

Outils Malacologiques

Différentes techniques de détermination de l'âge et du sexe des moules perlières, *Margaritifera margaritifera* (Linnaeus, 1758) (Mollusca, Bivalvia, Margaritiferidae)

Sylvain Vrignaud

48 bis, rue Félix Mathé, 03000 Moulins
vrignaud.sylvain@free.fr

Résumé — *Margaritifera margaritifera* est une espèce très sensible aux perturbations de son milieu notamment au stade juvénile. Dans une optique de gestion conservatrice des populations, il est nécessaire de déterminer les différentes classes d'âges qui y sont présentes. Or, les stries directement observables sur les coquilles peuvent difficilement renseigner sur l'âge des individus. Des méthodes plus élaborées sont donc présentées afin de déterminer précisément l'âge des moules. Par ailleurs, des techniques pour sexer les individus sont de même proposées. Au final, il est possible de déterminer la structure en classes d'âges en fonction du sexe dans une population donnée.

Introduction

Pour juger de l'état d'une population de moules perlières, *Margaritifera margaritifera* (Linnaeus, 1758), il est important d'évaluer les différentes classes d'âges. En effet, l'impact direct des pollutions sur la dynamique des populations de mulettes a été mis en évidence, notamment en Allemagne et dans les îles britanniques (Bauer 1987, 1988, Young 1991, Buddensiek 1995). Si les moules adultes peuvent tolérer la détérioration de la qualité de l'eau pendant une période assez longue, ce n'est pas le cas pendant les autres phases du cycle de développement : la période de reproduction, la phase parasitaire sur le poisson hôte et pendant les premières années des jeunes moules (Groh 2000). Ce dernier stade est effectivement plus sensible à la qualité de l'eau ou du substrat ainsi qu'à la disponibilité, qualitative et quantitative, en ressource alimentaire (Kinet & Libois 1999).

Étant donné la sensibilité de la moule perlière lors de sa reproduction et de son stade juvénile, l'observation d'adultes ne révèle pas pour autant le bon état de la population, c'est-à-dire sa viabilité à moyen ou à long terme. Il convient donc de vérifier la présence de jeunes dans la population, indice de reproduction récente. En effet, après la phase parasitaire, les jeunes moules s'enfouissent dans les sédiments et ne réapparaissent à la surface du banc de sable que 4 à 5 années plus tard, voire plus, mesurant alors environ 2 à 3 cm (Quere 1998, Groh 2000). Ainsi, lorsque des individus de petite taille (4 à 5 cm) sont découverts, G. Cochet (com. pers.) considère qu'il existe une reproduction récente et que les jeunes sont probablement capables de survivre. La maturité sexuelle intervient après environ 15 à 20 années. En fonction de la température, les moules perlières peuvent vivre au moins 30 ans (données pour l'Espagne), mais plus classiquement entre 70 et 140 ans. Les animaux restent fertiles tout au long de leur vie adulte (G. Cochet, comm. pers.). Dans les populations de la vallée de l'Our moyenne (à la frontière entre l'Allemagne et le Luxembourg), les moules atteignent seulement un âge de 55 à 65 ans, conséquence de l'impact des températures estivales relativement élevées sur l'épitépion (zone supérieure des rivières paléarctiques planitiaires) (Groh 2000).

Le constat de l'absence de jeunes et/ou d'un taux élevé d'hermaphroditisme dans une population, conséquence d'une faible densité en individus (Bauer 1987), met en évidence un problème au niveau de la santé de la population. L'objectif de cet article est de présenter différentes méthodes qui permettent d'estimer l'âge des individus à partir des valves, ou du ligament, ainsi que leur sexe. Cette étape est un préalable nécessaire pour établir la structure de la

population en termes de classes d'âges en fonction du sexe, ou une tendance vers l'hermaphroditisme, afin d'élaborer possiblement les mesures conservatoires nécessaires pour le maintien de ces populations dans leur milieu naturel.

Les méthodes exposées ci-après ne doivent pas s'appliquer sur des individus vivants. Le statut de conservation de l'espèce étant particulièrement préoccupant, le sacrifice d'individus est inutile et ne participerait pas à la préservation de l'espèce. Par ailleurs, *M. margaritifera* est une espèce protégée par la loi française par l'arrêté du 7 octobre 1992 publié au Journal Officiel du 24 novembre 1992.

Méthodes de détermination de l'âge des moules perlières

Il existe différentes méthodes de détermination de l'âge plus ou moins précises et plus ou moins faciles à mettre en œuvre. Elles sont toutes basées sur le comptage des stries de croissance annuelle visibles sur les valves ou sur le ligament. Th. Ekman en 1905 est l'un des premiers à étudier l'âge des moules perlières de Suède, à partir des stries d'accroissement des valves, et ce, en ôtant le périostacum grâce à une solution d'hypochlorite de sodium portée à ébullition. Puis Altnöder (1926) démontre que les stries de croissance sont effectivement annuelles.

En revanche, le comptage des stries d'accroissement sur la couche externe du périostacum ne permet que très difficilement la détermination de l'âge, car elles ne correspondent pas forcément à des stries annuelles (2 à 3 par an, K. Groh comm. pers.).

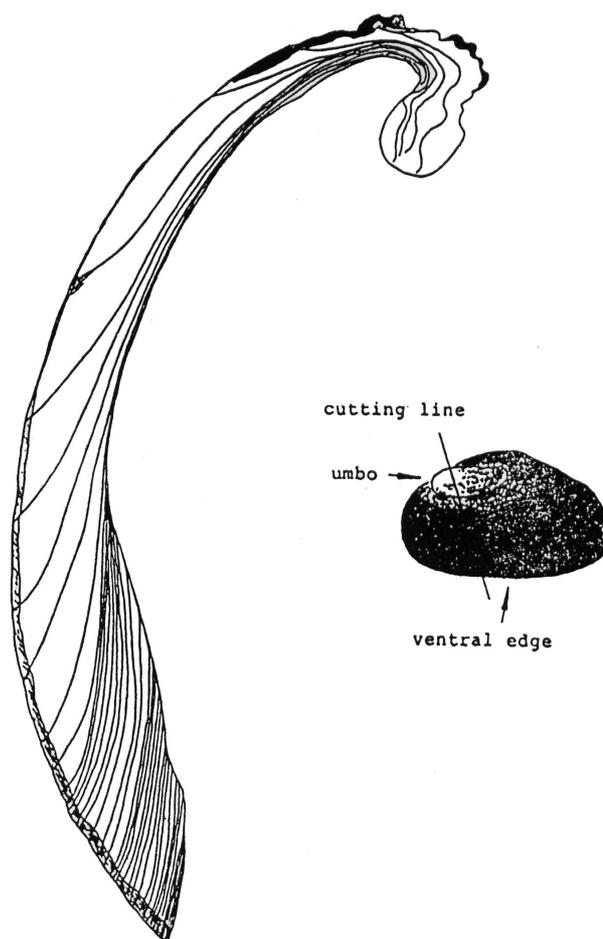


Figure 1 — D'après Timm (1994), *Unio crassus* d'environ 44 ans
A droite Valve et le plan de coupe (cutting line), A gauche Section transversale d'une valve (largeur maximale d'environ 4 mm)

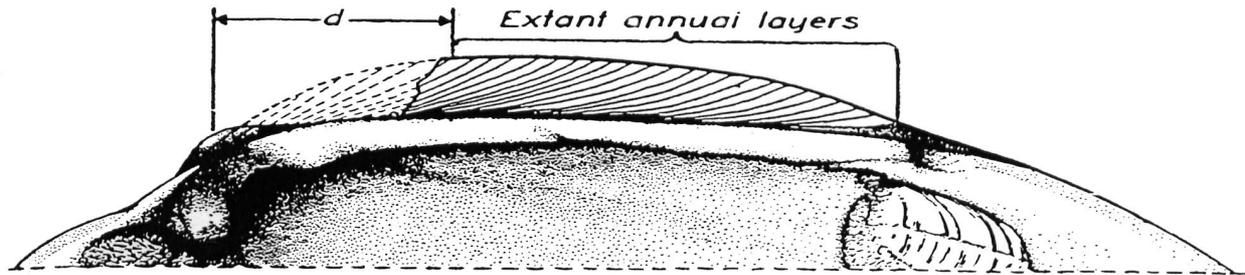


Figure 2 — D'après Hendelberg (1961), section du ligament d'une moule perlière.

La détermination de l'âge par comptage des stries du ligament donne dans ce cas 23 ans (se reporter au texte, étape 1). A partir du diagramme de croissance du ligament et de la distance d , on en déduit le nombre d'années correspondant à la partie érodée du ligament.

Coupe transversale des valves d'après Timm (1994)

L'estimation se fait directement par comptage des stries de croissance observées sur le bord latéral d'une coupe de valve de 0,6 mm de largeur (Figure 1). La coupe est mise pendant une heure dans un mélange, pour moitié, d'une solution à 25% de glutaraldéhyde et pour l'autre moitié d'une solution à 1% d'acide acétique, avec l'ajout de quelques gouttes de bleu Alcian. Les stries de croissance annuelles sont comptées à l'aide d'un microscope optique (Timm & Mutvei 1993).

Détermination de l'âge à partir du ligament

Méthode de Wellmann (1938)

Le ligament est scié longitudinalement puis plongé dans une solution de glycérine afin d'éviter la dessiccation et les craquelures qui peuvent en résulter. Les stries sont comptées au niveau de son plan médian. Les dernières stries annuelles des vieux spécimens sont très facilement visibles. Cependant, la partie antérieure du ligament des individus âgés est souvent détériorée par l'érosion, c'est-à-dire par l'action conjuguée de la chimie de l'eau et de l'usure par contact avec le substrat. En raison des erreurs possibles liées à cette abrasion du ligament, Wellmann a exclu de ses résultats les valeurs obtenues à partir de spécimens présentant une importante érosion de l'umbo (sommet des valves).

Amélioration de la méthode de Wellman par Hendelberg (1961)

Hendelberg s'est basé comme Wellmann sur les stries de croissance annuelles du ligament. Sa méthode vise à prendre en compte, dans l'estimation de l'âge globale d'une moule, la partie manquante du ligament due à l'érosion. Cette méthode peut être décomposée en trois parties.

La première consiste à compter directement le nombre de stries de croissance du ligament restant (Figure 2). Pour ce faire, la coupe à travers le ligament des coquilles sèches selon la méthode de Wellmann s'avérant difficile, Hendelberg a suivi une méthode plus simple. Elle consiste à séparer délicatement les valves et à compter les stries du ligament, à l'aide d'une loupe au grossissement de 20 fois, plus précisément sur sa bordure supérieure où les stries sont plus épaisses. En complément, Bauer (1992) propose de placer les coquilles dans une solution à 5% de KOH (hydroxyde de potassium ou potasse) chauffée à 50°C, afin d'enlever délicatement le périostacum et rendre ainsi les stries d'avantage visibles.

La seconde étape consiste à estimer l'erreur due à l'érosion du ligament. Il faut pour cela mesurer la distance entre l'umbo et le point le plus antérieur encore existant du ligament (distance d , Figure 2). La période de croissance correspondant à cette partie manquante est déduite à partir d'un diagramme de croissance du ligament. Celui-ci est établi à partir de plusieurs individus d'âges différents prélevés dans la même population et dont le ligament est resté intact. Ces données permettent d'extrapoler le temps de croissance correspondant à la valeur de d .

La dernière étape permet de calculer l'âge de l'individu à partir de la valeur extrapolée (partie manquante du ligament) et de la valeur observée (nombre de stries compté sur le ligament restant).

L'erreur de mesure est directement liée à l'importance de l'érosion. La marge d'erreur peut s'élever à 15% au plus, elle est évidemment plus faible quand la corrosion de l'umbo est réduite.

M. Ofenbock (comm. pers.) préfère adopter avec cette méthode une marge d'erreur de 10 ans. Toutefois, les populations de différentes localités peuvent avoir des croissances significativement différentes en raison notamment de la température moyenne de l'eau (K. Groh, comm. pers.). C'est pourquoi, je pense qu'il est préférable d'établir un diagramme de croissance du ligament pour des individus provenant de la même rivière, voire portion de rivière.

Coupe dans la coquille à proximité du ligament

Cette méthode est utilisée par K. Groh (comm. pers.). Elle consiste à découper une fine lamelle de la coquille à proximité et parallèlement au ligament, puis à la polir pour l'observer par transparence avec un microscope optique. Elle se rapproche donc de la méthode précédente. Là encore, il existe une marge d'erreur due à l'érosion de la partie du ligament et des valves, auxquelles correspondent les 3 à 8 premières années. La marge d'erreur hypothétique est donc établie à 5 ans.

Méthodes de détermination du sexe

Selon Hendelberg (1961), le sexe ne peut pas être défini à partir de la morphologie de la coquille. Il faut donc recourir à la dissection pour sexer les individus, en s'aidant d'une coloration à l'éosine hématoxyline qui permet de contraster les tissus. Cependant, cette méthode ne peut pas s'appliquer pour une espèce en danger comme la moule perlière, un procédé alternatif et inoffensif est possible. Il consiste à perforer le pied, pendant la période de mai à juin, quand les gamètes sont presque complètement développés. Environ 5 μ l du fluide s'écoulant des tissus du pied est observé au microscope afin d'identifier les spermatozoïdes ou les ovocytes. Une moule est considérée hermaphrodite si l'on observe conjointement les spermatozoïdes, les ovocytes et le *sperm-morulae* associé à la spermatogenèse chez les moules (Coe & Turner 1938, Ropes & Stickney 1965, Heard 1975).

Une autre méthode qui ne détruit pas les individus, est d'observer directement des œufs entre les lamelles branchiales. Pour cela, il est possible d'ouvrir les valves avec une paire de pinces adaptées, et ce, sans tuer l'animal (K. Groh, comm. pers.). Les œufs se développant chez les femelles, il est donc possible d'en déduire le sexe. La limite d'application de cette méthode est de ne pas pouvoir discriminer les femelles des individus hermaphrodites. ■

Références

- Altnöder, K. 1926. Beobachtung über die Biologie von *Margaritana margaritifera* und über Ökologie ihres Wohnorts. *Archiv fuer Hydrobiologie*, Stuttgart, 17 : 423-491.
- Bauer, G. 1987. Reproductive strategy of freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*). *Journal of animal Ecology*, 56 : 691-704.

- Bauer, G. 1988. Threats to the Freshwater Pearl Mussel *Margaritifera margaritifera* L. in Central Europe. *Biological Conservation*, 45 : 239-253.
- Bauer, G. 1992. Variation in the life span and size of the freshwater pearl mussel. *Journal of Animal Ecology*, 61 : 425-436.
- Buddensiek, V. 1995. The culture of juvenile freshwater pearl mussels *Margaritifera margaritifera* L. in cages: a contribution to conservation programmes and knowledge of habitat requirements. *Biological Conservation*, 74 : 33-40.
- Coe, W.R. & Turner, H.J. 1938. Development of the gonads and gametes in the soft-shell clam. *Journal of Morphology*, 62 : 91-111.
- Ekman, Th. 1905. Undersökningar öfver flodpärlmusslans förekomst och lefnadsförhållanden i Ljusnan och dess tillflöden inom Härjedalen. *Medd. Fr. K. Landtbruksstyrelsen*, 110 : 1-12.
- Kinet, S. & Libois, R. 1999. Propositions pour la conservation des Unionidés (Mollusques bivalves) dans le bassin de l'Our (Parc Natutel Hautes-Fagnes Eifel). Université de Liège. 20 pp.
- Groh, K. 2000. *Cahier espèce*. Grand-Duché de Luxembourg, Ministère de l'Environnement. 12 pp.
- Heard, W. H. 1975. Sexuality and other aspects of reproduction in *Anodonta*. *Malacologia*. 15 : 81-103.
- Hendelberg, J. 1961. The freshwater pearl mussel, *Margaritifera margaritifera* (L.). *Report of the Institute of freshwater research, Drottningholm*, 41 : 149-171.
- Quere, P. 1998. *Etude sur la repartition de Margaritifera margaritifera en Bretagne. Dans la zone 5b. Programme Morgane*. Société d'étude pour la Protection de la Nature en Bretagne. 29 pp.
- Ropes, J.W. & Stickney, A.P. 1965. Reproductive cycle of *Mya arenaria* in New England. *Biological Bulletin*, 128 : 315-327.
- Timm, H. 1994. Big clams of the Estonian freshwaters: comparison of the stage, shell length, and shell weight in different species and populations. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences Biology Ecology*, 43 (3) : 149-159.
- Timm H. & Mutvei H. 1993. Shell growth of the freshwater unionid *Unio crassus* from Estonian rivers. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences Biology Ecology*, 42 (1) : 55-67.
- Wellmann, G. 1938. Untersuchungen über die Flussperlmuschel (*Margaritana margaritifera* L.) und ihren Lebensraum in Bächen Lüneburger Heide. *Zeitschrift Fischerei u. Hilfswiss*, Neudamm und Berlin, 36 : 489-603.
- Young, M.R. 1991. Conserving the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.) in the British Isles and continental Europe. *Aquatic Conservation: Marine and freshwater ecosystems*, 1 : 73-77.

Vrignaud, S. 2007. Différentes techniques de détermination de l'âge et du sexe des moules perlières, *Margaritifera margaritifera* (Linnaeus, 1758) (Mollusca, Bivalvia, Margaritiferidae). *MalaCo*, 4 : 222-224. www.journal-malaco.fr

Journal Officiel de la République Française, 19 avril 2007, extrait du texte 29 sur 86

NOR : DEVN0700159A

Le ministre de l'agriculture et de la pêche et le ministre de l'écologie et du développement durable, Vu le code de l'environnement, notamment ses articles L. 411-1, L. 411-2 et R. 411-1 à R. 411-5 ; Vu l'arrêté du 7 octobre 1992 fixant la liste des mollusques protégés sur le territoire métropolitain ; Vu l'avis du Conseil national de la protection de la nature,

Arrêtent :

Art. 4. - I. - Au premier alinéa de l'article 1er de l'arrêté du 7 octobre 1992 susvisé fixant la liste des mollusques protégés sur le territoire métropolitain, les mots : « dans les conditions fixées par les articles R. 211-1 à R. 211-15 du code rural, » sont supprimés.

II. - A l'article 2 de l'arrêté du 7 octobre 1992 susvisé :

1. Le premier alinéa est rédigé comme suit : « Sont interdits sur le territoire métropolitain et en tout temps la destruction ou

l'enlèvement des œufs et des nids*, la destruction, la perturbation intentionnelle, le colportage, la mise en vente, la vente ou l'achat des mollusques des espèces suivantes : » ;

2. Après les mots : « *Margaritifera margaritifera* (Linné, 1758), moule d'eau douce ou mulette », sont insérés les mots :

« *Pseudunio auricularius* syn. *Margaritifera auricularia* (Spengler, 1793), grande mulette. *Unio crassus* (Philipsson, 1788). »

Art. 5. - Le directeur de la nature et des paysages et le directeur général de l'alimentation sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au *Journal officiel* de la République française.

Fait à Paris, le 19 février 2007.

La ministre de l'écologie et du développement durable,

Pour la ministre et par délégation : *Le directeur de la nature et des paysages,*

J.-M. MICHEL

Le ministre de l'agriculture et de la pêche,

Pour le ministre et par délégation : *Le directeur général de l'alimentation,*

J.-M. BOURNIGAL

*NDLR : Les moules ne construisent pas de nids, évidemment !

Errata

MalaCo n°3

Correctif 1

L'article "Collecting and transporting living slugs (Pulmonata: Limacidae)" a été écrit par Barbara Klee et Ulrich Schnepapat et non par Isabel Hyman. La citation exacte de cet article est donc :

Klee, B. & Schnepapat, U. 2006. Collecting and transporting living slugs (Pulmonata: Limacidae). *MalaCo*, 3 : 107-108.

Correctif 2

En vertu de l'article 8.6 du Code International de Nomenclature Zoologique (ICZN 1999), la désignation de lectotypes dans chacun des deux lots-type de *Clausilia euzieriana* Bourguignat, 1869 et de *Clausilia leia* Bourguignat, 1877 dans Gargominy & Ripken (2006, Figure 7, pages 115 et 117) n'est pas acceptable.

Gargominy, O. & Ripken, Th.E.J. 2006. Données nouvelles sur les mollusques (Mollusca, Gastropoda) du Parc national du Mercantour (France). *MalaCo*, 3 : 109-139.

Annuaire MalaCo

Région Rhône-Alpes

- **Cédric Audibert**, 65, rue d'Alsace, 69100 Villeurbanne
Cedric.audibert@libertysurf.fr
- **Emmanuel Castella**, Laboratoire d'Ecologie et de Biologie Aquatique, Université de Genève, 18, chemin des Clochettes, CH-1206 Geneve
Emmanuel.castella@leba.unige.ch

Région Languedoc-Roussillon

- **Vincent Prié**, route de Lodève, 34700 Saint-Etienne-de-Gourgas
v.prie@wanadoo.fr
- **Christophe Bernier**, Place de l'Eglise, 30170 Pompignan
Email. christophe.bernier9@wanadoo.fr
- **Vincent Koch**
vkoch@biotope.fr