

La vitesse de croissance joue à priori un rôle important sur la forme finale de l'otolithe (références in Mahé, 2020). Or, chez le saumon deux phénotypes semblent exister, des juvéniles à croissance rapide qui atteignent une taille seuil permettant la smoltification et le départ en mer dès l'âge-1⁺, et des juvéniles à croissance plus faible qui resteront une deuxième année en rivière avant de smoltifier et partir eux aussi grossir en mer (Age-2⁺). Nous examinerons si ces deux phénotypes influent sur la forme au stade adulte, et si cela peut constituer un facteur confondant au niveau des origines géographiques.

Comme nous l'avons dit précédemment, la forme de l'otolithe peut potentiellement fluctuer en fonction des années de vie des individus et donc des cohortes. Disposant d'une série chronologique importante sur le bassin de l'Adour, nous envisageons de tester le rôle des cohortes pour le saumon atlantique. Seront également testé des facteurs confondants croisés cohorte-phénotype.

Nous avons vu qu'il semble exister une asymétrie bilatérale au niveau de la forme des otolithes (différences de forme entre les otolithes D et G). Mahé (2021) a observé des différences dans le degré d'asymétrie en fonction de zones géographiques différentes. Nous quantifierons le degré d'asymétrie pour différentes catégories d'individus : origines géographiques différentes, origines natales différentes (pisciculture/reproduction naturelle), différents phénotypes afin de déterminer si l'asymétrie peut potentiellement aider à la discrimination d'individus en fonction de leur origine géographique, natale ou de leur phénotype.

Nous avons pris du retard dans l'élaboration d'un modèle « origine natale » en raison du Covid 19 qui ne nous a pas permis de récupérer des individus des piscicultures sur la Dordogne. Ce retard devrait être comblé durant l'année 2022. Dès que ce modèle sera disponible, nous pourrions tester si la forme permet de discriminer les différentes piscicultures utilisées pour restaurer les populations de saumons dans le Golfe de Gascogne.

Enfin, il nous reste à tester l'efficacité d'assignation par la forme à une échelle plus fine, c'est-à-dire à l'intérieur de bassins versants. Une analyse préliminaire a été conduite sur le bassin de l'Adour sur lequel le modèle d'assignation d'une origine par la microchimie de l'otolithe est disponible. Les résultats ne nous semblent à ce jour pas concluants non plus. Pour ce qui est du bassin Garonne-Dordogne, le modèle d'assignation d'une origine par la microchimie de l'otolithe est en cours de développement par approche analyse discriminante avec Random Forest, et devrait être opérationnel dans le courant de l'année 2022. Une analyse plus fine de la forme à l'échelle du bassin girondin sera alors possible.

Ces différents tests dépendent cependant de notre capacité à disposer de l'âge rivière de chaque individu (obtenu soit par lecture d'écaille et/ou par analyse microchimique), et de l'origine natale et géographique de ces individus (nécessitant les analyses microchimiques). L'analyse microchimique est particulièrement fastidieuse et demande du temps (disponibilité des machines, temps de traitement des données, développement des modèles d'assignation). Aussi, ces tests ne pourront pas être menés à bien à courte échéance, mais plutôt dans le temps imparti au projet ECOSAG.

5 – Résumé - conclusion:

Le projet scientifique ECOSAG, actuellement en cours de réalisation (2019-2024) sur les saumons atlantiques adultes de retour dans les bassins Adour, Gironde et Nivelle, a pour objectifs principaux (1) d'évaluer le rôle de la reproduction naturelle et des programmes de repeuplements sur les échanges et le renouvellement des populations de saumon atlantique en Nouvelle-Aquitaine et (2) de déterminer si certaines rivières-frayères de ces bassins et certaines stratégies de vie, contribuent avec une meilleure efficacité au retour de géniteurs. Pour répondre à ces objectifs, il était impératif de pouvoir disposer d'informations sur les origines natales (anadrome ou pisciculture) et géographiques (rivières de développement au stade juvénile) des saumons adultes de retour.

L'otolithe offre de multiples potentialités pour fournir des informations sur les origines (natale et géographique) et les traits de vies, paramètres essentiels pour aborder la connectivité entre populations aux échelles spatiales bassins, sous-bassins et rivières, et identifier différentes stratégies de vie au stade juvénile. Si la microchimie a déjà fait l'objet de développement sur l'otolithe du saumon atlantique (Martin et al., 2013 a, b ; Bareille et al., 2017), cette méthode est particulièrement fastidieuse à mettre en œuvre et assez onéreuse. Toutefois elle a été retenue comme outil principal d'investigations de l'origine natale et géographique dans l'attente d'une nouvelle approche plus rapide et moins onéreuse. La forme de l'otolithe a été utilisée sur des espèces marines pour discriminer différents stocks de poissons avec succès (Cf Thèse K. Mahé, 2020), mais elle restait à explorer sur des poissons anadromes comme le saumon atlantique

(Friedland and Reddin, 1994). Elle s'avère pourtant plus rapide à mettre en œuvre et est peu coûteuse (prise de photo et analyse avec des outils biostatistiques).

Dans le cadre du projet ECOSAG, une action scientifique a été programmée avec demande de financement à l'Office National de la Biodiversité (OFB) et la North Atlantic Salmon Conservation Organization (NASCO). Cette action ou Work Package 3 s'inscrit dans le contexte de la recherche d'une méthode rapide et peu coûteuse permettant d'évaluer l'origine des saumons adultes de retour. L'objectif de cette action était de tester la capacité de la forme de l'otolithe (otolith shape) à discriminer différentes origines de saumons de retour.

Il est admis aujourd'hui que la forme de l'otolithe résulte du contrôle de facteurs abiotiques et biotiques, du génotype des individus et de processus ontogéniques (cf la revue de littérature dans Mahé, 2020). Ces facteurs et processus peuvent agir de façon synergique ou antagoniste et donc largement influencer la forme finale de l'otolithe du saumon atlantique à l'âge adulte. En raison d'effets confondants potentiels, il a été nécessaire, dans un premier temps, de réaliser différents tests afin de définir quelles données étaient utilisables pour tenter d'assigner une origine géographique via la forme de l'otolithe.

Par suite, trois tests ont été menés afin de vérifier les effets des facteurs suivants sur la forme des otolithes du saumon atlantique: ontogénèse (juvénile/adulte), asymétrie bilatérale (gauche/droit) et présence de vatérite. Il s'avère que ces 3 facteurs peuvent présenter des effets confondants sur la discrimination de populations de saumon.

L'ontogénèse conduit à une différenciation bien marquée de la forme du saumon atlantique entre le stade juvénile et adulte. Toutefois, des différences géographiques observées au stade jeune semble persister au stade adulte.

L'otolithe du saumon atlantique présente une asymétrie bilatérale de forme (différence de forme entre otolithe droit et gauche). Cette asymétrie semble relativement variable et d'intensité différente selon l'origine géographique.

Enfin, la présence de vatérite conduit à une modification significative de la forme de l'otolithe. Il s'en suit que pour une même origine géographique un otolithe constitué uniquement d'aragonite (otolithe dit de cristallisation normale) aura une forme significativement différente d'un otolithe contenant de la vatérite (cristallisation anormale).

Ces 3 observations suggèrent qu'il n'est pas opportun, pour espérer discriminer une origine, d'utiliser simultanément des otolithes d'individus juvéniles et adultes (effets de l'ontogénèse), des otolithes droits et gauches (présence d'une asymétrie bilatérale) et des otolithes avec et sans vatérite. L'influence de ces 3 facteurs a eu pour conséquence une réduction significative des effectifs permettant de constituer les bases modèles de données dans notre cas, >56% d'otolithes G et >53% d'otolithes D.

Malgré des effectifs faibles au niveau des bases de données otolithe D (n=277) et otolithe G (n=229), répartis de façon très hétérogène dans 11 secteurs géographiques (Adour, Garonne, Dordogne, Nivelle, Allier, Bidassoa, Finistère, Normandie, Rhin, Asturies, Galice), nous avons tenté de développer 2 modèles d'assignation de l'origine géographique sur la base des descripteurs elliptiques de Fourier (EFD's) de la forme de l'otolithe via une analyse canonique discriminante (CDA). Cette analyse semblait différencier, en première approximation, les 11

origines géographiques distinctes avec des taux de reclassement correct élevés avec les deux otolithes D et G.

Toutefois, deux tests ont été réalisés afin de vérifier la véracité des assignations d'origine par la forme à partir d'otolithes d'individus d'origines inconnues collectés dans les bassins de l'Adour et de la Gironde (Garonne, Dordogne). Ces deux tests visaient à vérifier le postulat du fort taux de fidélité au bassin d'origine (« homing ») qui prévaut chez le saumon atlantique, 92-94% des individus issus de reproduction naturelle et 50-85% chez les individus issus de repeuplement (Jonsson *et al.*, 2003 ; Horreo *et al.*, 2012 ; Leunda *et al.*, 2013 ; Ford *et al.*, 2015 ; Jonsson et Jonsson, 2017). Le premier test était basé sur l'hypothèse qu'une très large majorité des saumons capturés sur un bassin était originaire de ce bassin. Le deuxième test a consisté à confronter les taux de « homing » et de « straying » (individus vagabonds) obtenus via la forme de l'otolithe à ceux évalués sur la base de la microchimie de l'otolithe.

Dans les deux cas, les résultats sont sans appel : les deux modèles « forme D et G » ne sont pas susceptibles de fournir en l'état des assignations géographiques à grande échelle spatiale suffisamment fiables pour des bassins dont les effectifs ne sont suffisamment conséquents dans les bases modèles. De plus, même pour le bassin le plus représenté dans les bases de données (Adour), la forme de l'otolithe n'est pas, à ce stade, aussi performante que la microchimie de l'otolithe. Enfin, une analyse préliminaire a été conduite sur le bassin de l'Adour tester l'efficacité d'assignation par la forme à une échelle plus fine, c'est-à-dire à l'intérieur de bassins versants, et là encore les résultats ne nous semblent pas concluants non plus.

Par conséquent, l'assignation d'une origine géographique à des individus d'origine inconnue, sur la base des deux modèles forme développés dans ce travail, apparaît comme très incertaine en l'état. Au regard de l'objectif initial qui était de remplacer la microchimie de l'otolithe par une méthode (la forme) plus rapide et moins onéreuse, d'autres investigations sont à mener pour résoudre l'incohérence observée entre les modèles D et G et leur application à des individus d'origines inconnues.

Il apparaît essentiel d'identifier quels sont les facteurs confondants à prendre en compte et quels types d'informations la forme serait en capacité de nous apporter, plus particulièrement en complément de la microchimie de l'otolithe pour, pourquoi pas, résoudre des situations insolubles avec ce dernier outil (rivières de mêmes signatures chimiques). Quelques pistes à explorer sont en particuliers : l'hétérogénéité de l'échantillonnage, le rôle des phénotypes caractérisés par des croissances variables des otolithes (âge-1⁺ vs âge-2⁺), le rôle des cohortes (différence de forme suivant les années), le rôle de l'origine natale de pisciculture ou de reproduction naturelle, et enfin, dans quelle mesure l'asymétrie pourrait potentiellement aider à la discrimination d'individus en fonction de leur origine géographique, natale ou de leur phénotype.

6 - Références:

- Afanasyev P. K., A. M. Orlov, and A. Yu. Rolsky, 2017. Otolith Shape Analysis as a Tool for Species Identification and Studying the Population Structure of Different Fish Species. *Biology Bulletin*, 2017, Vol. 44, No. 8, pp. 952–959.
- Aprahamian, M. W., Davidson, I. C. & Cove, R. J. (2008). Life history changes in Atlantic salmon from the River Dee, Wales. *Hydrobiologia* 602, 61-78
- Bareille, G., Holub, A., Vignon, M., Tabouret, H., Pécheyran, C., Bérail, S., Barracou, D., Dartau, B., Marty, S., Picoulet, K. (2017). Contribution de l'Alevinage et des Rivières pyrénéennes au retour de POissons Migrateurs (saumon, alose) dans le Bassin de l'Adour et la Nivelle : application et amélioration de l'outil microchimie des otolithes (CARPOMIBA). *Rapport final d'étude : AEAG* (N° : 240 64 2157 / Décision d'attribution d'aide 2013/6232), Octobre 2017, 64p.
- Barnett-Johnson, R., Pearson, T. E., Ramos, F. C., Grimes, C. B. & Bruce MacFarlane, R. (2008). Tracking natal origins of salmon using isotopes, otoliths, and landscape geology. *Limnology and Oceanography* 53, 1633-1642.
- Barnett-Johnson, R., Teel, D.J. & Casillas, E., 2010. Genetic and otolith isotopic markers identify salmon populations in the Columbia River at broad and fine geographic scales. *Environmental Biology of Fishes*, 89(3), pp.533–546.
- Bowen II C.A., Bronte C. R., Argyle R., L., Adams V., Johnson J. E., 1999. Vateritic sagitta in wild and stocked lake trout: Applicability to stock origin. *Transactions of the American Fisheries Society*, 128: 929-938.
- Bradbury I. R., L. C. Hamilton, M. J. Robertson, C. E. Bourgeois, A. Mansour, and J. B. Dempson, 2013. Landscape structure and climatic variation determine Atlantic salmon genetic connectivity in the Northwest Atlantic. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 71: 246–258 (2014) [dx.doi.org/10.1139/cjfas-2013-0240](https://doi.org/10.1139/cjfas-2013-0240)
- 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.
- Burke, N., Brophy, D., and King, P. A. 2008. Otolith shape analysis: its application for discriminating between stocks of Irish Sea and Celtic Sea herring (*Clupea harengus*) in the Irish Sea. *ICES Journal of Marine Science*, 65: 1670–1675.
- Campana, S. E. (1999). Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology-Progress Series* 188, 263-297.
- Campana, S. E. (2005). Otolith science entering the 21st century. *Marine and Freshwater Research*, 56, 485–495.
- Campana, S.E. & Thorrold, S.R., 2001. Otoliths, increments, and elements: keys to a comprehensive understanding of fish populations? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58(1), pp.30–38.
- Campana SE, Casselman JL (1993) Stock discrimination using otolith shape analysis. *Can. J Fish Aquat. Sci.* 50:1062–1083.
- Capoccioni, Fabrizio, Corrado Costa, Jacopo Aguzzi, Paolo Menesatti, Antoni Lombarte, et Eleonora Ciccotti. 2011. « Ontogenetic and Environmental Effects on Otolith Shape Variability in Three Mediterranean European Eel (*Anguilla Anguilla*, L.) Local Stocks ». *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 397 (1): 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2010.11.011>.
- Cardinale, M, P Doering-Arjes, M Kastowsky, et H Mosegaard. 2004. « Effects of Sex, Stock, and Environment on the Shape of Known-Age Atlantic Cod (*Gadus Morhua*) Otoliths ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 61 (2): 158-67. <https://doi.org/10.1139/f03-151>.

- Carlson, S.M., Cunningham, C.J., Westley, P.A. (2014). Evolutionary rescue in a changing world. *Trends in Ecology & Evolution*, 29: 521-530.
- Clarke, A. D., Telmer, K. H. & Shrimpton, J. M. (2007). Using natural elemental signatures to determine habitat use and population structure for a fluvial species, the Arctic grayling, in a watershed impacted by a large reservoir. *Journal of Applied Ecology* 44, 1156 – 1165. doi: 10.1111/j.1365-2664.2007.01350.x
- Dionne, M., Caron, F., Dodson, J., and Bernatchez, L. 2009. Comparative survey of within-river genetic structure in Atlantic salmon; relevance for management and conservation. *Conserv. Genet.* 10(4): 869–879. doi:10.1007/s10592-008-9647-5.
- Dumas J., Prouzet P., 2003. Variability of demographic parameters and population dynamics of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in a southwest French river. *ICES Journal of Marine Science*, 60, 356-370.
- Ferguson GJ, Ward TM, Gillanders BM, 2011. Otolith shape and elemental composition: Complementary tools for stock discrimination of Mulloway (*Argyrosomus japonicus*) in Southern Australia. *Fish Res.* 2011, 110: 75-83. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2011.03.014>
- Ford M.J., Murdoch A. and Hughes M., 2015. Using parentage analysis to estimate rates of straying and homing in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Molecular Ecology*, 24: 1109-1121.
- Friendland, K. D., & Reddin, D. G. (1994). Use of otolith morphology in stock discrimination of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 51, 91–98.
- Griffiths, A.M., Machado-Schiaffino, G., Dillane, E., Coughlan, J., Horreo, J.L., Bowkett, A.E., Minting, P., Toms, S., Roche, W., Gargan, P., McGinnity, P., Cross, T., Bright, D., Garcia-Vazquez, E., and Stevens, J.R. 2010. Genetic stock identification of Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations in the southern part of the European range. *BMC Genet.* 11(1): 31. doi:10.1186/1471-2156-11-31. PMID:20429926
- Hanski I., 1998. Metapopulation dynamics. *Nature*, 396: 41-49.
- Iwata, H. 2002. « SHAPE: A Computer Program Package for Quantitative Evaluation of Biological Shapes Based on Elliptic Fourier Descriptors ». *Journal of Heredity* 93 (5): 384-85. <https://doi.org/10.1093/jhered/93.5.384>.
- Kennedy, B. P., Blum, J. D., Folt, C. L. & Nislow, K. H. (2000). Using natural strontium isotopic signatures as fish markers: Methodology and application. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57, 2280-2292.
- Koeberle, Alex L., Ivan Arismendi, Whitney Crittenden, David Leer, et David L. G. Noakes. 2019. « Fluctuating Asymmetry of Adult Chinook Salmon (*Oncorhynchus Tshawytscha*) Otoliths from Wild and Hatchery Origins ». *Aquatic Ecology* 54 (1): 431-46. <https://doi.org/10.1007/s10452-019-09733-0>.
- Koeberle, Alex L., Ivan Arismendi, Whitney Crittenden, David Leer, et David L. G. Noakes.. 2020. « Fluctuating Asymmetry of Adult Chinook Salmon (*Oncorhynchus Tshawytscha*) Otoliths from Wild and Hatchery Origins ». *Aquatic Ecology* 54 (1): 431-46. <https://doi.org/10.1007/s10452-019-09733-0>.
- Horreo J.L., Machado-Schiaffino G., Ayllon F., Griffiths A.M., Bright D., Stevens J.R., Garcia-Vazquez E., 2011. Impact of climate change and human-mediated introgression on southern European Atlantic salmon populations. *Global Change Biology*, 17: 1778-1787.
- Horreo J.L., De la Hoz J., Gonzalez Pola I., Machado-Schiaffino G., Garcia-Vazquez E., 2012. Ecological and economic costs of supportive breeding: Atlantic salmon (*Salmo salar*) as a case study. *Aquaculture*, 356-357: 1-6.
- Hüssy, K. 2008. « Otolith Shape in Juvenile Cod (*Gadus Morhua*): Ontogenetic and Environmental Effects ». *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 364 (1): 35-41. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2008.06.026>.
- Jonsson B., Jonsson N. & Hansen L.P. (2003) Atlantic salmon straying from the River Imsa. *Journal of Fish Biology* 62, 641–657.

- Jonsson B. and Jonsson N., 2017. Maternal inheritance influences homing and growth of hybrid offspring between wild and farmed Atlantic salmon. *Aquaculture Environment Interactions*, 9: 231-238.
- Juanes, F., Letcher, B. H. & Gries, G. (2000). Ecology of stream fish: insights gained from an individual-based approach to juvenile Atlantic salmon. *Ecology of Freshwater Fish* 9, 65–73.
- Leunda P.M., Ardaiz J., Russell I.C., Toms S., Hillman R., 2013. Homing and straying of Atlantic salmon in the Bidassoa River: report of an unusual stray from Great Britain to the Iberian Peninsula. *Fisheries Management and Ecology*, 20: 460-463.
- Loewen T.N., B. Carriere, J.D. Reist, N.M. Halden, W.G. Anderson, 2016. Linking physiology and biomineralization processes to ecological inferences on the life history of fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 202 (2016) 123–140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.06.017>
- Marklevitz S.A.C., Fryer B.J., Johnson J., Gonder D., Morbey Y.E., 2016. Otolith microchemistry reveals spatio-temporal heterogeneity of natal sources and inter-basin migrations of Chinook salmon in Lake Huron. *Journal of Great Lakes Research* 42 (2016) 668–677
- Mahé, K., Evano, H., Mille, T., Muths, D., and Bourjea, J. 2016. Otolith shape as a valuable tool to evaluate the stock structure of swordfish *Xiphias gladius* in the Indian Ocean. *African Journal of Marine Science*, 38: 457–464.
- Mahé, K., Ider, D., Massaro, A., Hamed, O., Jurado-Ruzafa, A., Gonçalves, P., Anastasopoulou, A., Jadaud, A., Mytilineou, C., Elleboode, R., Ramdane, Z., Bacha, M., Amara, R., de Pontual, H., Ernande, B., 2018. Directional bilateral asymmetry in otolith morphology may affect fish stock discrimination based on otolith shape analysis. *ICES J. Mar. Sci.* 76 (1), 232–243. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsy163>.
- Mahé K., 2020. Sources de variation de la forme des otolithes: implications pour la discrimination des stocks de poissons. *Ecologie, Environnement*. Université du Littoral côte d'Opale, 2010.
- Mapp J., Ewan Hunter E., Van Der Kooij J., Songer S., Fisher M., 2017. Otolith shape and size: The importance of age when determining indices for fish-stock separation. *Fisheries Research*, 190: 43-52.
- Martin J., 2013. Développement de la microchimie élémentaire (Sr, Ba) et isotopique ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) des otolithes de saumons Atlantique: évaluation du potentiel pour un appui à la gestion piscicole dans le bassin de l'Adour. PhD thesis, Université de Pau, spécialité Environnement et Matériaux
- Martin J., Bareille G., Berail S., Daverat F., Pécheyran C., Bru N., Tabouret H., Donard O.F.X., 2013a. Spatial and temporal variations in otolith chemistry and relationships with water chemistry: a useful tool to distinguish Atlantic salmon parr from different natal streams. *Journal of Fish Biology*, 82 : 1556–1581.
- Martin J., Bareille G., Berail S., Pécheyran C., Gueraud F., Lange F., Daverat F., Bru N., Beall E., Barracou D., Donard O., 2013b. 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.
- Martin J., Quentin Rougemont Q., Drouineau H., Launey S., Jatteau P., Bareille G., Berail S., Pécheyran C., Feunteun E., Roques S., Clavé D., Nachón D.J., Antunes C., Mota M., Réveillac E. and Daverat F., 2015. Dispersal capacities of anadromous Allis shad population inferred from a couple genetic and otolith approach. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 72: 1-13. dx.doi.org/10.1139/cjfas-2014-0510.
- Mille T., 2015. Sources de variation intra-populationnelle de la morphologie des otolithes: asymétrie directionnelle et régime alimentaire. PhD Thesis, Université de Lille 1 – Sciences et technologie.
- Morais P. and Daverat F., 2016. *An Introduction to Fish Migration*. CRC Press -Taylor and Francis Group.
- McCulloch, M., Cappel, M., Aumend, J., Müller, W., 2005. Tracing the life history of individual barramundi using laser ablation MC-ICP-MS Sr-isotopic and Sr/Ba ratios in otoliths. *Marine and Freshwater Research* 56: 637-644.

- Morat F, Gibert P, Reynaud N, et al., 2017. Spatial distribution, total length frequencies and otolith morphometry as tools to analyse the effects of a flash flood on populations of roach (*Rutilus rutilus*). *Ecol Freshw Fish*. 2017;00:1–12. <https://doi.org/10.1111/eff.12357>.
- Morat. 2007. « Discrimination multi-échelle de populations locales de deux espèces de rougets : *Mullus barbatus* et *M. surmuletus* par analyse de forme des otolithes ». Master recherche, Université de méditerranée Aix Marseille II.
- Morat et al. 2008. What can otolith examination tell us about the level of perturbations of Salmonid fish from the Kerguelen Islands? *Ecology of Freshwater fish*, 17(4): 617-627. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0633.2008.00313x>
- Morat, Fabien, Yves Letourneur, David Nérini, Daniela Banaru, et Ioannis E. Batjakas. 2012. « Discrimination of Red Mullet Populations (Teleostean, Mullidae) along Multi-Spatial and Ontogenetic Scales within the Mediterranean Basin on the Basis of Otolith Shape Analysis ». *Aquatic Living Resources* 25 (1): 27-39. <https://doi.org/10.1051/alr/2011151>.
- Muhlfeld C. C., S. R. Thorrold, T. E. McMahon, and B. Marotz, 2012. Estimating westslope cutthroat trout (*Oncorhynchus clarkii lewisi*) movements in a river network using strontium isoscapes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 69: 906–915 (2012) doi:10.1139/F2012-033
- Nachón-García D.-J., Bareille G., Drouineau H., Tabouret H., Taverny C., Boisneau C., Beraïl S., Pécheyran C., Claverie F. and Daverat F., 2019. 80's population-specific compositions of two related anadromous shad species during the oceanic phase determined by microchemistry of archived otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, in press
- Oxman, Dion S, Rachel Barnett-Johnson, Michael E Smith, Allison Coffin, Diane L Miller, Ron Josephson, et Arthur N Popper. 2007. « The Effect of Vaterite Deposition on Sound Reception, Otolith Morphology, and Inner Ear Sensory Epithelia in Hatchery-Reared Chinook Salmon (*Oncorhynchus Tshawytscha*) ». *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 64 (11): 1469-78. <https://doi.org/10.1139/f07-106>.
- Padilla A. J., R. J. Brown, and M. J. Wooller, 2015. Strontium isotope analyses ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) of otoliths from anadromous Bering cisco (*Coregonus laurettae*) to determine stock composition. *ICES Journal of Marine Science* (2015), 72(7), 2110–2117. doi:10.1093/icesjms/fsv096
- Perrier C., 2010. Structure génétique des populations de saumon Atlantique en France. Thèse de l'Université de Caen.
- Perrier, C., Daverat, F., Evanno, G., Pécheyran, C., Bagliniere, J.L., and Roussel, J.M. 2011. Coupling genetic and otolith trace element analyses to identify river-born fish with hatchery pedigrees in stocked Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 68(6): 977-987.
- Phillis C. C., Sturrock A. M., Johnson R. C., Weber P. K., 2018. Endangered winter-run Chinook salmon rely on diverse rearing habitats in a highly altered landscape. *Biological conservation* 217: 358-362.
- Ramsay, J. O., et B. W. Silverman. 2005. *Functional Data Analysis*. 2nd ed. Springer Series in Statistics. New York: Springer.
- Randon M., Daverat F., Bareille G., Jatteau P., Martin J., Pécheyran C., and Drouineau H., 2018. Quantifying exchanges of Allis shads between river catchments by combining otolith microchemistry and abundance indices in a Bayesian model. *ICES. J. Mar. Sci.* 75: 9–21. doi:10.1093/icesjms/fsx148.
- Randon, Marine, Olivier Le Pape, Bruno Ernande, Kélig Mahé, Filip A. M. Volckaert, Eric J. Petit, Gilles Lassalle, Thomas Le Berre, et Elodie Réveillac. 2020. « Complementarity and Discriminatory Power of Genotype and Otolith Shape in Describing the Fine-Scale Population Structure of an Exploited Fish, the Common Sole of the Eastern English Channel ». Édité par Johann Mourier. *PLOS ONE* 15 (11): e0241429. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241429>.
- Reimer, Tormey, Tim Dempster, Anna Wargelius, Per Gunnar Fjellidal, Tom Hansen, Kevin A. Glover, Monica F. Solberg, et Stephen E. Swearer. 2017. « Rapid Growth Causes Abnormal Vaterite Formation in Farmed Fish Otoliths ». *The Journal of Experimental Biology* 220 (16): 2965-69. <https://doi.org/10.1242/jeb.148056>.

- Rieman, B., Dunham, J. (2000). Metapopulations and salmonids: A synthesis of life history patterns and empirical observations. *Ecology of Freshwater Fish*, 9: 51-64.
- Rivot, E., Perrier, C., Jouanin, C., Roussel, J. M., Riera, P., Porcher, J. P. & Bagliniere, J. L. (2009). Climate Change May Have Affected Growth and Life History in Atlantic Salmon Juveniles over the Past 30 Years. Challenges for Diadromous Fishes in a Dynamic Global Environment 69, 855-857.
- Shrimpton J. M., K. D. Warren, N. L. Todd, C. J. McRae, G. J. Glova, K. H. Telmer and A. D. Clarke, 2014. Freshwater movement patterns by juvenile Pacific salmon *Oncorhynchus* spp. before they migrate to the ocean: Oh the places you'll go! *Journal of Fish Biology* (2014) 85, 987 – 1004. doi:10.1111/jfb.12468
- Sturrock, A. M., Trueman, C. N., Darnaude, A. M. & Hunter, E. (2012). Can otolith elemental chemistry retrospectively track migrations in fully marine fishes? *Journal of Fish Biology* **81**, 766-795.
- Sturrock A.M., Trueman C.N., Milton J.A., Waring C.P., Cooper M.J., Hunter E., 2014. Physiological influences can outweigh environmental signals in otolith microchemistry research. *Marine Ecology Progress series*, 500: 245-264.
- Sturrock, A.M., Wikert, J.D., Heyne, T., Mesick, C., Hubbard, A.E., Hinkelman, T.M., Weber, P.K., Whitman, G.E., Glessner, J.J., Johnson, R.C., 2015. Reconstructing the migratory behavior and long-term survivorship of juvenile Chinook salmon under contrasting hydrologic regimes. *PLoS One* 10, e0122380.
- Tabouret H., Bareille G., Claverie F., Pécheyran C., Prouzet P. and Donard O.F.X., 2010. Simultaneous use of strontium :calcium and barium :calcium as markers of European eel (*Anguilla anguilla*) habitats in the Adour Estuary. *Marine Environmental Research*, 70: 35-45.
- Tuset, M., Lazano, I. J., Gonzalez, J. A., Pertusa, J. F., & Garcia-Diaz, M. M. (2003). Shape indices to identify regional differences in otolith morphology of comber, *Serranus cabrilla* (L., 1758). *Journal of Applied Ichthyology*, 19, 88–93.
- Vignon, M., & Morat, F. (2010). Environmental and genetic determinant of otolith shape revealed by a non-indigenous tropical fish. *Marine Ecology Progress Series*, 411, 231–241.
- Vignon, M., F. Morat, R. Galzin, et P. Sasal. 2008. « Evidence for Spatial Limitation of the Bluestripe Snapper *Lutjanus Kasmira* in French Polynesia from Parasite and Otolith Shape Analysis ». *Journal of Fish Biology* 73 (10): 2305-20. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2008.02070.x>.
- Vignon M., 2012. Ontogenic trajectories of otolith shape during shift in habitat use: Interaction between otolith growth and environment. *J. Exp. Marine Biol. Ecol.*, 420-421:26-32
- Vignon M., 2015. Disentangling and quantifying sources of otolith shape variation across multiple scales using new hierarchical approach. *Marine Ecology Progress Series*, 534: 163-177.
- Walther, B.D. & Limburg, K.E., 2012. The use of otolith chemistry to characterize diadromous migrations. *Journal of Fish Biology*, 81(2), pp.796–825.
- Walther, B.D., Thorrold, S.R. & Olney, J.E., 2008. Geochemical Signatures in Otoliths Record Natal Origins of American Shad. *Transactions of the American Fisheries Society*, 137(1), pp.57–69.
- Wells, B. K., Rieman, B. E., Clayton, J. L., Horan, D. L. & Jones, C. M. (2003). 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 freshwater. *Transactions of the American Fisheries Society* **132**, 409-424.
- Woodcock S.H., A.R. Munro, D.A. Crook, B.M. Gillanders, 2012. Incorporation of magnesium into fish otoliths: Determining contribution from water and diet. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 94 (2012) 12–21