



Thèse

pour l'obtention de grade de Docteur de l'Université de La Rochelle

Spécialité : Biologie de l'environnement, des populations, écologie

Ecole Doctorale : Euclide 618

Présentée par

Frédéric BEAU

Soutenue le 2 décembre 2019

Ecologie de la Cistude d'Europe *Emys orbicularis* en Brenne : histoire de vie des nouveau-nés et influence des modes de gestion sur les populations.



Composition du Jury

Marc Girondot (Professeur - Université Paris Sud)

Rapporteur

Pierre Joly (Professeur - Université de Lyon 1)

Rapporteur

Paco Bustamante (Professeur - Université de La Rochelle)

Examineur

Jean-Marie Ballouard (SOPTOM)

Examineur

Jacques Trotignon (Directeur - Réserve Naturelle Nationale de Chérine)

Membre invité

François Brischoux (Chargé de Recherche - CEBC)

Directeur de thèse



Table des matières



1.	REMERCIEMENTS	1
2.	RÉSUMÉ.....	6
3.	ABSTRACT	8
4.	AVANT-PROPOS	10
4. 1.	<i>Une thèse atypique</i>	10
4. 2.	<i>... pour un thésard atypique</i>	11
INTRODUCTION GÉNÉRALE		13
1.	CADRE GÉNÉRAL.....	13
2.	OBJECTIFS ET STRUCTURE DE LA THÈSE	16
MATERIELS ET MÉTHODOLOGIE GÉNÉRALE		18
1.	SITE D'ÉTUDE : LA GRANDE BRENNE.....	18
1. 1.	<i>Définition d'un étang</i>	20
1. 2.	<i>Le réseau d'étangs</i>	23
1. 3.	<i>La gestion des étangs</i>	24
1. 4.	<i>Les terres avoisinantes</i>	28
2.	ESPÈCE ÉTUDIÉE	30
2. 1.	<i>Description</i>	30
2. 2.	<i>Répartition</i>	30
2. 3.	<i>Ecologie</i>	32
2. 4.	<i>Biologie</i>	32
3.	MÉTHODOLOGIE GÉNÉRALE DE TERRAIN	38
3. 1.	<i>CMR</i>	38
3. 2.	<i>Téléométrie</i>	42
3. 3.	<i>Nids : localisation et suivi</i>	44
3. 4.	<i>Sites de ponte</i>	47
4.	MÉTHODES STATISTIQUES.....	47
4. 1.	<i>Informations relatives aux données cistudes</i>	47
4. 2.	<i>Logiciels d'analyses</i>	49
CHAPITRE I : PONTES, NIDS, ÉMERGENCES ET NOUVEAU-NÉS		50
1.	CONTENU DU CHAPITRE	50
2.	PRÉAMBULE.....	51
3.	SITES DE PONTE, NIDS ET ÉMERGENCES	53
3. 1.	<i>Introduction</i>	53
3. 2.	<i>Matériels et méthodes</i>	55
3. 3.	<i>Résultats</i>	58
3. 4.	<i>Discussion</i>	69
3. 5.	<i>Conclusion</i>	75
4.	HISTOIRE DE VIE DES ÉMERGENTS	77
4. 1.	<i>Introduction</i>	77
4. 2.	<i>Matériels et méthodes</i>	80
4. 3.	<i>Résultats</i>	82
4. 4.	<i>Discussion</i>	96
4. 5.	<i>Conclusion</i>	100
5.	CONCLUSION ET PERSPECTIVES DE GESTION	101
5. 1.	<i>Bilan</i>	101
5. 2.	<i>Gestion</i>	102
5. 3.	<i>Perspectives de recherche</i>	104

CHAPITRE II : EFFETS DES MODES DE GESTION SUR LES POPULATIONS DE CISTUDES.....	106
1. CONTENU DU CHAPITRE	106
2. PRÉAMBULE.....	107
3. APPROCHE GLOBALE DES POPULATIONS DE CISTUDE D'EUROPE <i>EMYS ORBICULARIS</i> DE LA BRENNE, ET LIEN AVEC	
LES MODES DE GESTION.	108
3. 1. <i>Introduction</i>	108
3. 2. <i>Matériels et méthodes</i>	108
3. 3. <i>Résultats</i>	109
3. 4. <i>Discussion</i>	114
3. 5. <i>Conclusion</i>	115
4. LA CONTAMINATION PAR LE MERCURE CHEZ LES CISTUDES D'EUROPE <i>EMYS ORBICULARIS</i> DE BRENNE. CAUSES	
ENVIRONNEMENTALES ET REPRODUCTION.....	116
4. 1. <i>Introduction</i>	116
4. 2. <i>Matériels et méthodes</i>	118
4. 3. <i>Résultats</i>	123
4. 4. <i>Discussion</i>	126
4. 5. <i>Conclusion</i>	130
5. CAUSES ET CONSÉQUENCES DU RECOUVREMENT ALGAL SUR LES CISTUDES D'EUROPE <i>EMYS ORBICULARIS</i> DE	
BRENNE.	132
5. 1. <i>Introduction</i>	132
5. 2. <i>Matériels et méthodes</i>	135
5. 3. <i>Résultats</i>	137
5. 4. <i>Discussion</i>	141
5. 5. <i>Conclusion</i>	149
6. CONCLUSION ET PERSPECTIVES DE GESTION	150
6. 1. <i>Bilan</i>	150
6. 2. <i>Gestion</i>	151
6. 3. <i>Perspectives de recherche</i>	152
CONCLUSION GÉNÉRALE	154
BIBLIOGRAPHIE GÉNÉRALE	158
ANNEXES	177
1. ANNEXE 1 : LISTE DES PUBLICATIONS ET DOCUMENTS	177
2. ANNEXE 2 : NOTE DANS HERPETOLOGICAL REVIEW	179
3. ANNEXE 3 : ARTICLE PARU DANS ENVIRONMENTAL RESEARCH	180

Liste des figures

Figure 1 : Résumé en images de la structuration du mémoire	17
Figure 2 : Localisation générale du site d'étude (en jaune).....	19
Figure 3 : Localisation du site d'étude dans le département de l'Indre (36).....	19
Figure 4 : Schéma d'un étang (© Ecomusée de la Brenne).....	22
Figure 5 : Organisation du réseau hydrographique en chaînes d'étangs	23
Figure 6 : Place de l'étang dans le relief (© Ecomusée de la Brenne).....	28
Figure 7 : Etang Ricot vu du ciel.....	29
Figure 8 : Répartition mondiale de la Cistude d'Europe.....	31
Figure 9 : Répartition française de la Cistude d'Europe (d'après Priol, 2009)	31
Figure 10 : Utilisation des habitats de Brenne par la Cistude d'Europe (© F. Desbordes).....	37
Figure 11 : Capture par verveux	39
Figure 12 : Code de marquage des écailles	40
Figure 13 : Biométrie.....	41
Figure 14 : Localisation par triangulation.....	43
Figure 15 : Transect de recherche de pontes	45
Figure 16 : Catégorisation des types de pisciculture.....	48
Figure 17 : Localisation du transect « suivi de ponte » sur l'île de Ricot.....	55
Figure 18 : Mise en défens d'un site de ponte (exclos).....	57
Figure 19 : Dénombrement des nids au sein de l'exclos	59
Figure 20 : Taux d'émergence	61
Figure 21 : Phénologie générale des émergences	61
Figure 22 : Répartition des périodes d'émergences selon les dates de ponte (nids de 2015)	62
Figure 23 : Nombre de jours entre la ponte et la première émergence (émergence automnale)	64
Figure 24 : Nombre de jours entre la ponte et la première émergence (émergence printanière).....	64
Figure 25 : Nombre de jours passés dans le nid en fonction de la taille de la dossière	65
Figure 26 : Nombre de jour entre la première et la dernière émergence (émergences printanières)	65
Figure 27 : Temps d'occupation maximale du nid (émergences printanières).....	66
Figure 28 : Taux d'embryons avortés en fonction de la pluviométrie du mois de juillet	67
Figure 29 : Relation entre le poids et la longueur de la dossière des émergents	68
Figure 30 : Longueur de la dossière des émergents en fonction des nids.....	68
Figure 31 : Emergent équipé d'un émetteur (en phase de déplacement)	82
Figure 32 : Nombre de jours suivis par individu	84
Figure 33 : Pluviométrie au cours des suivis.....	85
Figure 34 : Temps pour rejoindre un milieu aquatique selon les années.....	86
Figure 35 : Lien entre le temps mis pour rejoindre un point d'eau et la distance qui le sépare du nid	87
Figure 36 : Déplacements moyens cumulés depuis l'émergence, selon les années	88
Figure 37 : Déplacement journalier moyen selon les années.....	89
Figure 38 : Accroissement du domaine vital au cours du temps pour 3 émergents	90
Figure 39 : Distance observée pour rejoindre le milieu aquatique en fonction de la distance minimale du nid par rapport à ce point d'eau.....	91
Figure 40 : Lien entre le domaine vital et la distance du milieu aquatique rejoint.....	92
Figure 41 : Exemple de domaine vital pour le site de ponte de la Petite Lande en 2017.....	93
Figure 42 : Fréquence des observations annuelles en fonction des milieux aquatiques	94
Figure 43 : Taux de survie au cours du temps (\pm ET).....	95

Figure 44 : Résumé de l'occupation des sites de ponte par la Cistude d'Europe selon les mois	103
Figure 45 : Survie et dispersion estimées (Casajus et al., 2019)	110
Figure 46 : Simulation du modèle de dynamique de population (Casajus et al., 2019)	111
Figure 47 : Répartition de la taille des femelles sur le site d'étude	112
Figure 48 : Répartition de la taille des mâles sur le site d'étude	112
Figure 49 : Condition corporelle des femelles en fonction du type de pisciculture.....	113
Figure 50 : Localisation des étangs analysés	119
Figure 51 : Concentration de mercure dans les griffes des cistudes en fonction de la longueur de la dossière	123
Figure 52 : Concentrations de mercure selon le nombre d'années depuis le dernier assec prolongé	124
Figure 53 : Corrélation entre la concentration de mercure et la proportion de femelle gravides en 2016	125
Figure 54 : Corrélation entre la concentration de mercure et la proportion de femelle gravides en 2017	125
Figure 55 : résumé en images des principales informations liées au mercure	131
Figure 56 : Présentation de la couverture algale sur l'individu 2633	135
Figure 57 : Localisation des étangs échantillonnés pour l'étude des algues épizoïques.....	136
Figure 58 : Couverture algale de la dossière au cours du temps	138
Figure 59 : Couverture algale du plastron au cours du temps.....	138
Figure 60 : Couverture algale selon le type de pisciculture.....	139
Figure 61 : Masse ajustée moyenne en fonction de la présence ou l'absence d'algues sur la dossière	140
Figure 62 : Lien entre la couverture algale de la dossière et la proportion de femelles gravides	141
Figure 63 : Phénologie de l'expansion algale.....	146
Figure 64 : individu 720 entre 2016 et 2018, de gauche à droite	148
Figure 65 : Il s'agit bien d'une cistude et pas une nouvelle apparition sur le Loch Ness.....	149

1. Remerciements

Avant de laisser libre cours à des remerciements quelques peu fantaisistes, je tiens tout d'abord à remercier sincèrement les rapporteurs, Marc Girondot et Pierre Joly, ainsi que les examinateurs Paco Bustamante et Jean-Marie Ballouard pour avoir accepté de faire partie de mon jury et examiner mon travail.

Merci également à un autre membre du jury qui a une place particulière, puisqu'il est mon directeur de thèse, François Brischoux. Sans prétention aucune, je suis content d'avoir été un thésard un peu spécial, le premier que tu auras dirigé seul, et le premier aussi, certainement le dernier, plus vieux que toi !

Merci à Jacques Trotignon de porter depuis de nombreuses années des actions en faveur de la Cistude d'Europe, et d'être passé un jour à la maison pour me proposer de prendre la suite des travaux de Zoey Owen-Jones, je ne me suis pas rendu compte que je mettais le doigt dans un engrenage qui dure depuis 6 ans, et dont la page se tourne désormais avec, en point d'orgue, la finalisation de cette thèse. Merci d'avoir suivi l'idée de cette aventure, et d'avoir relu assidûment ce mémoire.

Merci à l'équipe de la Réserve Naturelle Nationale de Chérine de m'avoir fait confiance, même s'il n'a pas été simple tous les jours de mener des suivis sur un site protégé.

Un merci tout spécial à une personne toute aussi spéciale à mes yeux : Laura Van Ingen qui, au cours de cette thèse est devenue madame Beau. En plus de partager notre vie personnelle, nous avons partagé notre vie professionnelle, qui plus est dans le même bureau, et tout s'est très bien passé. Grâce à notre complicité et le partage de la même passion pour la nature et pour la science, avec le souhait d'être utile à la préservation de notre patrimoine naturel, il ne pouvait en être autrement. Il nous reste beaucoup de projets communs à partager.

Note à l'attention des lecteurs : bien qu'au début du mémoire, c'est pourtant la fin de la rédaction, certains propos tenus à partir de ce point n'engagent aucunement le rédacteur puisqu'à ce stade (et à cette heure), il n'a plus tout à fait toutes ses capacités intellectuelles, si tant est qu'il en ait eu un jour... D'autant que dans la gestion de l'urgence, c'est la base de la biologie de la conservation je reste au cœur du sujet, l'ordre risque d'être légèrement décousu, sans classement hiérarchique des importances, des amitiés, des collaborateurs ou

tout autre jugement de valeur. Personne ne vous en voudra de passer directement au vif du sujet sans passer par la case personnelle des remerciements façon soirée des Césars.

Je poursuivrai donc cette partie un peu personnelle des remerciements en m'adressant à la personne au cœur de ce travail, qui n'a pas compté son temps, qui a passé ses jours et ses nuits derrière les cistudes, dimanches et jours fériés, que ce soit sur les sites de ponte ou dans les étangs, sans jamais se plaindre (râler oui, mais se plaindre non), que je suspecte même d'avoir pris du plaisir : moi !

Merci à l'autre composante essentielle de ce travail : la Cistude d'Europe, aussi nommée *Emys orbicularis* pour faire plus sérieux, d'avoir tolérée mes manipulations, prélèvements, palpation, équipements technologiques et mon omniprésence lors des périodes de ponte pour espérer protéger des nids après des heures d'attente dans les nuits magnifiques (mais longues) de Brenne pendant quelques années. Tout ça pour que parfois un renard passe et procède à un rapt injuste, puisque mon effort est sans commune mesure avec sa facilité à dénicher une ponte. Par conséquent, je ne remercie pas les sieurs goupils qui se sont succédés sur les sites de ponte et ont brisé des heures d'attente en même temps que les coquilles des œufs de cistude.

Un moment important et décisif me revient en mémoire, et je ne pourrai malheureusement pas remercier tous les protagonistes de ce moment où, un soir du printemps 2016, dans un bar d'Arles, l'idée de la thèse est née au cours des échanges entre Laura Beau, Jacques Trotignon et moi-même pour Chérine et Jean Jalbert, Arnaud Béchet et Anyhony Olivier pour la Tour du Valat, et j'en oublie certainement, *mea culpa*. Merci, puisque c'est à partir de là que l'idée a germé dans ma tête de me lancer dans l'aventure d'une thèse.

Puisque son nom vient d'être évoqué, merci à Anthony Olivier qui connaît la cistude comme personne, pour son enthousiasme, ses échanges enrichissants et son soutien moral sans faille. Tant que nous sommes à la Tour du Valat, merci à Christophe Germain pour la création de la base de données Access sur mesure et surtout pour le « service après-vente » rapide et efficace.

Merci au CNRS de Chizé et plus particulièrement à David Pinaud, pour m'avoir donné les bases des logiciels QGIS et R, et d'avoir régulièrement répondu à mes questions et mes demandes de validation de scripts. Merci à Bruno Michaud pour avoir redécoupé les prélèvements de griffe des cistudes (désolé). Merci à Christophe Barbraud pour avoir regardé

mes données et commencé à les « faire parler », en espérant que ce ne soit qu'un début. Merci également à Olivier Lourdais d'avoir accepté de participer au « Brenne Storming » lors d'un comité de thèse pour apporter son regard, avec François, Paco, Anthony et Jacques.

Merci aussi à Nicolas Casajus et sa maîtrise hors pair du logiciel R qui m'a fait gagner tellement de temps pour les analyses spatiales, et son impressionnante capacité à rectifier des scripts par téléphone sans rien avoir sous les yeux !

Merci aux membres du laboratoire du LIENSs pour les analyses de dosage du mercure.

Merci à l'École Doctorale, et plus particulièrement à Paco Bustamante de m'avoir encouragé dans mon côté « joueur » pour la soumission de l'article sur le mercure à Environmental Research. Merci à Jennifer De la Corte Gomez et Isabelle Hirsch pour m'avoir aidé dans les démarches administratives lors des inscriptions et réinscriptions.

Merci à l'ensemble des doctorants de 2ème année pour, un jour de mai 2018, avoir trouvé que ma présentation orale n'était pas si mal, en me décernant un prix qui remotive lorsque vous travaillez seul dans votre coin.

Merci aux membres du réseau Cistude et plus spécialement à Stéphanie Thienpont.

Un immense merci à Claude Nottebaert, source d'une bibliographie intarissable, mieux que Google Scholar ! Et tout ça avec une rapidité qui n'a rien à envier à la fibre optique.

Merci à l'ensemble des stagiaires et collaborateurs qui m'ont accompagné sur le terrain et qui ont pris en charge des sessions de piégeage pour acquérir un maximum de données dans un temps court en permettant de faire 2 équipes de piégeage : Julia Hégédus, Matthieu Normand, Nathan Delmas, Florian Plault, Anne Villemey, avec une attention particulière pour Julien Morgnieux et Jérémy Lemaire qui ont été présents plusieurs années, même si vos oreilles ont dû siffler lorsque je rentrais certaines de vos données alors que vous n'étiez plus là ! Merci pour votre enthousiasme, votre bonne humeur et d'avoir réalisé un travail sérieux sans vous prendre au sérieux.

Merci à Nathalie Espuno et Annick Lucas du CEFÉ de Montpellier pour avoir tenté des recherches de nids avec la chienne pisteuse Léia, infructueuses, mais ce n'est là que le début dans ce domaine.

Merci à la Fédération des Chasseurs de l'Indre d'avoir ouvert les portes du domaine du Plessis à nos études sur leurs étangs et permis d'héberger notre « stagiaire cistude » de 2018, merci à Xavier Legendre, Bruno Cartoux, François Bourgmaster et Jérôme Berton.

Merci à Sandra Barré grâce à qui mon bureau était comme neuf tous les lundis.

Note à l'attention des lecteurs (bis) : attention on atteint des sommets de sentimentalisme de série B... n'hésitez pas à passer à l'introduction.

Merci aux amis personnels dont certains sont issus des bancs de la fac de biologie de Poitiers, que j'ai lâchement abandonné sur le chemin des hautes études : DEA, thèse... je ne me sentais pas capable, mais il paraît que tout vient à point à qui sait attendre (et bosser aussi un peu quand même), finalement j'aurai fini par l'emprunter ce chemin. Aux plus vieux amis encore, issus des bancs du lycée qui sont toujours là pour partager les bons comme les mauvais moments et m'encourager dans mes choix comme celui de me lancer dans une thèse. Merci à vous tous : Christophe, François, Hakim, Louloute, Nono, Scarb, Stéphane, Zozo...

Et enfin, merci à ma famille, avec une pensée particulière à feu mon grand-père Marc qui m'a ouvert les yeux sur la nature, avec des yeux de chasseur mais bon, nul n'est parfait.

Merci à mes parents d'avoir toujours accepté et soutenu mes choix, même si aux yeux de parents il peut être source d'inquiétude de voir son enfant à la limite de la précarité pour ses convictions. Mais votre éducation m'a forgé.

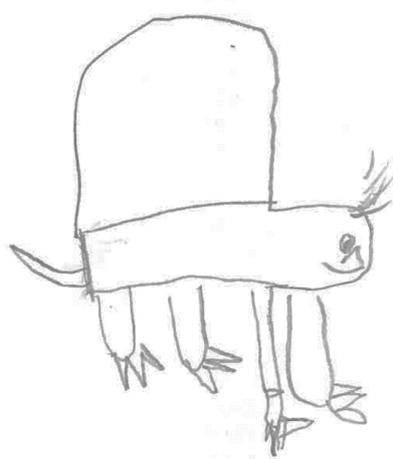
Merci à mes frères et sœurs, décidément on a du mal à faire comme tout le monde, les parcours sinueux sont tellement plus enrichissants que les lignes toutes tracées, et il n'est jamais trop tard pour apprendre et se lancer des défis dans quelque domaine que ce soit.

Merci à mes enfants Maxime et Clément d'avoir patienté des semaines sur la fin de la rédaction, que leur papa ait à nouveau du temps à leur consacrer. Merci à Maxime de s'intéresser à ce que fait son père et de m'avoir accompagné pour placer des cages sur les nids découverts. A Clément pour m'avoir empêché de dormir lors de ses premières nuits, quand je rentrais du radiopistage à 3 ou 4 heures du matin, et que son frère se levait à 5 heures en me disant « réveillé papa » alors que je tentais de finir ma nuit sur la banquette du salon, enfin le salon... le chantier ! Bref, attendez un peu si un jour vous vous lancez dans une aventure comme celle-là, je ne serai pas loin !

Merci à Laura, que ce soit la collègue, l'épouse ou la maman, d'avoir accepté l'idée et de m'avoir encouragé sachant ce que cela impliquait en terme de travail. Tu as connu ce rythme infernal de télémétrie la nuit et de CMR le jour, surtout quand on débute une vie de famille en plein travaux et que le deuxième enfant vient d'arriver. Mais bon, tu as été ma supérieure hiérarchique, ton niveau d'étude était supérieur au mien et tu es plus grande que moi, cette thèse était ma seule façon de te dépasser au moins une fois sur quelque chose !

Je vous avais dit que l'on attendrait des sommets...

Passons maintenant aux choses un peu plus sérieuses...



Cistude d'Europe (Emys orbicularis)

(© Maxime Beau)

2. Résumé

La Brenne est une région qui abrite aujourd'hui une biodiversité remarquable et de nombreuses espèces emblématiques des zones humides ; parmi lesquelles la Cistude d'Europe *Emys orbicularis* occupe une place particulière. Cette espèce a été largement favorisée par les activités humaines passées. Les étangs, tous artificiels, ont vu s'installer et se développer depuis le Moyen Âge une des plus importantes populations de France. Cette espèce, dont la répartition française fut plus large, a subi d'importantes réductions essentiellement en raison des modifications des pratiques agricoles et l'utilisation, voire la disparition, des milieux aquatiques et terrestres nécessaires à son cycle de vie. Les Réserves naturelles sont des lieux de préservation du patrimoine naturel. La biologie de la conservation s'attache à proposer des mesures de préservation sur la base d'études scientifiques. Ce travail s'inscrit dans cette démarche sur une espèce pourtant déjà largement étudiée. Cette dernière considération nous a amené à porter nos recherches sur des éléments nouveaux pour l'espèce. Ainsi, nous avons souhaité tout d'abord étudier les facteurs liés aux sites de ponte : l'incubation *in situ*, les émergences et les premiers moments de vie des nouveau-nés qui quittent le nid. Puis, nous avons étudiés les populations dans les étangs sous le prisme de la qualité des milieux aquatiques.

Concernant notre premier objectif, jusqu'à présent les sites de ponte étaient considérés, et donc gérés, comme des lieux à optimiser pour la ponte des femelles. Or, il s'avère que l'utilisation de cet habitat terrestre par l'espèce va bien au-delà. En effet, la plasticité de la phénologie des émergences, liée à une faible mobilité des jeunes qui sortent du nid et leur utilisation du milieu, nous oblige à revoir nos considérations de gestion de ces habitats, tout du moins dans le contexte particulier (édaphique, climatique et météorologique) de la Brenne.

L'étude des populations par la qualité des eaux nous apporte des premiers résultats, notamment sur la présence de mercure à des doses connues pour causer des troubles chez d'autres groupes d'espèces. L'origine de ce mercure ne semble pas imputable aux activités humaines locales, mais il semble issu du cycle global du mercure et une entrée dans la chaîne alimentaire liée à la gestion par les assècs réguliers. Sans avoir démontré d'impact sur la reproduction des cistudes, nous avons mis en évidence une corrélation qui incite à porter une attention à ce phénomène de présence de mercure dans les organismes vivants des étangs de

Brenne. La présence d'algues sur les tortues aquatiques est connue depuis longtemps. Toutefois, nos résultats mettent en évidence une phénologie du recouvrement de la carapace différente selon les classes d'âge et les sexes. La modification des pratiques piscicoles, vers une intensification, apparaît comme le facteur agissant sur la présence et la colonisation des cistudes par les algues, par une eutrophisation des milieux (étangs). De même que pour le mercure, bien que nous ayons mis en évidence des corrélations entre la couverture algale et la condition corporelle des femelles ou encore leur capacité de reproduction, ces premiers résultats sont à poursuivre afin de connaître l'impact à long terme sur cette espèce longévive.

En Brenne, les populations de cistudes sont encore importantes mais des variables telles que le taux de juvéniles dans les populations, la présence de mercure, le recouvrement parfois très important en algues, doivent nous inciter à maintenir notre vigilance pour cette espèce, et poursuivre le travail dans le cadre de la biologie de la conservation. Ceci accompagné de valorisations et de partages de ces connaissances et des expériences de gestion.

Mots clés

Cistude d'Europe *Emys orbicularis*, site de ponte, émergence, émergent, mercure, algue, condition corporelle, conservation, gestion, pisciculture.

3. Abstract

“Brenne” is a French wetland area which shelters a remarkable biodiversity and many emblematic species, among which the European pond turtle *Emys orbicularis* is particularly abundant. This species has been largely favored by past human activities. In Brenne, all ponds are man-made and have allowed the development, since the Middle Age, of one of the largest European pond turtle population in France. The distribution of this species has strongly decreased mainly because of changes in agricultural practices and the use of the aquatic and terrestrial environments necessary for its life cycle. Nature Reserves are important areas dedicated to the preservation of the natural heritage. One of the goal of biological conservation is to propose preservation measures based on scientific studies. *E. orbicularis* has been the subject of many of such studies. We choose to carry out our research on new elements for the species. First, we investigated parameters related to nesting sites: incubation under natural environment, emergence and postemergence behaviors of hatchlings. Second, we studied the populations under the prism of the quality of the aquatic environments.

Generally, nesting sites were mainly considered as critical areas for egg-laying by females. However, it turns out that the use of this terrestrial habitat by the species is more important. Indeed, the plasticity of emergence phenology linked to a low mobility of hatchlings strongly suggest to change management practices of these habitats, at least in the particular context (edaphic, climate and weather) of Brenne.

The study of the influence of water quality on populations allowed to highlight important patterns. Mercury levels in European pond turtle can reach doses known to cause disorders. The origin of this mercury does not seem to be linked to local human activities, but appears to originate from its global cycle. However, the Hg bioavailability is stimulated by local management practices, characterized by drainage periods. We have highlighted a correlation between the concentration of mercury and female reproduction (gravidity) which stimulates future research. A focus on algal epibiosis indicates that a large part of individuals are covered by algae. The presence of algae on aquatic turtles has been known for a long time. However, our results highlight differences of the algal epibiosis between ages and sexes. Intensive fish-farming appears to be responsible of the presence and prevalence of algae on turtles. Intensification of fish-farming practices causes an eutrophication of the environments. We

also found correlations between algal cover and body condition and reproduction in adult females. These results should be pursued in order to know the long-term impact on this long-lived species.

In Brenne, populations of European pond turtle are still large but some aspects such as proportion of juveniles, presence of mercury, or algal epibiosis deserve future studies in the field of conservation biology, with an emphasis on knowledge and management experiences sharing.

Keywords

European pond turtle *Emys orbicularis*, nest site, hatchling, mercury, algae, body condition, conservation, management, fish-farming.

4. Avant-propos

En lisant ces lignes, le mémoire de doctorat que vous avez entre les mains est le fruit d'un contexte et d'opportunités qu'il convient de rappeler pour en comprendre les objectifs et la démarche.

4. 1. Une thèse atypique...

Il ne s'agit pas d'un sujet issu d'un laboratoire qui travaille sur des thématiques de science fondamentale, ou toute autre interrogation scientifique précise. Il résulte de la volonté d'un gestionnaire d'espaces naturels de fonder sa gestion sur des bases objectives, issues de protocoles rigoureux. Depuis de nombreuses années la Réserve Naturelle Nationale de Chérine emmagasine des données sur la Cistude d'Europe *Emys orbicularis* dans de nombreux domaines. Malheureusement, les compétences internes de ces structures ne permettent pas nécessairement de pouvoir analyser pleinement les importants jeux de données qui en découlent. Elles se retournent alors vers des chercheurs avec des spécialités pouvant répondre à leurs attentes de gestionnaire. Cependant, les attentes des uns ne coïncident pas forcément avec les disponibilités des autres. La valorisation des données peut, au mieux tarder, au pire ne jamais voir le jour, sans compter avec le doute de la robustesse des analyses lorsqu'elles sont effectuées en interne.

La Réserve Naturelle Nationale de Chérine, en Brenne, et la Tour du Valat en Camargue, sont les deux structures travaillant sur les plus importantes bases de données sur la Cistude d'Europe *Emys orbicularis* en France. Dans la volonté d'harmoniser nos suivis communs dans deux contextes climatiques différents, des rencontres ont vu le jour à partir de 2016. C'est ainsi que, face à l'ampleur de la tâche, non seulement avec les données de Brenne et de Camargue, mais également de nombreux autres sites en France, la réflexion a abouti à l'idée d'une thèse, voire plusieurs thèses pour valoriser tous ces travaux. Après hiérarchisation de ce projet, cette stratégie pour valoriser nos données n'est pas restée un vœu pieux, et les démarches se sont alors initiées en ce sens. Grâce au partenariat de la RNN de Chérine avec le Centre d'Etudes Biologiques de Chizé (CEBC - U.M.R. 7372 - CNRS & Université de La Rochelle) et plus spécialement François Brischoux, c'est tout naturellement que la direction de la thèse a été trouvée.

Un des objectifs du gestionnaire est de savoir si la protection et la gestion mise en place pour l'espèce sont efficaces. Il y avait donc des attentes spécifiques en termes de dynamique

de population ; cependant les disponibilités des spécialistes dans ce domaine n'ont pas permis une codirection de la thèse. C'est pourquoi, malgré l'importance de nos suivis par capture-marquage-recapture, cet aspect n'est que brièvement abordé dans ce mémoire. En revanche, ces suivis nous permettent d'avoir les individus en main et donc de pouvoir réaliser des manipulations annexes et ainsi d'accéder à des informations pour lesquelles nous n'avions peu, voire pas de données.

L'idée fut alors de placer nos recherches sous l'angle de la nouveauté pour cette espèce. C'est également avec cette volonté, aidé par l'évolution de la technologie, et surtout financièrement par l'Agence de l'Eau Loire Bretagne d'un point de vue financier, que nous avons pu nous intéresser à une phase d'ombre du cycle de l'espèce : le devenir des nouveaux nés après leur sortie du nid. Nous détaillerons ce point dans les parties appropriées, mais tout semblait à apprendre dans ce domaine, qui plus est pour des gestionnaires qui souhaitent appliquer des mesures de gestion conservatoire.

D'un point de vue temporel, la thèse a débuté en janvier 2017. Toutefois, les analyses portent sur des suivis qui ont pu débuter quelques années auparavant.

4. 2. ... pour un thésard atypique

L'idée de la thèse nécessitait de trouver... un « thésard ».

La Brenne est une zone connue pour qui s'intéresse à la cistude, et est une source importante de connaissance sur l'espèce depuis de très nombreuses années. Avec tout d'abord les travaux de Raymond Rollinat (1934), de Jean Servan entre les années 1980 et 2004, puis Zoey Owen-Jones entre 2007 et 2012, sans oublier ceux de Claude Pieau sur le déterminisme du sexe par la température d'incubation dans les années 70, réalisés avec des œufs de Brenne. Alors que je débutais mes premiers suivis sur la cistude dans le marais de Brouage au début des années 2000, la bibliographie me transportait en Brenne.

Mes années d'études remontent au siècle dernier, un parcours alternant associations et enseignements, dont les aléas m'ont conduit en Brenne pour de toutes autres raisons que la cistude. La proposition de reprendre les suivis de Zoey Owen-Jones sur la Réserve de Chérine m'a ramenée vers cette branche. Lors d'études réalisées auparavant sur diverses espèces, il subsistait des frustrations lorsqu'il s'agissait pour moi de « jouer » avec des données et de faire parler les chiffres de façon optimale et rigoureuse. Il n'aura pas fallu longtemps pour décider de me lancer dans l'aventure d'un doctorat. Dès lors, il m'a fallu

repartir de zéro dans de nombreux domaines. A commencer par les statistiques et l'utilisation de nouvelles technologies analytiques, en découvrant les Systèmes d'Informations Géographiques (SIG) et la bête noire de beaucoup d'étudiants : le logiciel R.

Entre contexte et opportunité, c'est ainsi qu'une association de gestion de Réserve naturelle est devenue porteuse d'une thèse en écologie pour un étudiant quadragénaire.

Ce mémoire présente alors les résultats des exploitations effectuées sur une courte période pour espèce longévive. Il reste encore beaucoup à faire !

INTRODUCTION GÉNÉRALE

1. Cadre général

Comme nous l'avons indiqué dans l'avant-propos, cette thèse est née de la volonté d'une Réserve naturelle d'asseoir leur gestion sur une base scientifique. Cette démarche n'est pas sans rappeler celle de la biologie de la conservation.

La biologie de la conservation, ou écologie de la conservation, est considérée comme une discipline à part entière depuis le milieu des années 1980. Les premières formulations de cette science remontent à la fin de années 1960 (Blondel, 1995), bien que cette dernière trouve ses origines depuis bien plus longtemps. En effet, elle est à la croisée des chemins, et par conséquent l'héritière de deux courants très anciens, impliquant les sciences biologiques et la volonté croissante de préserver la nature (Maris & Devictor, 2014). En d'autres termes, elle découle de ce que l'on pourrait appeler l'« histoire naturelle » ou le naturalisme, sur lequel se greffe un cadre théorique et scientifique, qui dresse le constat d'une érosion de ce que les scientifiques appelaient alors la « diversité biologique » (Blondel, 1995). Cette approche peut être résumée en ces termes : « c'est une reconfiguration scientifique de préoccupations anciennes liées à la destruction de la nature » (Maris & Devictor, 2014).

Suivant un parcours similaire, le terme de « biodiversité » a pour origine la « diversité biologique », sujet grandissant depuis les années 1960. Mais dans ce contexte de crise (Soulé, 1985), il convient d'avoir des marqueurs forts. Les mots peuvent en être, et c'est en 1986 que ce terme est utilisé pour la première fois, lors du « National Forum on Biodiversity » (Wilson & Peter, 1988). Il sera par la suite redéfini, en raison de sa popularité et de son caractère abstrait qui amène chacun à avoir sa propre perception de la biodiversité (Haila & Kouki, 1994).

Parallèlement à ce développement conceptuel et à la naissance de la biologie de la conservation, les actions de préservation d'espaces et d'espèces se poursuivent et s'amplifient depuis le premier acte de création d'un Parc national que fut Yellowstone en 1872. De manière anecdotique, c'est également au milieu des années 1980, alors que le terme de biodiversité faisait son apparition (Wilson & Peter, 1988), ainsi que la biologie de la conservation (Soulé, 1985), que la Réserve Naturelle Nationale de Chérine était créée : en 1985.

La biologie de la conservation a pour objectif de formuler des recommandations, ou d'offrir des outils qui permettent de protéger la biodiversité et les milieux naturels (Soulé, 1985; Primack, 2012; Maris & Devictor, 2014). Son caractère d'urgence face à des crises ou des perturbations d'espèces, de communautés ou d'écosystèmes, peuvent amener les biologistes à devoir prendre des décisions ou faire des recommandations sur la gestion sans pour autant avoir tous les éléments d'analyse nécessaires (théorique ou empirique) (Soulé, 1985). De plus, l'approche holistique implique de prendre en considération tous les éléments relatifs à la biologie et l'écologie des espèces, ce qui en fait une science d'application directe pluridisciplinaire (génétique, physiologie, dynamique des populations, suivis environnementaux...). Pour ajouter à la complexité de la démarche, il convient également de prendre en compte les considérations philosophiques et socio-économiques (Blondel, 1995).

Une des recommandations principales, qui fait consensus, est la nécessité de création d'aires protégées. Les Réserves Naturelles en font partie. Toutefois, des divergences naissent en fonction des approches, des visions et des sensibilités, dès lors qu'il s'agit de définir des modalités de création et, surtout, de gestion. Ainsi, pour tenter de répondre à ces préoccupations, la biologie de la conservation s'efforce d'être pragmatique plutôt que de chercher à appliquer sur le terrain des théories générales (Blondel, 1995). Partant de ce principe, les recherches basiques en biologie de la conservation sont essentielles, car elle permettent d'apporter rapidement des solutions face aux dégradations qui empêchent de suivre de façon étendue, d'un point de vue spatial et temporel, les phénomènes naturels (Soulé & Kohm, 1989).

Ces réponses d'urgence s'inscrivent dans une stratégie qui implique des choix de gestion conservatoire sur le terrain. Cette stratégie doit alors être replacée dans un contexte, surtout lorsque l'on s'intéresse à une espèce plus particulièrement. En effet, des mesures de gestion ciblées sur une espèce peuvent apporter des perturbations à d'autres espèces ou peuplements. Ces choix et ces démarches nécessitent donc d'être évalués pour estimer la pertinence des actions et d'éventuels impacts collatéraux. Pour ce faire, il existe plusieurs méthodologies, telles que la gestion adaptative, à la fois empirique et scientifique, à l'image d'un médecin qui fait passer des examens récurrents à son patient pour suivre sa santé.

Les Réserves naturelles, comme tous les sites de préservation de la biodiversité et du patrimoine naturel, se prêtent particulièrement à de telles démarches d'investigation et de

réorientation en fonction des apprentissages. Et ce, avec d'autant plus de rigueur qu'il s'agit de sites ayant une vocation prioritaire de préservation. Toutefois, les choix de conservation commencent par une connaissance fine de ce patrimoine et de son fonctionnement. Sans oublier ce que rappelle Blondel (1995) en ces termes : « par qui et pour qui ces choix doivent-ils être formulés ? », d'autant plus qu'aujourd'hui le patrimoine naturel est un bien commun qui dépasse la sphère scientifique (Ollagnon, 2006). Nous ne développerons pas ces aspects philosophiques et éthiques bien qu'ils forment un socle important de cette discipline (Primack, 2012).

La crise qui touche actuellement l'ensemble du vivant n'épargne pas les tortues. Ce groupe taxonomique est considéré comme le plus menacé des groupes de vertébrés (Behler, 2018), chez lequel près de la moitié des espèces présentes sur Terre sont signalées comme « menacées » (Buhlmann *et al.*, 2009; Behler, 2018). En France, il existe deux tortues aquatiques autochtones, dont la Cistude d'Europe *Emys orbicularis* qui est considérée comme « quasi-menacée » à l'échelle mondiale et en « préoccupation mineure » sur le territoire français (UICN France, MNHN & SHF, 2015). Cette espèce a été largement étudiée par le passé, mais des zones d'ombre sur sa biologie et son écologie subsistent.

C'est dans ce cadre de la biologie de la conservation appliquée à la Cistude d'Europe, et au sein d'une aire protégée, que s'inscrit ce travail. En écho à ce qui vient d'être rappelé, et en filigrane tout au long du mémoire, les spécificités locales nous inciteront à garder en mémoire que les suivis réalisés nous apportent des connaissances sur la population étudiée, dans le contexte spécifique du site d'étude (paysages, habitats, climat, météorologie...). Toutefois, certaines informations peuvent être généralisées, tant pour les résultats que pour la démarche elle-même, et appliquées à d'autres territoires dans des objectifs de conservation de l'espèce.

2. Objectifs et structure de la thèse

Comme nous l'avons rappelé, ces recherches résultent de la volonté d'un gestionnaire d'optimiser son travail pour la conservation d'une espèce. Mais également de partager celui-ci à travers diverses valorisations : scientifique, de gestion et pédagogique. Cette conception a fortement orienté ces travaux et leurs analyses.

L'objectif principal de ce doctorat est l'acquisition de connaissances nouvelles sur une espèce pourtant bien étudiée depuis de nombreuses années. Le but ultime est d'utiliser ces nouvelles connaissances pour améliorer les mesures de gestion conservatoire. Un autre objectif de cette démarche est de faire bénéficier les chercheurs, et surtout les gestionnaires d'espaces naturels, des résultats de nos recherches. Ainsi, nous pourrions en faire profiter l'espèce à une plus large échelle que celle de notre zone d'étude. Dans cet esprit, des réflexions sur la gestion sont proposées, accompagnées de remarques sur la nécessité de poursuivre certaines études, au regard des interrogations nées de nos suivis.

La biologie de la conservation s'attache à travailler de façon pragmatique au cas par cas. C'est pourquoi ce mémoire est organisé de la façon suivante.

Tout d'abord, afin de placer l'étude et l'espèce dans la spécificité du territoire étudié, une large place est dédiée à la compréhension du contexte local, grâce à la description du site d'étude et de l'espèce étudiée. Les modalités d'études sont également abordées dans cette partie.

Puis, la suite du mémoire est composée de deux principaux chapitres.

Le premier chapitre s'attache à comprendre les spécificités liées aux sites de ponte, pour redéfinir l'utilisation de ce milieu par l'espèce. Il est divisé en deux parties portant sur deux approches complémentaires. La première nous amène à considérer le site de ponte comme un site d'incubation pour les œufs et à saisir les mécanismes de production de nouveau-nés. La seconde tente de combler un manque dans la connaissance du cycle de vie de l'espèce, en analysant les premiers moments de vie des jeunes cistudes, pour comprendre leur utilisation de l'espace après leur sortie du nid.

Le second chapitre propose une approche différente des habituels suivis de population de Cistude d'Europe. Après une analyse globale de la population, nous nous attarderons sur l'état sanitaire de celle-ci à travers deux études portant sur les causes et les conséquences d'éléments qui n'ont pas encore été étudiés chez l'espèce : la présence de mercure dans les

organismes et la prolifération algale, qui est de plus en plus constatée depuis quelques années. En effet, le contexte, l'effort de piégeage et les observations de terrain depuis des années nous amènent à nous interroger sur l'avenir de la population de cistudes de Brenne, face aux modifications de ce qui a largement favorisé sa présence et son développement : la pisciculture.



Figure 1 : Résumé en images de la structuration du mémoire

MATERIELS ET MÉTHODOLOGIE GÉNÉRALE

Cette partie décrit le site d'étude ainsi que l'espèce étudiée avant de faire état du matériel et des méthodes utilisées pour la collecte des données présentées dans les chapitres qui suivent. Les spécificités relatives à chaque partie sont précisées au sein de ces chapitres.

1. Site d'étude : la Grande Brenne

Bien qu'initié et réalisé par l'équipe de la Réserve Naturelle Nationale de Chérine, l'ensemble des suivis se situe dans le Parc Naturel Régional de la Brenne, plus précisément au sein de la Grande Brenne. Il existe de très nombreuses dénominations qui emploient le mot « Brenne » selon les considérations historiques, « rurales », administratives et naturalistes, qui font varier les noms et les surfaces de cette zone de la Brenne : Grande Brenne, Petite Brenne, Queue de Brenne, Brenne des étangs, PNR de la Brenne, pays de Brenne etc. Afin de faciliter la représentation et la dénomination, nous retenons pour ce mémoire l'appellation de « **Grande Brenne** » qui correspond au site Natura 2000, Zone Spéciale de Conservation : « **ZSC Grande Brenne** » (FR2400534), à l'exclusion de l'îlot de l'étang des Loges plus à l'est. La dénomination **Brenne** est également employée dans certains chapitres. La référence géographique reste toutefois la même (figures 2 et 3).

Il s'agit d'une zone de plus de 58 000 ha, où se concentrent des étangs essentiellement voués à la pisciculture depuis le Moyen Âge. Actuellement, le nombre d'étangs en Grande Brenne n'est pas connu avec précision. Des estimations sont en cours et fluctuent en fonction des définitions et des sources. Toutefois, afin de donner un ordre d'idée, les connaissances actuelles concernant le Parc Naturel Régional de la Brenne (183 000 ha, dont la Grande Brenne est une partie), portent ce chiffre à environ 4 000 « plans d'eau » (Benarrous, 2017). Des analyses cartographiques récentes indiquent un total de 5 340 « plans d'eau » pour une surface de 7 667 ha, dont 3 263 étangs (Hallard, Cherblanc & Saillard, 2017).

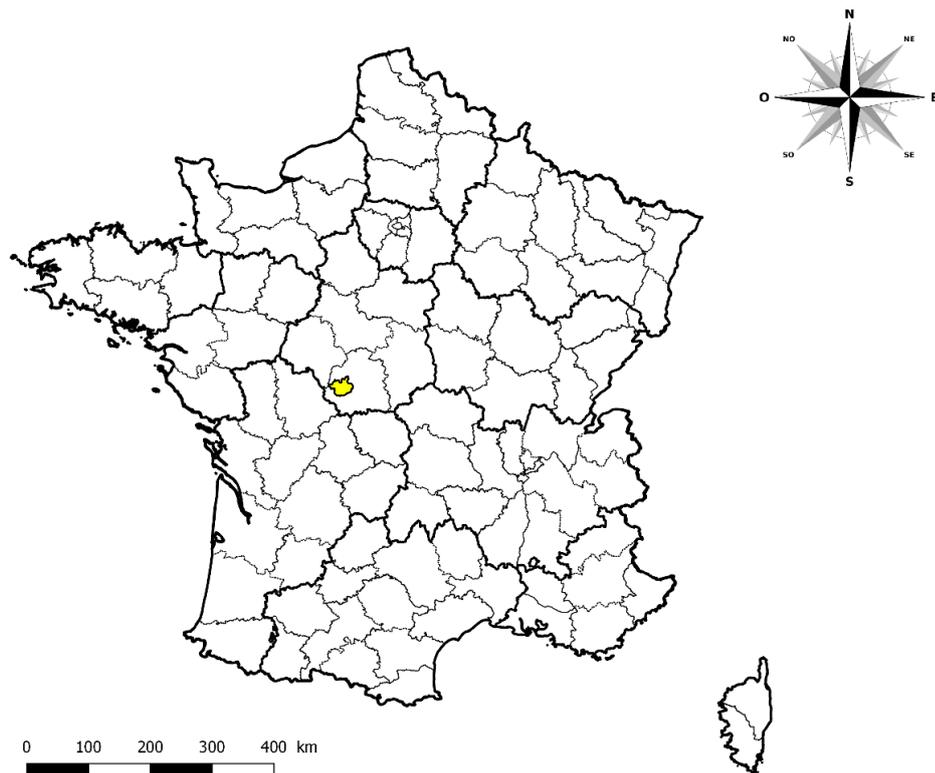


Figure 2 : Localisation générale du site d'étude (en jaune)
 Source : BDTOPO version 2.1 – 2015 et www.data.gouv.fr

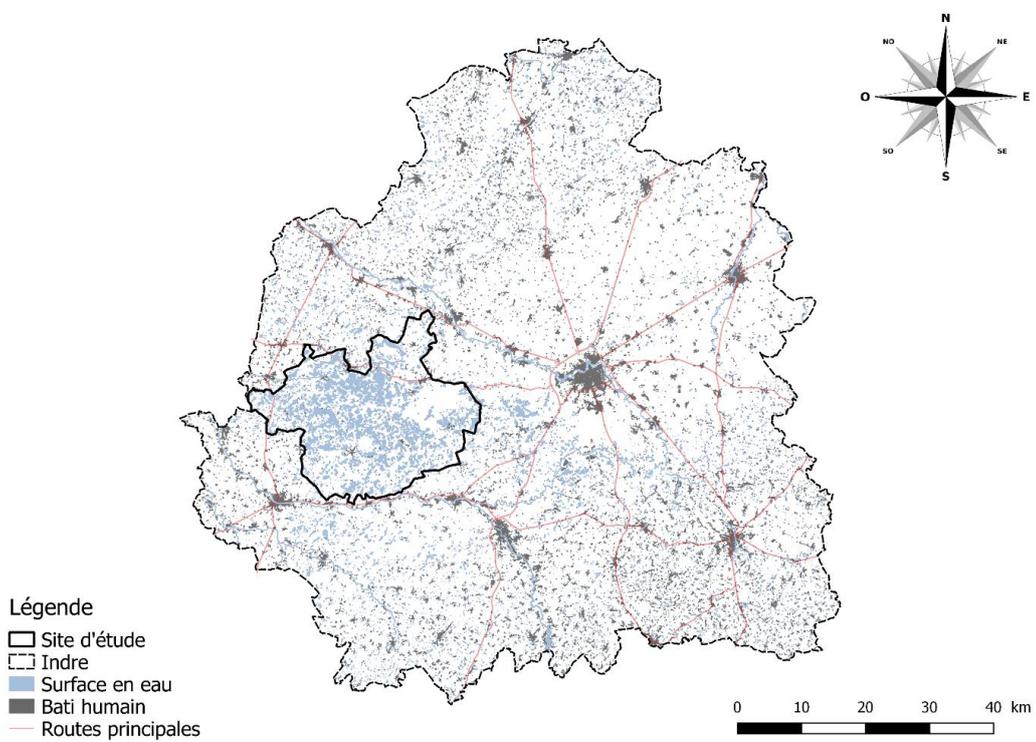


Figure 3 : Localisation du site d'étude dans le département de l'Indre (36)
 Source : BDTOPO version 2.1 – 2015 et www.data.gouv.fr

Afin d'appréhender l'entité paysagère et fonctionnelle qu'est la Grande Brenne, nous nous proposons ici de décrire les milieux et les éléments principaux qui la composent, en lien avec notre sujet d'étude : la Cistude d'Europe *Emys orbicularis*. Tout d'abord nous nous intéresserons à l'étang en lui-même, habitat des adultes, puis à son fonctionnement, et à ses utilisations. Nous présenterons également, de façon plus succincte, les terres aux alentours, habitats pour la ponte et les premières phases de vie des nouveau-nés.

1. 1. Définition d'un étang

L'**étang** est l'élément fondamental de la Grande Brenne, celui autour duquel tourne une grande partie de la société humaine et de la biodiversité. En effet, d'un point de vue social, les étangs ont été, et sont toujours, des sources de production et de subsistances pour les populations locales, à travers la pisciculture, auxquelles s'ajoutent aujourd'hui leur attrait touristique (ornithologie et paysages).

Mais intéressons-nous tout d'abord à la définition d'un étang. Vaste programme que celui de tenter de référencer les définitions de ce simple mot. Dans sa thèse sur l'histoire de la Grande Brenne, Benarrous (2017) a fait un inventaire riche et commenté des différentes considérations et définitions : géographiques, techniques, juridiques, écologiques, d'usages etc. En effet, ces définitions sont multiples selon les localités et les considérations. Ainsi, de nombreux auteurs, dans des articles ou des ouvrages sur les étangs proposent des définitions en lien avec leurs travaux (Oertli *et al.*, 2000; Richier & Broyer, 2014; Triplet, 2018)

Nous nous contenterons de reprendre les bases et de choisir une définition existante simple, qui puisse englober les entités qui nous intéressent.

Le dictionnaire Larousse nous indique qu'un étang est une « *étendue d'eau stagnante, naturelle ou artificielle, généralement de dimensions et de profondeur plus faibles qu'un lac. (Les écologistes réservent ce terme aux pièces d'eau artificielles susceptibles d'être vidées)* ». Cette définition floue caractérise bien les tentatives de définir des entités différentes sous la même dénomination d'étang.

C'est pourquoi nous retenons celle de l'Encyclopédie Universalis selon laquelle : « **par définition, un étang est un réservoir d'eau vidangeable et fait de main d'homme. Quand il n'est plus exploité, ni vidangé, il évolue vers un état d'équilibre qui l'apparente à un lac. En raison de ses caractères propres, et notamment de sa faible profondeur (en général 1 à 2 m), des facteurs y jouent un rôle moins important que dans un lac et d'autres voient leur action**

grossie. Ainsi, la stratification thermique y est moins nette, moins durable par suite d'une prise aux vents différente, et d'une profondeur moyenne moindre. La faible profondeur rend actifs jusqu'à la surface les phénomènes qui modèlent le fond. L'existence des étangs, liée à celle de l'homme, est également conditionnée par la présence de fonds imperméables, le plus souvent argileux ou marneux recouverts parfois de sables généralement siliceux. La flore phanérogame y trouve le moyen de se développer en ceintures caractérisées, depuis les colonies de Carex (laïches) du bord de l'eau jusqu'aux nénuphars, en passant par les roseaux (Phragmites), joncs et scirpes, potamots et autres plantes fixées ».

Les étangs sont donc des retenues d'eau vidangeables, ce qui implique la définition des éléments qui le composent. L'écoulement naturel de l'eau sur un sol imperméable est arrêté par une **chaussée** (ou *digue*) (figure 4), ce qui crée un plan d'eau en amont, de surface et de profondeur liées à la nature du relief. C'est pourquoi, sur notre site d'étude, les surfaces des étangs sont très variables. Certains font moins d'un hectare, et le plus important, la Mer Rouge, couvre une surface de 133 hectares. La majorité des étangs ont une surface comprise entre 1 et 10 hectares (Benarrou, 2017).

Bien qu'ils puissent être de grande taille, les étangs de la Grande Brenne sont de faible profondeur, entre 1 et 2 mètres de moyenne (Benarrou, 2017). Longtemps considérés comme des milieux creusés, ils ne le sont nullement, tout au moins pour les étangs « préindustriels » ou « traditionnels ». De nombreuses créations récentes ont toutefois été obtenues par creusement. Traditionnellement, seule la zone de la **pêcherie**, jouxtant la chaussée au plus bas de l'étang, est creusée. Cette pêcherie a pour rôle de maintenir une faible surface d'eau, afin de recueillir l'ensemble des poissons lors des vidanges ou assècs de pêche (cf. gestion des étangs). C'est également à cet endroit que se trouve l'ouvrage de gestion de l'eau, et donc de l'étang : la **bonde**. Cependant, la bonde n'est pas spécifique à l'étang, mais représente un système de gestion de l'eau qui sert dans d'autres configurations (canaux...). Confectionnées pour retenir ou laisser s'échapper l'eau à mesure des besoins, la bonde était traditionnellement en bois. Elle a ensuite été modernisée au cours des temps, mais le principe est resté le même (avec toutefois des variantes techniques). Ainsi, cette bonde se compose d'une *conche*, sorte de tuyau qui traverse la chaussée sur toute sa largeur. Ce conduit permet alors à l'eau de s'évacuer lors de l'ouverture de la bonde. Cette ouverture se réalise grâce à la levée du *pilon* qui obstrue l'entrée de la conche lorsque la bonde est en position fermée. Dernier élément technique de gestion de l'eau de l'étang : le **déversoir**. Il

s'agit d'un système de trop-plein qui permet l'écoulement des eaux pour maintenir un niveau maximal et ainsi éviter à l'eau de passer au-dessus de la chaussée. Suivant la morphologie du bassin versant de l'étang, nous retrouvons une ou plusieurs **queues** d'étangs, bien souvent à l'opposé de la chaussée par rapport à l'écoulement de l'eau. Suivant leur surface, les étangs peuvent être équipés de plusieurs bondes et de plusieurs déversoirs (Benarrous, 2017).

Les étangs de la Grande Brenne constituent donc des aménagements humains ayant tiré profit d'un contexte géologique particulier. Ce contexte crée un écoulement général de l'eau qui court de l'est vers l'ouest au sein d'un vaste chevelu hydrographique. Des chaussées créées sur ces chevelus ont donné naissance à autant d'étangs, qui se voient donc distribués en chaînes. Il en résulte une nécessaire organisation dans la gestion de l'eau, selon des intérêts que nous verrons plus loin.

Ainsi l'étang, bien qu'artificiel grâce à un gradient de profondeur croissant de la queue à la chaussée, crée des habitats propices à de nombreuses espèces aquatiques. De plus, le nombre important d'étangs constitue une mosaïque favorisant une grande diversité de milieux et d'espèces.

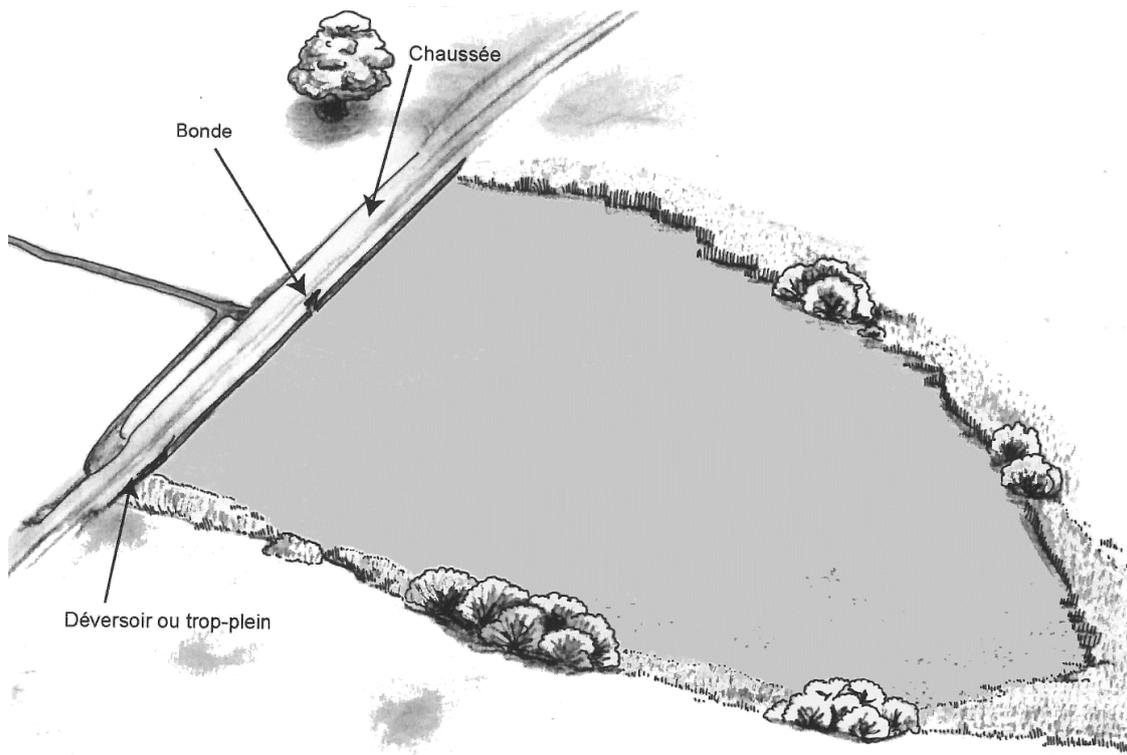


Figure 4 : Schéma d'un étang (© Ecomusée de la Brenne)

1. 2. Le réseau d'étangs

Les « *chaînes d'étangs* » (figure 5), variées dans leurs ramifications et le nombre d'étangs qui les composent, sont toutes reliées à des collecteurs principaux (Benarrous, 2017). Ces collecteurs se déversent ensuite dans le réseau des principaux cours d'eau¹ de la Grande Brenne. Selon nos limites choisies de la Grande Brenne, il s'agit du Suin au sud (affluent de la Creuse), et de la Claise au nord. Ce dernier cours d'eau, également affluent de la Creuse, a plusieurs affluents dont, principalement, l'Yoson et le ruisseau des Cinq Bondes. Cette disposition implique une organisation entre propriétaires/gestionnaires dans la gestion des étangs et plus particulièrement de l'eau.

En effet, le contrôle de l'écoulement de l'eau dans les étangs est un facteur primordial dans leur gestion, leur utilisation et leur valorisation. Cet aspect a d'ailleurs créé des us et coutumes en vigueur depuis le Moyen Âge. Depuis cette époque, la ressource en eau est au cœur de débats et conflits, surtout en période de sécheresse (Bédoucha, 2011). Ceci en raison de l'usage et de l'approvisionnement en eau, mais également de sa qualité, dans le contexte prévisionnel de sa raréfaction. Cet aspect est par ailleurs fortement influant et impactant pour les éléments qui nous intéressent, à savoir les habitats de nombreuses espèces liées à l'eau telle que la Cistude d'Europe.

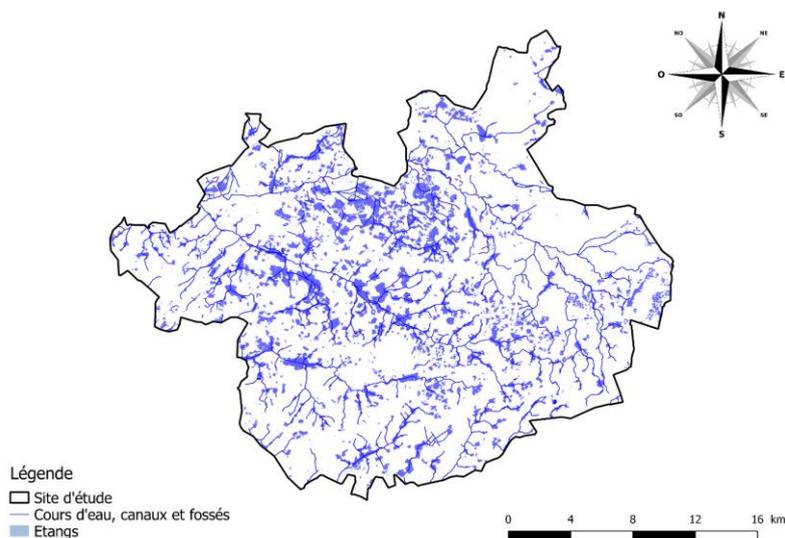


Figure 5 : Organisation du réseau hydrographique en chaînes d'étangs

Source : BDTOP0 version 2.1 – 2015 et www.data.gouv.fr

¹ Dénomination actuellement en débat, certains parlent de fossés ou de canaux

1. 3. La gestion des étangs

La gestion des étangs est étroitement liée à leur utilisation, à savoir la production de poissons. Cette pisciculture perdure depuis le Moyen Âge central (X^{ème}-XIII^{ème} siècle), connaissance que l'on doit à une datation isotopique (Benarrous, 2017). Avec l'évolution des techniques et des besoins, les pratiques ont évolué au cours des temps, mais les principes fondamentaux de cette pisciculture d'étangs continentaux restent les mêmes ; ils sont décrits dans les paragraphes suivants.

1. 3. 1. Assec de pêche

La pêche est généralement annuelle et se déroule en principe sur une ou 2 journées en fonction des surfaces et des quantités de poissons produits. La période des pêches a lieu de l'automne à la fin de l'hiver, voire au début du printemps. Pour ce faire, l'étang est vidé de son eau pour ne garder qu'une pièce d'eau de la taille de la pêcherie (cf. définition d'un étang), où le poisson se retrouve pour être prélevé à l'aide de filanches (épuiettes sans manches). Une fois la pêche terminée, la bonde est refermée et l'étang est alors prêt à recevoir l'eau de celui situé en amont, qui sera pêché à son tour, et ainsi de suite en remontant la chaîne des étangs.

Il existe aujourd'hui une disparité dans la fréquence des assecs de pêche au regard du nombre importants d'étangs. En effet, tous les étangs ne sont pas pêchés annuellement. Toutefois, les plus grands et la plupart d'entre eux le sont de cette manière. De plus, selon le cycle de l'espèce principalement produite en Brenne, la Carpe commune *Cyprinus carpio*, les utilisations des bassins, voire des étangs, peuvent différer en fonction des stades produits.

1. 3. 2. Assec « d'entretien »

La dynamique naturelle de ces retenues d'eau artificielles tend vers un envasement et un comblement qui nécessite un entretien périodique pour maintenir un milieu permettant une production piscicole. Ainsi, régulièrement, de façon traditionnelle tous les 7 à 10 ans, l'étang n'est pas remis en eau après la pêche. Cette périodicité fluctue notablement en fonction des caractéristiques des étangs, de leur exploitation et de leur gestion. Les étangs ainsi laissés sans eau jusqu'à la saison de pêche suivante, soit de quelques mois à un an. Cette pratique permet leur entretien. Il s'agit notamment de procéder à la réparation de la bonde si nécessaire, au curage de la pêcherie, à la réimperméabilisation de la chaussée. L'assec permet

également une minéralisation des vases et un assainissement dans le cadre de pathologies potentielles affectant les poissons. Traditionnellement, l'espace libéré des eaux était utilisé à des fins de production de céréales, ou de pâturage, voire de fauchage (au même titre que les terres avoisinantes, cf. § les terres avoisinantes). Ces pratiques sont aujourd'hui beaucoup moins courantes. Au-delà de ces usages, l'assec d'entretien permet également d'effectuer un chaulage (pour augmenter le pH de l'eau), et une fertilisation (minérale ou organique), bien que actions puissent aussi être conduites en période d'évolage² (Otto-Bruc, 2001).

1. 3. 3. Les poissons produits

Les poissons produits n'ont pas changé depuis l'apparition de la pisciculture en Brenne. L'espèce principalement élevée est la Carpe commune *Cyprinus carpio*. A cette espèce, au centre de la pisciculture, s'ajoute le brochet, la tanche, le gardon, le sandre, la perche commune, le rotengle etc. (Benarrous, 2017). Malheureusement, il n'existe pas de liste exhaustive et de quantités produites associées (Benarrous, 2009).

La cistude a la possibilité de se nourrir des poissons produits les plus faibles ou morts. A l'inverse, les poissons peuvent avoir un impact direct sur les cistudes ; les plus gros carnivores tels que les brochets peuvent se nourrir des plus jeunes tortues. Ils peuvent également avoir un impact sur le milieu, le comportement fouisseur des carpes met en suspension les sédiments. Ainsi, le lien entre la cistude et son milieu est étroitement lié aux espèces de poissons présentes, mais surtout à travers les choix de gestion piscicole que cela implique (densité, amendement...).

1. 3. 4. Gestion piscicole

Au-delà des espèces présentes et de la gestion des assecs, un des éléments qui peut fortement impacter l'étang en tant qu'écosystème est le choix de la méthode de production : choix des espèces produites et des moyens employés pour leur croissance. En effet, à l'image de la production agricole, la pisciculture peut aller d'une production douce à une production plus intensive. Ainsi, au cours du 20^{ème} siècle, la pisciculture française a considérablement évolué, passant d'une gestion dite « traditionnelle » à une gestion extensive qualifiée de « rationnelle » (Benarrous, 2009). Aujourd'hui le qualificatif « intensif » est également employé. Toutefois, certains étangs n'ont pas vocation à une rentabilité ; il existe alors des

² Période pendant laquelle un étang est en eau et consacré à la pisciculture

étangs non « productivistes » dits « plus doux » ou « d’accompagnement » visant à maintenir des milieux liés à des pratiques traditionnelles. Entre la pisciculture « intensive » et celle qualifiée « d’accompagnement » ou « extensive », de nombreux cas de figure existent. Dans les résultats que nous présentons, les étangs étudiés sont rattachés à l’un ou l’autre des deux types de pisciculture évoqués (intensive ou extensive) en fonction du rôle joué par les facteurs dont la présentation suit.

Nourrissage

Il n’existe pas, à notre connaissance, de données chiffrées sur le nourrissage : matières, tonnages, fréquences, nombre d’étangs etc. Selon nos observations et nos échanges avec les producteurs locaux, seuls les étangs produisant de la carpe seraient affouragés avec des céréales, essentiellement du maïs concassé. Comme nous l’avons vu, la production de Carpe commune *Cyprinus carpio* est majoritaire en Brenne. Cette production est souvent liée à du nourrissage manuel ou automatisé. Toutefois, certains « étangs à carpes » ne le pratiquent pas. De plus, le cycle de l’élevage de cette espèce se produit sur 3 années, et confère une gestion spécifique aux étangs accueillant les différents stades. A titre d’exemple, nous avons constaté l’emploi de 25 tonnes de maïs sur un complexe d’étangs de 35 hectares, soit 0,7 tonnes de maïs par hectare d’eau, au cours de la saison de production (printemps/été). Il ne semble pas y avoir d’autres sources de nourrissage, notamment pour les espèces carnivores (FAReC³, com. pers.), comme c’est le cas avec des granulés de farines animales pour les élevages de truites. Toutefois, dans sa thèse sur la végétation des étangs de Brenne, Otto-Bruc (2001) signale des variations de nourrissage de 60 à 300 kg/ha/an. De plus, l’auteure indique également que « *Depuis deux ans, les granulés sont garantis sans farines animales par les fabricants et depuis un an, sans OGM (organisme génétiquement modifié). Les granulés sont à base de farine de poisson de mer, mais des essais à la Station Expérimentale Piscicole Interrégionale du Blanc visent à tester des farines végétales riches en protéines dont le coût d’achat est moins élevé (Darreau comm. pers.)* », ce qui sous-entend que l’emploi de granulés à base de farine animale ont eu lieu en Brenne.

Oxygène

L’étang, au-delà des considérations physiques, est un écosystème vivant qui a des limites dans ses capacités d’accueil, de charges, d’échanges etc. Ainsi, il n’est pas rare que,

³ Fédération Aquacole de la Région Centre

dans des conditions particulières, l'oxygène vient à manquer et ainsi impacte ses hôtes et par conséquent la « production ». La mesure alors employée par les pisciculteurs à l'heure actuelle, pour pallier ce déséquilibre, est l'épandage d'azote à la surface de l'eau pour dynamiser la production d'oxygène par le phytoplancton (producteur primaire), tout du moins durant la journée.

Végétation aquatique

La végétation des étangs constitue une zone essentielle pour le cycle de vie des cistudes, que ce soit comme zone de refuge ou d'alimentation. Au début du siècle, les étangs de la Brenne étaient presque entièrement recouverts de végétation jusqu'en leur centre, du fait de leur faible profondeur (Rallet, 1936). Cette végétation aquatique est cependant vue comme un frein à la production piscicole (Benarrous, 2017). Ainsi, la pisciculture a longtemps lutté contre cette végétation afin d'obtenir un maximum d'eau libre. Cette lutte menée, bien souvent de façon mécanique par le faucardage, l'a également été par le feu (Rallet, 1936), et à l'aide de la chimie à partir des années 1970 (Otto-Bruc, 2001). La situation actuelle n'est plus à l'effort de lutte contre le développement de cette végétation ; des espèces comme le Ragondin *Myocastor coypus* s'en chargent, allant de pair avec une turbidité croissante des étangs. A l'inverse, des programmes de réimplantation de nénuphars ont lieu. Cependant, nous constatons encore des « nettoyages » de queues d'étangs (touradons de carex).

Soins aux poissons

Il n'y a pas, à notre connaissance, d'emploi de produits vétérinaires liés à production des carpes et des autres poissons en Brenne.

L'ensemble des éléments précédents permet de faire ressortir le contexte, à la fois des principaux milieux de vie aquatique qui accueillent les populations locales de Cistudes d'Europe en Brenne, mais également la gestion associée à ces milieux, qui peut affecter l'espèce.

L'aspect historique n'est pas ici abordé ; toutefois nous précisons simplement qu'au-delà des pratiques, les surfaces en eau ont également beaucoup varié aux cours des temps, à mesure des intérêts fluctuants apportées par la pisciculture (Trotignon, 2015).

1. 4. Les terres avoisinantes

Les paysages actuels, où dominant aujourd’hui les prairies et les bois (Mansons, Pellé & Airault, 2012) n’ont pas toujours eu cette occupation des sols. En effet, les landes, bien présentes dans la première moitié du XIX^{ème} siècle, ont peu à peu laissé la place au travail de la terre, avec des labours qui occupaient presque les trois-quarts d’une commune comme Saint-Michel-en-Brenne en 1950 (Trotignon, 2015).

La géologie de la Brenne, qui a permis la création des étangs par ses capacités de rétention d’eau, influe également énormément sur les types de prairies présentes. Celles-ci sont essentiellement hygromorphes et acides. Toutefois, les microreliefs qui s’échelonnent des fonds d’étangs au sommet des buttes, permettent un gradient d’hygrométrie des prairies situées à proximité immédiate de ces étangs (figure 6). De plus, ces sols fortement chargés en argile présentent également un gradient d’humidité très particulier au cours des saisons, et ce en fonction de la pluviométrie. En effet, très humides pendant l’automne et l’hiver, ils peuvent le rester durant le printemps, mais deviennent très secs durant l’été. Cette spécificité des sols, pauvres et humides, ne permet pas une exploitation rentable dans le cadre de l’agriculture moderne. C’est pourquoi, depuis la seconde moitié du XX^{ème} siècle, la culture céréalière a laissé place à l’élevage extensif de bovins, principalement pour la viande. Cependant, plus récemment, la friche a gagné du terrain sur les prairies en raison, soit de l’abandon de parcelles, soit du développement des loisirs cynégétiques (Trotignon, 2015). Ainsi, depuis peu, les milieux ouverts qui servaient de sites de ponte pour la cistude se sont-ils progressivement fermés.

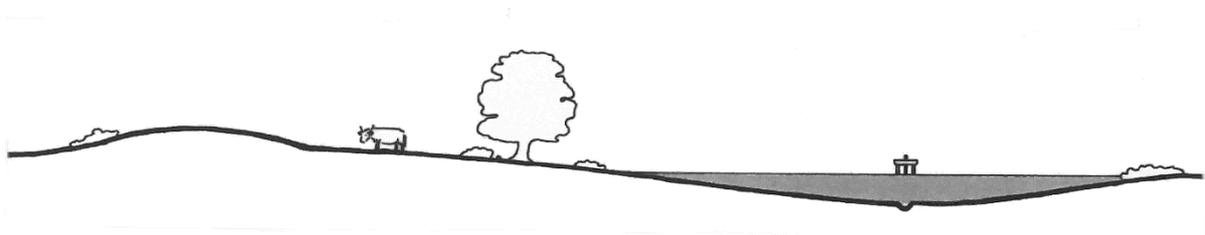


Figure 6 : Place de l’étang dans le relief (© Ecomusée de la Brenne)

La Grande Brenne, où s'entremêlent les réseaux de prairies et d'étangs, a donc tous les milieux requis pour permettre à la Cistude d'Europe *Emys orbicularis* de pouvoir réaliser l'ensemble de son cycle vital. C'est pourquoi cette région, dite « des mille étangs », accueille certainement une des plus importantes populations françaises de l'espèce.

Cependant, selon les usages, l'étang peut être vu comme un agrosystème, lieu de production, ou un écosystème, lieu de vie. Les espèces sauvages qui peuplent ce milieu, créé par l'homme sont alors fortement tributaires des modes de valorisation décidés par les « utilisateurs » de ce milieu.

Les résultats que nous présentons dans les pages qui suivent ont pour but de préciser le rôle joué par les spécificités naturelles et soci-économiques de la Grande Brenne dans la conservation de la Cistude d'Europe.



Figure 7 : Etang Ricot vu du ciel

2. Espèce étudiée

2.1. Description

Espèce protégée, la Cistude d'Europe *Emys orbicularis* est une petite tortue d'eau douce généralement de couleur sombre et dont la peau est piquetée de jaune. Les pattes sont palmées et munies de fortes griffes. La taille varie entre 10 et 20 cm et la masse n'excède que rarement 1 kilogramme. Le plastron, élément inférieur de la carapace, présente une grande variabilité de coloration entre le noir, le jaune et l'orangé, qui peut varier au cours du temps chez un même individu. La dossière, partie supérieure de la carapace, est, quant à elle, plus uniforme et sombre. Il existe un dimorphisme sexuel plus ou moins prononcé en fonction des individus. Les femelles sont plus grandes et plus lourdes que les mâles. Le cloaque est plus distant de la carapace chez le mâle, et son plastron est concave. Ces deux aspects servent lors des accouplements. La femelle, plus massive donc, a un plastron plat et un volume de carapace plus important, spécificité également importante pour la reproduction (production des œufs volumineux). Chez les plus jeunes individus, le sexage n'est pas possible par les caractères sexuels secondaires. La sous-espèce présente en Brenne est *Emys orbicularis orbicularis* (Linnaeus, 1758) (Fritz *et al.*, 2005).

2.2. Répartition

La Cistude d'Europe est une espèce de plaine dont l'aire de répartition moderne s'étend de la péninsule ibérique à l'ouest, jusqu'à la mer d'Aral à l'est, et de la Lituanie au nord jusqu'au Maghreb au sud (figure 8). Cette répartition, qui a fluctué au gré des glaciations, a été plus vaste et plus nordique (Sommer *et al.*, 2007).



Figure 8 : Répartition mondiale de la Cistude d'Europe
(Priol, 2009 ; d'après Olivier, 2002)

En France, l'aire actuelle est donc le reflet de l'histoire climatique de l'ouest paléarctique, qui a poussé vers le sud la limite nord de répartition (figure 9). A cela s'ajoutent les impacts plus récents des activités humaines tels que la destruction des habitats. C'est pourquoi actuellement, en France, elle peut être considérée comme méridionale avec des populations morcelées dont la plus nordique serait en Sologne. La Brenne constitue toutefois une des plus importantes populations françaises avec la présence de fortes densités, néanmoins nettement inférieures aux densités observées plus à l'est (Italie, Hongrie, Ukraine) (Owen-Jones, 2015).

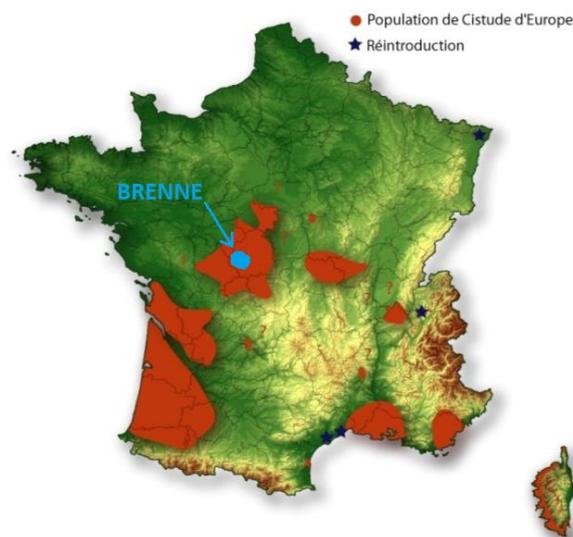


Figure 9 : Répartition française de la Cistude d'Europe (d'après Priol, 2009)

2. 3. Ecologie

La Cistude d'Europe a besoin de deux habitats principaux : le milieu aquatique, pour les juvéniles et les adultes, et un espace terrestre découvert pour la ponte. S'ajoute à cela la nécessité de corridors entre ces deux milieux.

2. 3. 1. Habitats aquatiques

La cistude fréquente de nombreux types de milieux humides, à la fois lenticules et lotiques : étangs, lacs, canaux, tourbières, marais d'eau douce à légèrement saumâtre, mares permanentes voire temporaires, rivières, embouchures de fleuve, petits torrents à débit temporaire etc.

2. 3. 2. Habitats terrestres

La femelle recherche préférentiellement pour la ponte des espaces ouverts et bien exposés à l'ensoleillement. La nature du sol est également importante : sableuse, argilo-limoneuse, ou présentant un mélange de terre et de sable. Les sites sélectionnés par les femelles dépendent des milieux à disposition à proximité des habitats aquatiques. Sur notre site d'étude, il s'agit avant tout de milieux prairiaux à végétation plutôt rase (Owen-Jones & Thienpont, 2011). Toutefois, des pontes sur des sols travaillés par l'agriculture (labour) sont observées. Ces milieux remplissent les deux conditions principales de nature du sol et d'exposition. Pour ces mêmes raisons, les digues, les chemins, les bords de routes sont également utilisés. Toutefois, dans des contextes particuliers, les pontes peuvent être réalisées dans des milieux *a priori* non propices, tels que des prairies à végétation haute et dense ou encore des boisements. La ponte peut se faire à proximité immédiate de l'habitat aquatique (1 mètre) ou bien à plusieurs centaines de mètres de celui-ci.

2. 4. Biologie

Nous présentons ici quelques aspects de la biologie de l'espèce, non pas à des fins d'exhaustivité sur les connaissances actuelles, mais afin d'acquérir les bases nécessaires à la compréhension des développements présentés dans de ce mémoire.

2. 4. 1. Généralités

La cistude est une espèce longévive, qui peut atteindre 120 ans en captivité (Rollinat, 1934). En milieu naturel, cette capacité semble également atteinte (Jablonski & Jablonska,

1998). Pour le moment, nous ne disposons pas de suivis suffisamment longs pour juger de cette capacité localement, bien que des cistudes avec des trous circulaires dans la partie marginale de la carapace puissent dater de plusieurs dizaines d'années, à l'époque où les jeunes bergers, en charge du pâturage des troupeaux d'ovins et/ou de caprins, s'amusaient à attacher les cistudes comme « animaux de compagnie ».

Deux principales classes d'âges sont définies : les **adultes** et les **juvéniles**, bien que certains indiquent une classe intermédiaire, les sub-adultes. La différenciation se fait par l'observation des lignes de croissance. En effet, les juvéniles sont les individus en cours de croissance chez qui ces zones sont visibles sur la carapace (lignes plus claires sur le plastron). En revanche, les adultes ne marquent plus cette croissance importante. En raison du cycle de vie (voir plus bas), cette croissance est momentanément arrêtée au cours de l'hiver, ce qui permet de donner un âge plus ou moins précis aux juvéniles, mais n'est plus possible chez l'adulte. Pour ces derniers, des classes d'âge ont été définies (1, 2, 3, 4). Toutefois, basée sur l'usure du plastron, leur évaluation est quelque peu subjective, et ne permet pas, à nos yeux, une appréciation rigoureuse. Cette usure est fortement liée à la nature du substrat dans lequel évoluent les cistudes. De plus, en raison de la forme du plastron, elle n'est pas identique entre mâles et femelles. Pour ces raisons, les classes d'âges n'interviennent pas dans nos analyses. Cependant, une autre classe est considérée : l'**émergent**. Il s'agit plus d'une précision du stade juvénile, car nous considérons l'émergent comme le nouveau-né qui sort du nid au cours de la saison ; en d'autres termes, il s'agit d'un juvénile de moins d'un an.

2. 4. 2. Cycle de vie

La cistude étant un reptile (donc un vertébré ectotherme), elle a besoin de source extérieure de chaleur pour ajuster son métabolisme aux différents besoins liés à son activité. Par conséquent, l'espèce est fortement tributaire des conditions de l'environnement, et principalement de la température, ce qui influence son comportement et ses activités. Selon les régions climatiques et les variations météorologiques, les caractéristiques de son cycle de vie peuvent fluctuer, mais ce dernier est globalement le suivant : la phase d'activité s'étale des mois de février/mars à octobre/novembre ; c'est durant cette période que la cistude réalise l'ensemble de ses activités vitales (alimentation, croissance, reproduction, déplacements etc.). On observe un ralentissement de l'activité au cours des mois les plus chauds (fin d'été), voire une estivation dans les zones les plus méridionales (qui correspond à

un repos estival, pour éviter les températures les plus élevées). A l'approche de l'hiver et des conditions les plus rigoureuses, les cistudes gagnent des zones d'hivernage pour entrer en vie ralentie, et attendre le retour des conditions plus favorables à la fin de l'hiver, voire le début du printemps suivant. Elles gardent toutefois la capacité de réaliser de légers déplacements au cours de cette étape de leur cycle.

2. 4. 3. Reproduction

La fin de la croissance précède de peu la maturité sexuelle chez les chéloniens. Cet âge peut être déterminé par l'utilisation des marques de croissances des écailles (Castanet, 1988). L'âge d'accès à la reproduction est identifiable par le nombre de stries de croissance bien visibles. A l'âge adulte, une croissance très faible et peu marquée est possible, et ne laisse apparaître alors qu'un espace « inter-stries » très faible voire quasi-nul. Cette lecture s'estompe avec le temps et l'usure de la carapace. Nous précisons toutefois, que des femelles juvéniles ont pourtant été observées gravides lors de nos suivis. Ce procédé de détermination de l'âge d'accès à la reproduction a toutefois l'intérêt de définir un âge pour les mâles et permettre les comparaisons entre populations. En effet, sans cela, il ne serait pas possible de définir un âge d'accès à la reproduction pour les mâles. Chez les femelles en revanche, la palpation permet de mettre en évidence la présence ou l'absence d'œufs. Cette maturité sexuelle est acquise de façon variable en fonction des zones considérées. Toutefois, une constante existerait : les mâles acquièrent leur maturité de façon plus précoce. Pour les femelles, en Brenne, la plus jeune gravide avait 7 ans (Owen-Jones, 2015) contre 4 ans en Camargue (Olivier, 2002). En revanche, si l'on considère, sur la base de données collectées, que l'âge d'accès à la reproduction intervient au moment de l'arrêt de croissance, il se situerait, pour la Brenne, entre 7 et 17 ans pour les femelles, et entre 6 et 15 ans pour les mâles (Owen-Jones, 2015).

Les accouplements ont principalement lieu en début de saison d'activité des adultes, dès le mois de mars, mais surtout en avril-mai. Toutefois, ils peuvent s'étaler tout au long de la période annuelle d'activité, ce que nous avons pu constater à plusieurs reprises.

Les pontes ont lieu principalement de la mi-mai à la fin juillet. La majorité des femelles réalise une ponte au cours de l'année. Cependant, à mesure que l'on s'oriente vers le sud de sa répartition, les femelles peuvent réaliser deux, voire trois pontes au cours de la saison. Toutes les femelles d'une même population ne participent pas forcément à la reproduction.

En Brenne, des cas de doubles pontes ont été observés mais restent rares. Pour réaliser la ponte sur des sols argilo-sableux pouvant être particulièrement durs lors de cette période, la femelle charge préalablement ses vessies lombaires d'eau qu'elle libère pour ameublir l'emplacement du nid. Généralement, elle quitte le milieu aquatique en fin de journée, puis la ponte est effectuée au cours de la nuit, avec une durée variable selon la nature du sol : de l'ordre de 2 heures à plus de 10 heures. En cas d'échec, la femelle peut rester à terre et attendre la nuit suivante pour une nouvelle tentative.

Le développement embryonnaire dure environ 80 jours (Rollinat, 1934; Rovero & Chelazzi, 1996; Novotný, Danko & Havaš, 2004), voire entre 55 et 75 jours en conditions contrôlées (Pieau, 2004), ce qui signifie que les éclosions peuvent avoir lieu dès le mois d'août et jusqu'au mois d'octobre. Une fois éclos dans le nid, les nouveau-nés devront en sortir. Cette phase, dite d'émergence, diffère en fonction des régions climatiques et des conditions météorologiques. Ainsi, au sud de son aire de répartition, les émergences ont lieu au cours de l'automne. A l'inverse, plus au nord, les nouveau-nés restent dans le nid pour y passer la saison froide, et émerger à la fin de l'hiver ou au début du printemps. Toutefois, il s'agit là de généralités : les émergences automnales au nord sont possibles et observées (rarement), de même qu'au sud les nouveau-nés peuvent passer l'hiver dans le nid.

Si les conditions d'incubation des œufs de cistude sont bien connues, notamment sur le fait que le sexe des individus est déterminé par la température d'incubation, les connaissances sur la biologie des émergents relèvent plutôt des suppositions. L'idée que nous avons de cette phase, *a priori*, est semblable à celle qui caractérise les tortues de mer dont les nouveau-nés sortent tous en même temps pour gagner au plus vite le milieu aquatique, dans une sorte de « ruée vers l'eau ». Les informations sur le devenir des émergents de Cistude d'Europe et leur utilisation des habitats disponibles juste après la sortie du nid en milieu naturel sont quasiment inexistantes. Il s'agit là d'une zone d'ombre importante de la connaissance du cycle de l'espèce.

2. 4. 4. Régime alimentaire

La Cistude d'Europe est une espèce opportuniste dont le régime alimentaire peut être qualifié d'omnivore plus que de carnivore (Ottonello, Salvidio & Rosecchi, 2005; Ficetola & De Bernardi, 2006). Il évolue au cours des saisons et de l'âge des individus (Ottonello *et al.*, 2005; Çiçek & Ayaz, 2011, 2011). Charognarde dans les étangs, la cistude est capable de consommer

des cadavres de vertébrés (poissons, oiseaux, mammifères...), mais également de chasser des invertébrés aquatiques (larves, gastéropodes, vers...) et des poissons malades. Elle peut également se nourrir de végétaux aquatiques (Ottonello *et al.*, 2005), et participe même à la dispersion et à la germination des Nénuphars blancs *Nymphaea alba* (Ayres, Calviño-Cancela & Cordero-Rivera, 2010). Ce que nous avons également observé pour les Nénuphars jaunes *Nuphar lutea*.

2. 4. 5. Mobilité

L'espèce peut être considérée comme peu mobile. Sa philopatrie n'empêche pourtant pas la colonisation de nouveaux milieux sur le long terme (cf. § répartition). C'est le cas de la Brenne, région artificielle d'étangs autrefois occupés par des boisements (cf. § site d'étude). De manière générale, les études indiquent que les mâles sont plus mobiles que les femelles. Ils assurent ainsi le brassage génétique au sein des populations, surtout en début de saison d'activité, à la sortie de l'hivernage (mars/avril). Les femelles se déplacent essentiellement pour la ponte de mi-mai à mi-juillet, puis regagnent leur zone de vie. Ces déplacements engendrent des risques de mortalité sur le réseau routier. Au-delà de ces déplacements naturels, la gestion et la disponibilité en eau, ainsi que nous l'avons vu plus haut, influent sur le comportement des individus. En conséquence, la mise en assec prolongé des étangs de la Brenne, pour leur entretien implique un déplacement massif vers les étangs les plus proches et les mieux connectés (Owen-Jones *et al.*, 2016).

2. 4. 6. Prédation

Les adultes sont quasiment exempts de prédateurs. En revanche, le stade œuf peut subir une forte pression de prédation avec de grandes variations selon les sites. En Brenne, il serait compris entre 79 et 96% (Servan, 1989), ou encore estimé à 70% sur la base d'un protocole recourant à de fausses pontes (Owen-Jones & Thienpont, 2011). Un protocole similaire effectué en Camargue montre un taux de 6% (Lombardini & Cheylan, 2004). Une étude sur des pontes naturelles indique, quant à elle, un taux de prédation de 85,7% sur un autre secteur de Camargue (Collet, 2003). La présence et la densité des prédateurs, la répartition des pontes, mais également la météorologie seraient des facteurs pouvant expliquer ces fluctuations. Les prédateurs du stade œufs sont essentiellement des mammifères : renard, blaireau, martre, fouine, putois, hermine, belette, raton laveur, rat... et le sanglier. Toutefois, ce dernier ne semble pas faire de recherches spécifiques des nids de

cistude, mais ingère les œufs lorsqu'il tombe sur un nid au hasard de ses fouilles. Nous n'avons pas connaissance de données concernant la prédation des juvéniles. Il semble toutefois, qu'aux prédateurs précédents s'ajoutent des oiseaux, tels que les corvidés, hérons, cigognes, mais également des poissons comme les brochets, les sandres, les silures etc. Les connaissances liées au début de la vie des émergents font également défaut.



Figure 10 : Utilisation des habitats de Brenne par la Cistude d'Europe (© F. Desbordes)

3. Méthodologie générale de terrain

Nous proposons de présenter la méthodologie générale réalisée ces dernières années pour les suivis de la Cistude d'Europe *Emys orbicularis*. Ces suivis sont les mêmes depuis de nombreuses années car la Réserve Naturelle Nationale de Chérine, et plus largement la Grande Brenne, est une zone d'étude de l'espèce depuis les années 1980. Toutefois, les techniques ont évolué mais les objectifs et les modalités sont restés les mêmes.

Nous présentons ici les méthodologies générales, les spécificités liées à chaque partie seront détaillées au sein des parties considérées.

3. 1. CMR

L'objectif principal de la méthode de **capture-marquage-recapture (CMR)** est de suivre la dynamique des populations étudiées. Ce qui permet alors de pouvoir estimer des tailles de population, des taux de survie et de dispersion. Le principe est simple, il s'agit de capturer les cistudes, de les individualiser (marquage) et de les relâcher. Les captures ultérieures de ces individus (recaptures) alimentent alors une base de données dont l'exploitation nous informe sur notre population. Les étapes sont détaillées ci-dessous.

3. 1. 1. Captures

L'essentiel des captures est réalisé par des campagnes de piégeage dans le cadre d'un protocole standardisé. Les étangs sont échantillonnés en fonction des objectifs d'acquisition de connaissance. En plus de ce piégeage, il existe des captures manuelles qui permettent des contrôles et/ou des marquages.

Les pièges utilisés sont des **verveux** placés perpendiculairement à la berge (figure 11). Les cistudes en déplacement se heurtent au filet qu'elles tentent de contourner, et entrent alors dans le piège. Des appâts y sont placés afin d'augmenter les probabilités de capture. Ces pièges sont disposés sur l'ensemble du pourtour de l'étang, espacés de 50 mètres les uns des autres. Toutefois, en fonction des possibilités et selon les conditions de terrain, certains étangs ne sont piégés que sur une partie de leurs berges. Ces conditions de piégeage sont alors reproduites dans le temps pour avoir une pression identique.



*Figure 11 : Capture par verveux
(photo J. Trotignon)*

Pour chaque étang, les campagnes annuelles sont réalisées au cours de 3 sessions de piégeage de 4 jours chacune. Ces 3 sessions sont étalées dans le temps au cours de la saison d'activité des tortues. Ceci permet d'obtenir des données représentatives de la population en raison de la biologie de l'espèce. En effet, comme nous l'avons vu plus haut, la mobilité des individus n'est pas la même selon les sexes et selon les saisons. Pour ces raisons, la période de piégeage se situe entre mai et juillet. Lors de chaque session, les pièges sont localisés à l'aide d'un GPS (système géodésique WGS 84) chacune se déroule de la façon suivante :

J0 : installation des pièges,

J+1 : les pièges sont relevés, les cistudes identifiées, marquées (si 1ère capture) et référencées. Suivants les protocoles en cours, des manipulations sont effectuées,

J+2 : idem,

J+3 : idem + retrait des pièges.

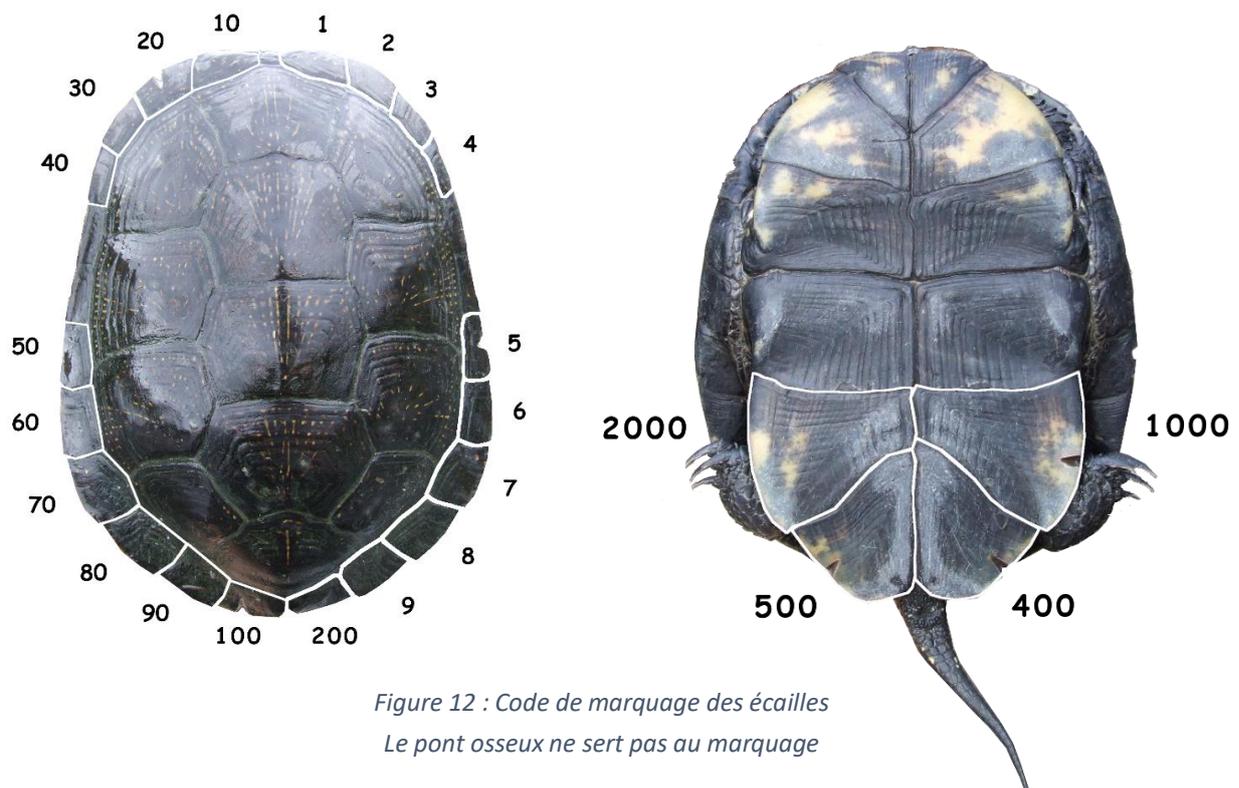
D'une session à l'autre, les pièges ne sont pas remis exactement au même endroit, mais déplacés d'environ 20 mètres par rapport à la session précédente.

3. 1. 2. Marquage et mesures

Chaque individu capturé est observé avec précision afin de déterminer s'il s'agit d'une première capture ou d'une recapture (contrôle). S'il s'agit d'une **première capture**, la cistude est alors individualisée à l'aide d'un code de marquage sur les écailles marginales de la dossière et sur le plastron (figure 12). Longtemps réalisé à l'aide d'une lime à métaux

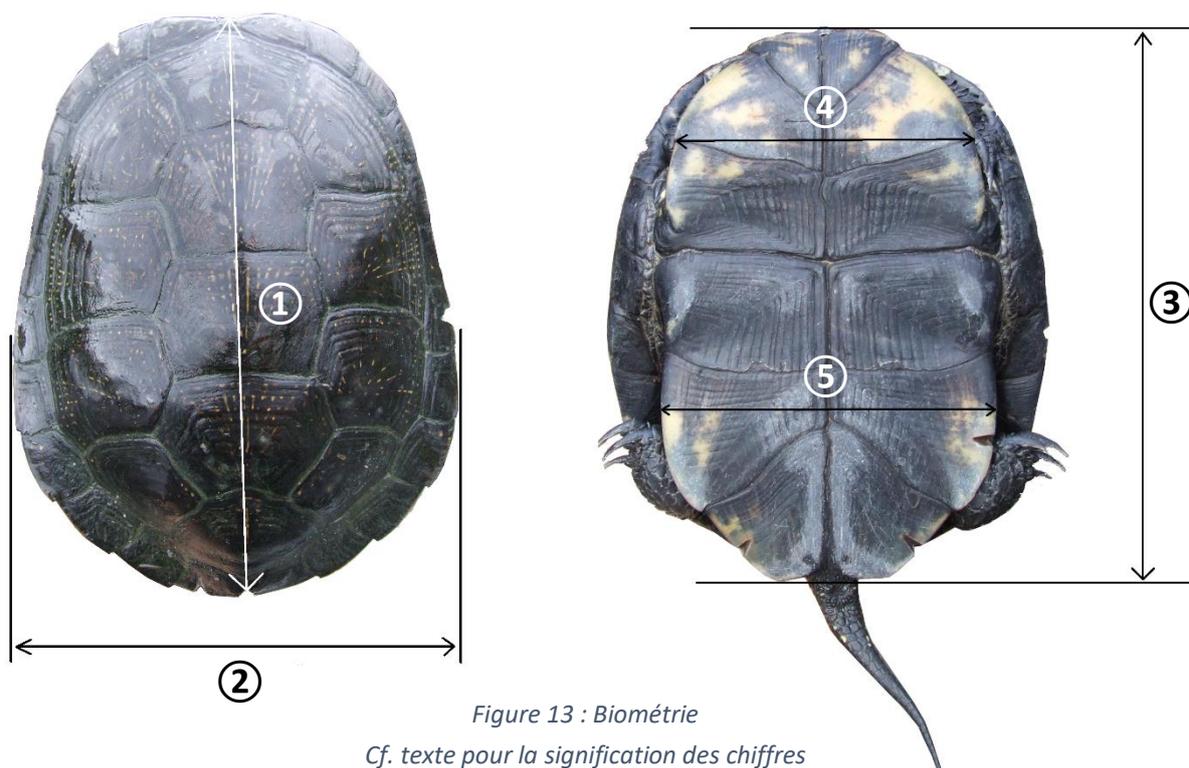
triangulaire, le choix s'est par la suite orienté vers l'utilisation d'une scie à métaux, suite à des difficultés de relecture. En effet, ce marquage plus net semble générer moins d'erreurs. C'est ce que nous avons pu constater lors d'échanges avec la Tour du Valat, où nous avons observé la qualité de conservation d'un marquage réalisé sur une cistude il y a 40 ans. Pour la première capture, l'individu est référencé (cf. § prises de mesures et observations diverses). S'il s'agit d'une **recapture**, le contrôle visuel du marquage est automatiquement validé par la prise de biométrie, ainsi que par les photos du plastron et de la dossière. Ceci permet un triple contrôle : marquage, biométrie et photo, limitant ainsi les erreurs de relecture. Lors de contrôles ultérieurs au cours de la même session, ces vérifications ne sont effectuées que pour les individus douteux. Et enfin, d'une session à l'autre, le procédé est le même puisque l'ensemble de ces manipulations est réalisé pour tout individu faisant l'objet d'une première capture dans la session. Les cistudes sont relâchées sur place à quelques mètres du piège et en direction opposée à celui-ci. La durée de manipulation dépend alors du nombre d'individus dans le piège, du nombre de première capture ou de recapture, et du nombre de protocoles en cours en plus de la CMR. En effet, c'est au cours de ces campagnes où nous avons des cistudes en main que nous réalisons simultanément divers suivis (mercure, algues...).

Des captures manuelles sont également réalisées sur le terrain au gré des investigations, les renseignements et procédés demeurent les mêmes.



3. 1. 3. Prise de mesures et observation diverses

Lors du marquage (première capture) une fiche individuelle est renseignée avec l'ensemble des données caractéristiques de l'individu (sexe, stade, biométrie, état reproductif pour les femelles...). Enfin, les photos du plastron et de la dossière viennent compléter les informations individuelles.



Les mesures effectuées sont détaillées ci-après. Les chiffres font références à la figure 13. Afin d'éviter les appréciations quant à l'emplacement des prises de mesures, nous les avons définies pour être le moins subjectif possible.

- ① : Longueur de la dossière (entre les encoches des écailles),
- ② : Largeur de la dossière (au plus large),
- ③ : Longueur du plastron (au plus large),
- ④ : Largeur avant du plastron (entre les sutures des écailles),
- ⑤ : Largeur arrière du plastron (au plus large).

Les mesures sont effectuées à l'aide d'un pied à coulisse ($\pm 0,01$ mm) et la masse corporelle est pesée avec une balance numérique (± 1 g). Les individus sont sexés lorsque le

dimorphisme sexuel le permet, à défaut ils sont notés « indéterminé ». Le stade est défini : adulte ou juvénile. Pour les individus en croissance (juvéniles), l'année de l'éclosion est renseignée d'après la lecture des stries de croissance. Nous précisons qu'il ne s'agit pas de l'année d'émergence, puisque celle-ci peut avoir lieu l'année N+1, N étant l'année de l'éclosion et de la ponte. L'âge peut alors être estimé.

L'état reproductif des femelles est systématiquement vérifié et renseigné. Celui-ci est évalué par palpation pelvienne manuelle, afin de déterminer si les femelles sont gravides ou non.

3. 2. Télémétrie

3. 2. 1. Principe

L'objectif principal de la télémétrie est d'estimer la localisation d'un animal (White & Garrott, 1990). Il existe plusieurs techniques pour ce faire, que l'on peut diviser en deux grandes catégories : celles utilisant la triangulation, et les autres, qui n'utilisent pas cette technique, telle que le « homing-in on the animal », ou encore le suivi aérien ou satellite (White & Garrott, 1990). Les moyens techniques que nous avons utilisés sont : un récepteur VHF (modèle RX-TLNX de chez Telenax) muni d'une antenne Yagi 3 éléments. Les fréquences des émetteurs se situent entre 148 et 152 MHz.

Triangulation

Le principe est d'estimer la localisation d'un émetteur en utilisant deux ou plusieurs points de relevés directionnels obtenus à partir d'emplacements connus (White & Garrott, 1990). La localisation approximative est alors retranscrite sur une carte ou une photographie (figure 14). L'estimation de la position d'un individu par cette méthode engendre un polygone d'erreur en fonction de la météorologie, de l'observateur et de son expérience, ainsi que de la qualité de la transmission du signal (White and Garrott 1990).



*Figure 14 : Localisation par triangulation
(en jaune : localisation approximative de l'individu recherché, les antennes symbolisent le déplacement de l'observateur)*

Homing-in on the animal

Il s'agit, pour cette technique, de suivre et remonter le signal jusqu'à l'observation de l'individu équipé. Les erreurs pouvant être liées à cette méthode sont inhérentes à l'absence d'observation directe dans certaines circonstances, à l'imprécision des cartes ou des photos employées pour référencer la position (White and Garrott 1990), ou encore à la marge d'erreur du GPS pour des référencements à l'aide d'un tel instrument.

Ces deux techniques sont complémentaires. Dans le cadre de nos études, elles ont été employées pour suivre des femelles reproductrices et des émergents.

3. 2. 2. Radiopistage des femelles gravides

La triangulation est d'abord employée pour définir si les femelles ont quitté le milieu aquatique pour aller pondre. L'ensemble des individus est ainsi localisé à deux reprises en fin d'après-midi et à la tombée de la nuit. Lorsque la triangulation nous indique la présence d'une femelle en milieu terrestre, celle-ci est alors suivie par la technique du « homing-in » afin de noter avec précision l'emplacement de son nid.

3. 2. 3. Radiopistage des émergents

En revanche, pour les suivis des émergents, c'est avant tout le homing-in qui est utilisé pour connaître avec la plus grande précision possible leur localisation. Dans certaines circonstances, la triangulation est employée pour vérifier que l'individu est toujours dans la même zone. A titre d'exemple, un individu peut être dans une mare de quelques mètres carrés au sein d'une roselière. Cette vérification à courte distance évite les perturbations sur le milieu et les espèces. Obtenue quotidiennement, les informations spatiales et comportementales sont reportées sur une fiche de terrain, ainsi que sur une carte des sites, puis sur des orthophotos réalisées avec un drone. En complément, les localisations sont prises à l'aide d'un GPS Garmin GPSMAP®64s. Les détails seront présentés dans la partie correspondante (chapitre 1)

3. 3. *Nids : localisation et suivi*

L'objectif est ici d'estimer les succès des nids par la détermination de leur composition et des taux d'émergence. Il s'agit également de suivre la phénologie de ces émergences. Les nids servent aussi de base pour le travail ultérieur sur les émergents. Ces connaissances font défaut en milieu naturel. Pour réaliser ces suivis, il nous faut d'abord localiser des nids viables, c'est-à-dire non prédatés, et les protéger de la prédation à l'aide de cages. Ces dernières permettent de cantonner les émergents, qui seront référencés et, le cas échéant, équipés d'émetteurs.

Nous présentons tout d'abord les méthodes employées pour rechercher des nids viables, puis les analyses des nids.

3. 3. 1. Protocoles de recherche

Plusieurs méthodes ont été employées et testées pour trouver des nids viables. Cette amélioration de nos protocoles visait à accroître la rentabilité de la présence sur le terrain. Ainsi, il s'agissait d'abord de suivre quotidiennement par télémétrie des femelles gravides équipées d'émetteurs (cf. télémétrie). Cette méthode lourde en moyens humains implique une présence sur le terrain 7 jours sur 7, de mi-mai à mi-juillet, avec la contrainte d'attendre plusieurs heures, voire la nuit entière, la fin de la ponte sans déranger la femelle. En effet, pendant qu'elle creuse son nid, elle est sujette au dérangement et risque d'abandonner le processus de ponte. Dès lors que les premiers œufs sont déposés, ce risque est moindre, sauf lors d'une perturbation importante telle que le passage d'un prédateur. De plus, le fort taux

de prédation lié à des temps de ponte qui peuvent être longs, augmente le risque qu'un prédateur vienne anéantir le suivi. De cette manière nous obtenons un maximum de nids correspondant au nombre de femelles équipées (soit au mieux 10 nids dans notre cas). En outre, une femelle peut effectuer plusieurs tentatives de ponte infructueuses (présence de racines, de cailloux, bétail curieux...) avant de déposer ses œufs.

C'est pourquoi, à partir de 2016, nous nous sommes orientés vers la recherche de nids de femelles non équipées, tout en poursuivant le suivi de quelques femelles encore équipées. Pour ce faire, un **transect** est défini afin de prospecter, à la fois les sites de ponte connus, et des sites nouvellement ouverts (figure 15). Ce transect est composé de sections reliées entre elles par des zones de transition. Une prospection systématique du transect est effectuée tous les soirs de la période de ponte. Lorsqu'une femelle est observée en action de ponte, la localisation est repérée avec le plus de précision possible. Nous revenons alors plusieurs heures après la découverte pour laisser le temps à la femelle d'aller au terme de sa ponte. Cependant, les risques de dérangement couplés aux forts taux de prédation rendent peu rentable cette technique.

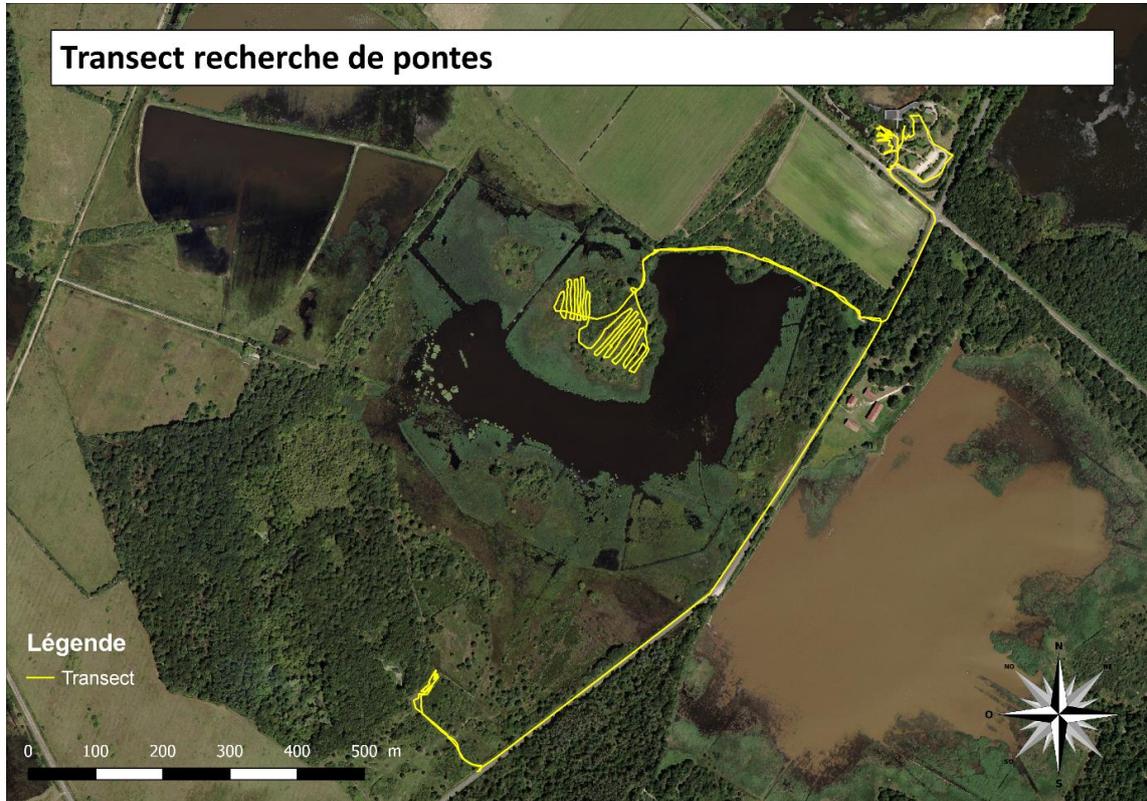


Figure 15 : Transect de recherche de pontes

Le protocole a alors évolué vers la recherche spécifique de nids viables, à l'aube. Le transect précédemment défini est maintenu. Ainsi, il nous est alors possible de trouver deux indices de présence d'un nid sur ce transect. Une femelle peut être en fin de ponte, ce qui exclut le risque que notre présence inhibe ce processus, ou bien nous pouvons trouver directement un nid viable. Ce dernier point représente la difficulté principale dès lors qu'on se lance à leur recherche. Sur le terrain, une ponte refermée passe très facilement inaperçue à l'œil d'un néophyte, et toute trace de sol remué est bien souvent autre chose qu'un nid de Cistude d'Europe. C'est pourquoi notre choix s'est orienté vers les recherches à l'aube, car le comportement de ponte des femelles « facilite » alors notre recherche. En effet, pour ameublir le substrat, la femelle arrose le sol d'eau préalablement stockée. Il convient donc de passer avant l'évaporation totale de cette eau afin de visualiser le nid. Ces prospections à l'aube nous apparaissent comme le meilleur compromis entre la découverte de nids viables, l'absence de dérangement précoce des femelles qui provoquerait l'arrêt du processus, et la prise en compte de la prédation qui, grâce à ce procédé, ne vient pas anéantir des heures de patience.

Enfin, un dernier essai a été réalisé avec la recherche de nids à l'aide d'un chien détecteur, technique nouvelle de plus en plus utilisée pour la recherche d'espèces variées (individus ou indices de présence), et qui a récemment fait ses preuves sur les nids de cistude en Autriche (Schindler *et al.*, 2017).

Nous précisons toutefois que cette évolution de nos protocoles est relative à des comportements de ponte qui semblent spécifiques à nos conditions de terrain. Ces comportements pourraient être liés à la dureté du sol qui augmenterait le temps de ponte, et au caractère très farouche des cistudes de Brenne.

3. 3. 2. Analyse des nids

Les nids protégés font ensuite l'objet d'une attention particulière dès l'automne suivant afin de noter d'hypothétiques émergences. Dans l'éventualité d'émergences automnales, les passages quotidiens nous permettent de les dénombrer. Des passages de temps à autres sont nécessaires au cours de l'hiver car des émergences sont possibles dans les conditions les plus favorables (Rollinat, 1934). Les passages quotidiens reprennent dès la fin du mois de février pour les émergences printanières. L'arrêt de cette surveillance quotidienne a lieu au moment de l'excavation des nids pour l'analyse de leur composition.

Cette analyse est réalisée une fois la totalité des émergences effectuées (automne et/ou printemps), en fonction des connaissances passées en matière de phénologie locale. Nous caractérisons les nids par les différents stades présents, à savoir :

- œuf clair : œuf jaune non développé,
- embryon avorté : embryon mort en cours de développement,
- éclos et mort dans le nid : nouveau-né éclos et mort dans le nid,
- émergent : éclos et sorti du nid,
- total : nombre d'œufs déposés (dénombré ou estimé par les restes de fragments de coquille).

Les informations ainsi recueillies nous informent sur la phénologie des émergences, la composition des nids et le taux d'émergence. Ce dernier est défini par le rapport du nombre d'émergents sur le nombre d'œufs dans le nid.

3. 4. Sites de ponte

Le transect sert également à quantifier l'intérêt des sites de ponte connus et des sites nouvellement créés par réouverture du milieu. Ainsi, à court terme, il est noté le temps de réaction des femelles pour venir sur ces nouveaux sites. La répétition au cours des années nous renseigne sur la pérennisation des pontes, et sur leurs fluctuations en fonction de la gestion, à la fois des sites de ponte et des étangs à proximité.

4. Méthodes statistiques

Chaque partie développée possède ses spécificités, toutefois, les grandes lignes de l'organisation en termes d'analyses sont présentées ci-dessous.

4. 1. Informations relatives aux données cistudes.

Outres les fiches de terrain, les données sont ensuite consignées dans des bases propres à chaque domaine d'étude.

Toutes les données individuelles liées aux captures et recaptures (CMR et captures manuelles) sont consignées dans une base de données Access®. Une base de données photographique de chaque individu (plastron + dossière), captures et recaptures au cours du temps a également été créée.

Pour les informations liées aux suivis des pontes (recherche, quantification et protection) et des émergences, la phénologie a été consignée dans des tableurs Excel® et les données spatiales, sous QGIS®.

4. 1. 1. Base de données étangs

Une base de données « étang » a été créée avec les informations relatives à leurs caractéristiques principales (physiques et de gestion). Elle renseigne les éléments suivants : la surface, la date de création, les dates des assecs d'entretien (d'où découlent les fréquences de ces assecs, et le nombre d'années moyen entre assecs), le type de pisciculture (extensif ou intensif, figure 16), l'institution gestionnaire, la production de carpes (oui/non) et le nourrissage (oui/non).

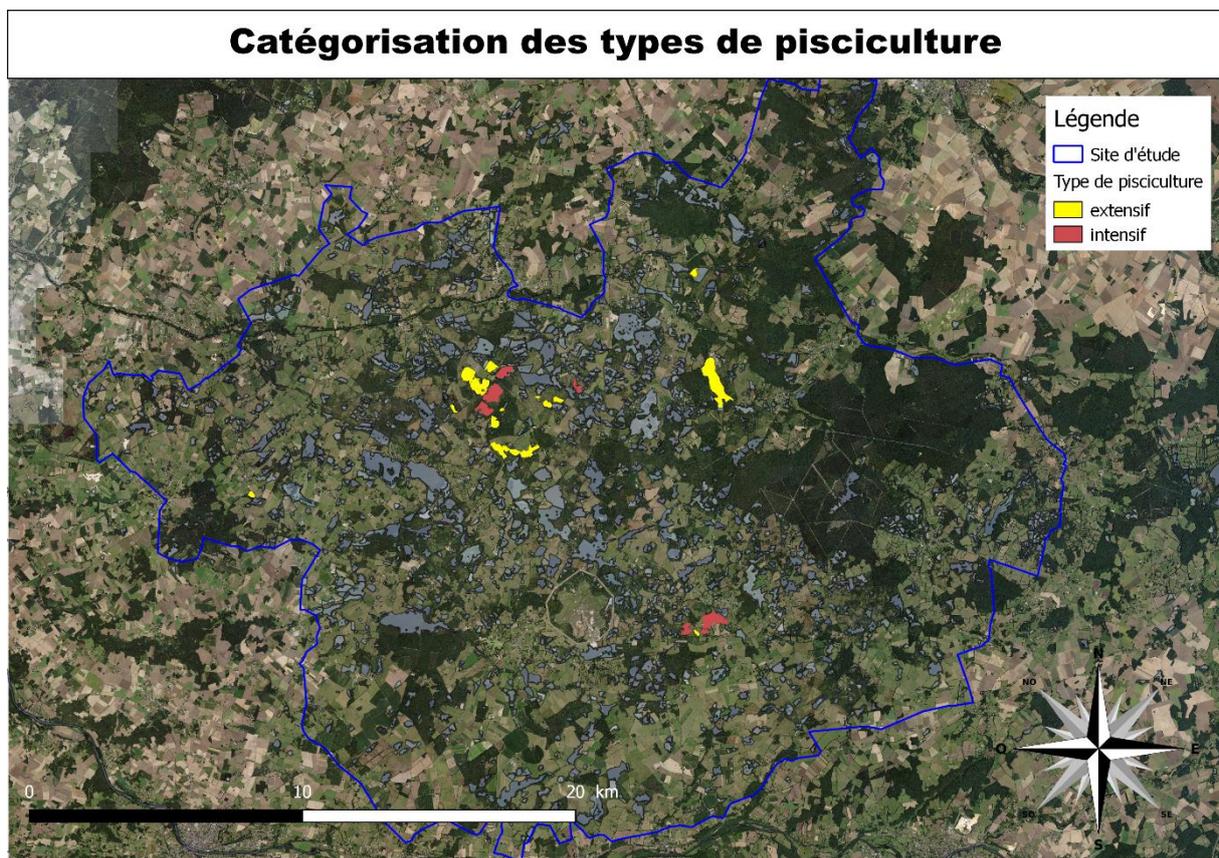


Figure 16 : Catégorisation des types de pisciculture

4. 1. 2. Données météorologiques

Les données météorologiques de 2015 et 2016 ont été recueillies auprès de Météo France, sur les stations de Martizay pour les températures (à 12 km) et de Mézières-en-Brenne

pour la pluviométrie (à 3,5 km). Les données de 2017 nous ont été données par l'université d'Orléans (Dr. Rachid Nedjai) et sont également issues d'une station météo sur Mézières-en-Brenne à 8 km.

4. 2. *Logiciels d'analyses*

Les données acquises font l'objet d'analyses statistiques pour évaluer les hypothèses émises. Les détails sont présentés dans chaque partie.

Les divers logiciels de Microsoft® ont été utilisés.

Sauf mention spéciale, les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel R (R Development Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL: <http://www.R-project.org>).

Les cartographies ont été réalisées avec le logiciel QGIS® (Équipe de développement QGIS (2019). Système d'information géographique QGIS. Projet de fondation géospatiale en open source. [Http://qgis.osgeo.org](http://qgis.osgeo.org)).

CHAPITRE I : PONTES, NIDS, ÉMERGENCES ET NOUVEAU-NÉS



1. Contenu du chapitre

Sites de ponte, nids et émergences

Article en préparation

Histoire de vie des émergents

Articles en préparation

Conclusion et perspectives de gestion

2. Préambule

Depuis de nombreuses années, les populations de cistude de Brenne sont bien connues à travers les travaux de Jean Servan (entre 1980 et 2004), puis Zoey Owen-Jones (entre 2007 et 2012). L'essentiel de ces travaux a porté sur la connaissance des adultes à travers des protocoles de CMR et des suivis par télémétrie. Une part a également pris en considération les sites de ponte (cartographie et caractérisation). Ces acquisitions de connaissance générale sur la biologie de l'espèce, et locales sur l'utilisation de l'espace par les cistudes, ont toujours eu pour objectif principal la mise en œuvre d'applications de gestion à des fins de conservation.

Un résultat majeur issu de ces travaux nous a amené à nous attarder un peu plus sur ce qui se passe sur les sites de ponte. En effet, il apparaît que la Brenne accueille une des populations de cistude les plus importantes en France, alors que le taux de juvéniles figure parmi les plus faibles des populations européennes étudiées (entre 4 et 6% ces dernières années) (Owen-Jones, 2015; Beau, 2017; Beau & Morgnieux, 2018). Ces faibles taux pourraient être liés à une sous-estimation en raison d'un biais de capture si l'on considère une ségrégation spatiale entre juvéniles et adultes. Toutefois, les études passées sur les mêmes étangs indiquent des taux de juvéniles supérieurs (Lescure, 1982; Servan, 1988). De plus, au-delà de ces estimations quantitatives lors des suivis par CMR, d'autres éléments nous incitent à nous pencher sur la question. En effet, toujours sur des zones d'étude similaires (même étang), plus de la moitié des individus capturés manuellement lors de la pose des pièges étaient des juvéniles (15 individus sur 24) dans les années 80 (Servan, 1986). Ces trois dernières années, une seule capture manuelle d'un juvénile a été réalisée sur ce même étang. C'est pourquoi, ce constat a accru notre souhait de suivre les sites de ponte, en complément de nos suivis longitudinaux des populations par CMR. A cela s'ajoute le contexte de fermeture des milieux actuellement en cours en Brenne. Il y a donc une volonté pour les gestionnaires de suivre de façon plus poussée les sites de ponte pour acquérir des connaissances, agir sur ces milieux et évaluer en parallèle les actions de la gestion.

Comme nous le détaillerons dans les deux parties suivantes, il existe des informations quant à l'incubation des œufs de cistude et la caractérisation des sites de ponte pour l'accueil des femelles. En revanche, des connaissances majeures semblent manquer dans le cadre de la biologie de la conservation pour des applications de gestion concrètes. En effet, bien qu'il

existe des données sur les taux d'émergences *in situ* (Lebboroni & Chelazzi, 1999; Thienpont, 2005; Owen-Jones, 2015), les aspects phénologiques, pourtant primordiaux pour la gestion, se limitent à indiquer s'il s'agit d'émergences automnales ou printanières, ou au mieux précisent des dates ponctuelles d'émergences (Kotenko, 2000; Najbar & Mitrus, 2013; Díaz-Paniagua *et al.*, 2014). Les études sur le suivi des émergents de Cistude d'Europe après leur sortie du nid sont encore plus rares et donnent des indications partielles selon la méthodologie (Najbar & Mitrus, 2013). Cette phase de la sortie du nid, puis des premiers moments de vie des émergents en milieu naturel demeure donc une zone d'ombre du cycle de l'espèce. Les méthodologies chronophages, complexes et les limites technologiques apparaissent comme les raisons pouvant justifier ce manque d'informations. De plus, une analyse récente sur la dynamique de population indique que les individus de moins d'un an (les émergents), représenteraient le second effectif après les adultes en termes de proportion de la population (Casajus, 2019). Quels sont alors les milieux occupés et comment sont-ils utilisés ?

Nous avons donc souhaité comprendre ce qui se passe sur les sites de ponte des populations locales. C'est l'objet des deux parties suivantes.

Tout d'abord, nous porterons une attention particulière à la capacité d'accueil des sites de ponte et à leur capacité « d'incubation » des œufs *in situ*, puis à la phénologie précise des émergences (cf. sites de ponte, nids et émergences). La seconde partie sera ensuite vouée à l'étude des émergents dès lors qu'ils ont quitté le nid, à travers l'étude de leur comportement et leur utilisation de l'habitat (cf. histoire de vie des émergents).

A l'issue de ces deux analyses, nous proposerons des orientations de gestion des sites de ponte, au regard des nouvelles connaissances acquises, non plus seulement basées sur l'utilisation de ces sites par les femelles, mais également par celles des nouveau-nés et des émergents. Nous dissociions volontairement les nouveau-nés des émergents car, à nos yeux, d'autres considérations, telle que l'incubation, découlent de cette distinction ; le nouveau-né étant la cistude qui sort de son œuf, alors que l'émergent est le nouveau-né qui sort de son nid (cf. §2.4.1 de matériels et méthodologie générale).

3. Sites de ponte, nids et émergences

Les éléments présentés ci-dessous seront repris pour la publication d'un article à moyen terme sur la partie phénologie des émergences. Les autres aspects liés à l'évaluation de la gestion des sites de ponte et l'expérimentation de leur mise en défens, sont présentés ici pour partager les retours d'expériences. Il n'est pas prévu leur utilisation dans cet article.

3.1. Introduction

Selon Bradshaw et McMahon (2008), la fécondité est la mesure des performances de reproduction d'un individu (ou de sa population). Ainsi, la fécondité peut être considérée comme l'une des deux pierres angulaires de la biologie des populations, l'autre étant la capacité d'un individu à survivre afin de se reproduire (Bradshaw & McMahon, 2008). La biologie de la conservation s'attache à favoriser ces deux éléments fondamentaux, afin de permettre le maintien d'un taux d'accroissement (λ) viable pour une population. Les connaissances de ces facteurs, qui influent sur les taux de survie et de fécondité, sont donc primordiaux (Sibly, Hone & Clutton-Brock, 2003).

Les tortues sont des espèces longévives dont l'élément le plus important pour le maintien d'une population serait la survie des adultes (Heppell, 1998) et plus spécialement des femelles. C'est pourquoi la majorité des plans de sauvegarde des chéloniens en danger concentre les efforts autour de la réduction de la mortalité des adultes, pour stabiliser des déclin de population (Heppell, 1998). La Cistude d'Europe *Emys orbicularis* n'échappe pas à la règle. En effet, depuis de nombreuses années, la dynamique des populations de cette espèce est particulièrement étudiée et de nombreuses publications s'attachent à travailler sur les taux de survie des individus (e.g. Arsovski et al., 2018; Bayrakçı et al., 2017; Cadi and Joly, 2004, 2004; Girondot and Pieau, 1993; Mitrus and Zemanek, 2004; Olivier et al., 2010; Owen-Jones et al., 2016).

Si l'on considère la fécondité comme la mesure des performances de reproduction d'un individu ou d'une population (Bradshaw & McMahon, 2008), donc la production de nouveaux individus, dans le cas des Chéloniens, il nous paraît important de considérer trois éléments : les capacités reproductrices des femelles, les capacités d'accueil des sites de ponte pour les nids et les capacités de ces sites de ponte à incuber les œufs et produire de jeunes

tortues. Concernant les capacités reproductrices des femelles, la littérature propose de très nombreux éléments comparatifs selon les zones d'étude. Ainsi, les paramètres comme le nombre de pontes et d'œufs par femelle et par an, le taux de femelles reproductrices, la période de reproduction, ou encore l'âge à la maturité sexuelle sont particulièrement documentés (e.g. Duguy and Baron, 1998; Kotenko, 2000; Lombardini and Cheylan, 2004; Olivier, 2002; Owen-Jones, 2015; Rovero and Chelazzi, 1996; Servan and Roy, 2004; Zuffi and Foschi, 2015). Les capacités d'accueil des sites de ponte sont également bien connues, à travers leurs caractérisations physiques et biologiques (granulométrie, végétation, expositions etc.) (Mitrus & Zemanek, 2000; Abellard, 2002; Cadi, 2003; Collet, 2003; Thienpont, 2005). Enfin, des données sur le suivi post-ponte en milieu naturel existent également avec des analyses de la prédation des nids, des durées d'incubation, des estimations de succès de nids, et de la phénologie partielle d'émergence (car elles n'indiquent que la ou les premières émergences) (Rössler, 2000; Mitrus & Zemanek, 2003; Novotný *et al.*, 2004; Najbar & Szuszkiewicz, 2005; Mitrus, 2008; Díaz-Paniagua *et al.*, 2014; Owen-Jones, 2015; Schindler *et al.*, 2017).

En outre, la phase de l'embryogénèse de la Cistude d'Europe a été particulièrement suivie en laboratoire car il s'agit du reptile le plus étudié pour la détermination du sexe dépendant de la température (TSD) (Girondot, 1999; Pieau, 2014; Monsinjon *et al.*, 2017). Et ce, bien que la première découverte fut faite chez le Margouillat *Agama agama* (Charnier, 1966). La Cistude d'Europe est le modèle qui a servi à mettre en évidence puis affiner les connaissances sur cette TSD chez les reptiles (Pieau, 1971, 1972, 2004; Pieau & Dorizzi, 1981; Zaborski, Dorizzi & Pieau, 1988; Pieau & Mrosovsky, 1991; Girondot, Servan & Pieau, 1994; Delmas *et al.*, 2007; Monsinjon *et al.*, 2017). A l'heure actuelle, une prolongation de ces travaux vers des applications *in situ* semble se mettre en place. Ainsi, grâce à des modélisations issues de ces nombreuses études, il est aujourd'hui envisageable de prédire les sexe-ratios de nids naturels (Monsinjon *et al.*, 2017; Girondot, Monsinjon & Guillon, 2018).

Il existe donc de nombreuses données pour chaque facteur pouvant être impliqué dans l'estimation de la fécondité de la Cistude d'Europe. En revanche, comme nous l'avons vu dans la partie introductive à ce chapitre, des connaissances majeures semblent manquer dans le cadre de la biologie de la conservation pour des applications de gestion concrètes.

Ainsi, les objectifs de cette partie sont multiples mais à visée commune : les applications de gestion conservatoire. Tout d'abord, nous souhaitons déterminer l'intérêt de

la réouverture des milieux pour la ponte et évaluer l'utilité de la mise en défens d'un site de ponte. Concernant les nids, nous souhaitons quantifier les taux d'émergence et comprendre d'éventuelles différences entre sites, entre années etc. Enfin, pour les émergences, l'objectif est de suivre avec précision leur phénologie et de caractériser l'écologie des nouveau-nés qui sortent du nid (émergents).

3. 2. Matériels et méthodes

La méthodologie mise en place pour la recherche de nids viables, qui servent de base aux analyses de quantification et d'émergences, est présentée dans la partie « matériel et méthodologie générale ».

Pour quantifier l'intérêt de la réouverture des milieux, les généralités sont également présentées dans la partie précitée ; nous en précisons ici les détails. La portion du transect relative à l'étang Ricot a été divisée en 2 sections selon l'habitat disponible et la gestion appliquée (figure 17).

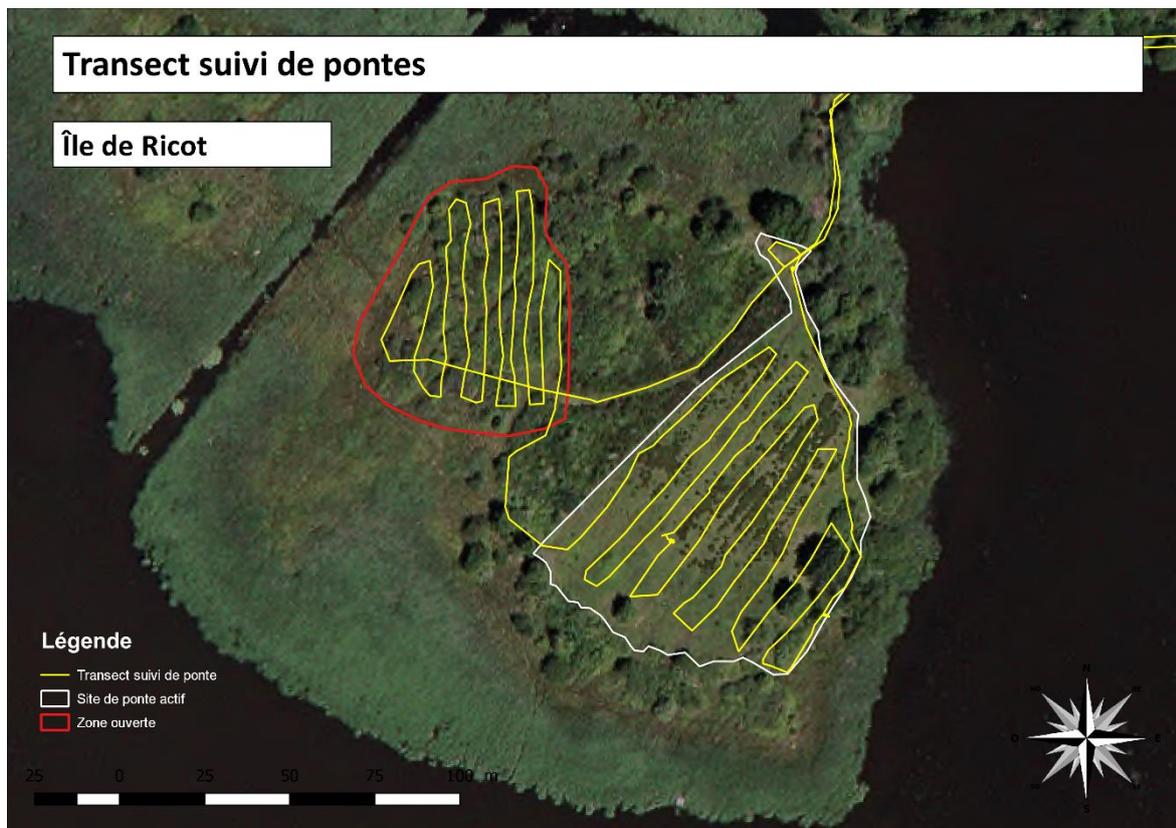


Figure 17 : Localisation du transect « suivi de ponte » sur l'Île de Ricot

La première section « site de ponte actif » est un site de ponte avec une gestion spécifique depuis de nombreuses années pour accueillir, entre autres, la ponte des cistudes. La seconde section « zone ouverte », est une zone qui fut un site de ponte, mais qui, depuis de nombreuses années, est envahie par une strate arbustive d'une hauteur de 3-4 mètres et composée essentiellement de Prunelier *Prunus spinosa*, de Bruyère à balais *Erica scoparia*, d'Aubépine *Crataegus monogyna*, de Ronce *Rubus sp.*, de Frêne *Fraxinus excelsior* etc. L'habitat de cette section fut alors rouvert par l'arrachage complet de cette strate en septembre 2016. La quantification des pontes porte essentiellement sur les nids prédatés. Ceux-ci sont dénombrés et localisés (GPS), les restes de coquille sont retirés pour éviter les doubles comptages. Les coquilles des œufs restent à proximité des nids après déprédation, par conséquent, la fréquence des passages n'est pas importante compte tenu de nos objectifs. En revanche, pour augmenter nos chances de découverte de nids viables, objectif majeur pour la suite des protocoles, les passages ont été quotidiens, à l'exception de certains week-ends.

Cette portion du transect initié en 2016 mesure 2,5 kilomètres en incluant la digue de l'étang. Les 2 sections qui le composent représentent respectivement 958 mètres pour le « site de ponte actif » (6460 m²) et 492 mètres pour la « zone ouverte » (3790 m²), plus les zones de transition. L'étang a été péché le 19/01/2016 puis laissé en assec jusqu'à l'automne suivant, il n'y avait donc pas d'eau dans l'étang au cours de la saison de reproduction 2017. En parallèle, un site défriché en septembre 2016 « Terres de Renard, zone ouverte » (non représenté) a été suivi en 2017 puis 2018 avec 1 passage par semaine pour détecter les pontes prédatées (hors protocole de recherche de nids viables), sur une surface de 3000 m².

Pour quantifier l'intérêt de la mise en défens d'un site de ponte (ou exclos), non abordé dans la méthodologie générale, nous avons procédé de la manière suivante : sur un site préalablement repéré par le nombre important de pontes présentes sur une surface restreinte, nous dressons une barrière physique pour exclure l'intrusion des prédateurs des nids de Cistude d'Europe (figure 18). En revanche, il convient de veiller à ce que les femelles de cistude puissent accéder au site. Pour ce faire, une clôture électrique est installée à l'aide de plusieurs rubans, le premier devant se trouver à une hauteur de 12-15 cm du sol sur l'ensemble du périmètre. Plusieurs rubans sont installés jusqu'à une hauteur de 1,5 mètres, de manière à dissuader le passage de certains prédateurs. La surface ainsi « protégée » est de 200 m².



*Figure 18 : Mise en défens d'un site de ponte (exclos)
avec nids protégés à l'intérieur*

Concernant la composition des nids, les éléments sont présentés dans la méthodologie générale. Toutefois, il convient de redéfinir quelques termes employés. Les émergents correspondent aux nouveau-nés qui sortent du nid, le taux d'émergence est alors le rapport entre le nombre des émergents et le nombre total d'œufs déposés. La phénologie des émergences mérite également quelques précisions préalables. Le temps passé entre la ponte et la première émergence ne sera pas qualifié de temps d'incubation contrairement à certains auteurs (Rovero & Chelazzi, 1996; Mitrus & Zemanek, 2000; Novotný *et al.*, 2004). Nous le qualifierons de « temps de présence dans le nid », car il correspond au temps d'incubation (sortie de l'œuf), plus le temps passé dans le nid après éclosion. Le temps réel d'incubation n'étant pas quantifiable en milieu et conditions naturels. Les mesures réalisées sur les nouveau-nés au moment de leur émergence sont les mêmes que pour les adultes (cf. méthodologie générale).

Enfin, nous avons intégré à nos données les données brutes de la période 2009-2011 sur les mêmes sites, issues des travaux de Zoey Owen Jones, qui ont donné lieu à la publication d'un mémoire (Owen-Jones, 2015).

Les données météorologiques ont été recueillies comme indiqué dans la partie Matériel et méthodologie générale (méthodes statistiques). Ces données nous ont permis de calculer des températures et des pluviométries cumulées pendant l'incubation théorique,

c'est-à-dire, depuis la date de la ponte sur une période de 85 jours (choix issu des données bibliographiques, cf. introduction). Pour réaliser une comparaison plus large dans le temps, nous avons également récupéré des données de la station de Châteauroux – Déols située à 35 km du site d'étude (source : www.infoclimat.fr).

Outre les analyses à l'aide du logiciel R®, certains graphiques ont été effectués sous Excel® et la cartographie avec le logiciel QGIS®.

3. 3. Résultats

Six sites ont été suivis par le transect général. Toutefois nous ne présentons que les résultats relatifs à l'estimation de l'intérêt de la réouverture des milieux et de la mise en défens d'un site de ponte. Nous aborderons ensuite les éléments de compositions des nids, puis ceux liés aux émergences, et nous terminerons par l'analyse de la biométrie des nouveau-nés au moment de leur émergence.

3. 3. 1. Intérêt de la réouverture des milieux pour la ponte

Dès le printemps qui suit la réouverture des milieux, les sites sont utilisés par les femelles pour la réalisation des nids. L'année N+2 l'est également avec une tendance à l'accroissement de cette utilisation. En effet, le nombre de nids observés sur les « Terres de Renard » passe de 1 à 7. Sur « Ricot » ce sont 5 puis 3 nids mais ces effectifs représentent respectivement 11,6 et 17,7 % des pontes, donc un accroissement relatif sur l'ensemble des effectifs des deux sites de ponte de Ricot (tableau 1).

Tableau 1 : effectifs des nids observés selon les sites et les années

Année	Ricot Site de ponte actif	Ricot Zone ouverte	Terres de Renard Zone ouverte
2016	19	NE	NE
2017	38	5	1
2018	14	3	7

3. 3. 2. Intérêt de la mise en défens d'un site de ponte

En 2016, la première année d'expérimentation a montré des failles dans le système d'exclos puisque, malgré l'installation opérationnelle, 8 pontes y ont été prédatées. Seules les

fèces nous laissent à penser que ce serait le fait d'un petit mustélide (putois ou hermine) qui aurait su déjouer l'installation grâce à sa petite taille. En 2017, un défaut d'installation a permis l'entrée d'un prédateur, corrigé en juin ; il n'y a plus eu de prédation par la suite à l'intérieur de l'exclos (une prédation a été observée à l'extérieur). En 2018, les contraintes techniques nous ont amené à installer le système le 30 mai. Une prédation a été observée auparavant, au sein du site. Dès la mise en place de l'exclos, plus aucune prédation de ponte n'a été constatée. Une activité importante de ponte a été notée pour cette petite surface (200 m²) avec 7 nids viables localisés et protégés.

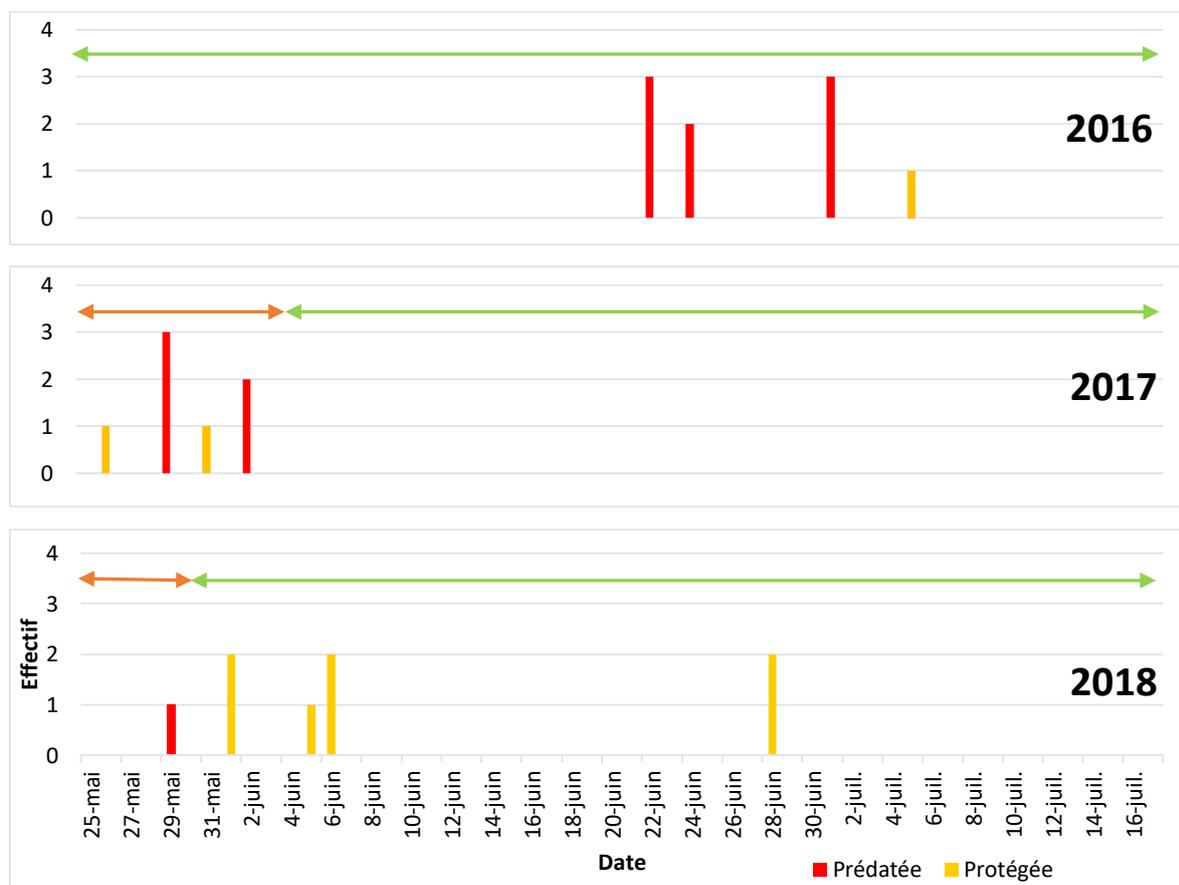


Figure 19 : Dénombrement des nids au sein de l'exclos
 Diagramme rouge : ponte prédatée, diagramme jaune : ponte protégée
 Flèche orange : système hors service, flèche verte : système en service

3. 3. 3. Composition des nids et taux d'émergence

Les 44 nids ont été excavés afin d'analyser leur contenu. Sans connaissance sur la fin des émergences, les ouvertures des nids ont eu lieu le 18 mai 2016 pour les nids de 2015, les 22 et 23 mai 2017 pour ceux de 2016, et les 6 et 7 juin 2018 pour ceux de 2017. Ces dates se

sont décalées à mesure des années en raison des enseignements annuels sur la phénologie observée (cf. phénologie des émergences, ci-dessous).

Les nids produisent en moyenne 3,37 ($\pm 2,95$) émergents pour un nombre d'œufs déposés de 6,41 ($\pm 2,41$), donnant un taux d'émergence de 0,53 ($\pm 0,41$).

Le tableau ci-dessous nous indique la composition des nids exploitables selon les stades définis dans la méthodologie générale. Certains nids n'ont pas été retenus pour l'élaboration de ce tableau en raison de leur trop importante dégradation. A titre d'exemple, en 2017, deux nids étaient envahis par des fourmilières, ne permettant pas un dénombrement correct, et un nid était traversé par la galerie d'un micromammifère indéterminé ; les restes en coquilles visibles constituaient difficilement un œuf entier.

Tableau 2 : composition des nids selon les années (NE : non évalué).

Hormis le nombre de nids, les résultats sont indiqués sous forme : moyenne \pm écart type

	2009	2010	2011	2015	2016	2017
Nombre de nids	9	4	5	10	5	11
Total œufs	7,89 \pm 3,33	6,50 \pm 1,29	5,40 \pm 2,19	5,90 \pm 1,60	7,40 \pm 2,70	5,64 \pm 2,42
Emergent	4,22 \pm 4,29	4,75 \pm 3,40	0	4,30 \pm 2,67	2,80 \pm 1,92	3,18 \pm 1,77
Œuf clair	1,78 \pm 2,28	1,00 \pm 2,00	1,40 \pm 1,34	1,00 \pm 1,61	3,40 \pm 3,21	1,09 \pm 2,21
Embryon avorté	1,89 \pm 2,93	0,50 \pm 1,00	4,00 \pm 2,35	0	0,80 \pm 1,30	0,18 \pm 0,40
Eclos et mort dans le nid	NE	NE	NE	0,45 \pm 1,21	0,20 \pm 0,45	0,27 \pm 1,62
Vivant dans le nid	0	0	0	0	0,20 \pm 0,45	0
Taux d'émergence	0,53 \pm 0,43	0,68 \pm 0,47	0,00	0,70 \pm 0,41	0,44 \pm 0,33	0,61 \pm 0,35

Un stade s'est ajouté suite à la découverte d'un nouveau-né vivant dans le nid le 22 mai 2017. Ce nouveau-né, lors de son équipement pour le radiopistage, a excrété des fèces. Leur analyse a montré qu'il s'était nourri dans le nid et avait consommé des restes de sa fratrie, des morceaux d'écaillés se trouvaient dans ses fèces (cf annexe 2).

Les taux d'émergence fluctuent entre années ($F_{5,38} = 2,73$, $p = 0,03$), en raison de l'absence d'émergence en 2011. Dans la majorité des cas (4 années sur 6), ces taux annuels par nid oscillent entre 0 et 100 % (figure 20), pour une moyenne générale de 0,53. Nous n'avons pas noté de différence significative entre les sites de ponte (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 8,75$, $df = 9$, $p = 0,46$), même en comparant les 3 sites principaux abritant le plus de nids (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 2,11$, $df = 2$, $p = 0,35$). Il en est de même si l'on s'attarde sur la nature du sol du site de ponte, à savoir une digue ou une prairie (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 0,33$, $df = 1$, $p = 0,57$). Ce taux est supérieur en prairie mais n'est pas significatif 0,64 ($\pm 0,37$) vs 0,54 ($\pm 0,37$). Enfin, ce taux

n'est pas dépendant de la période de l'émergence (automne ou printemps) (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 0,075$, $df = 1$, $p = 0,78$)

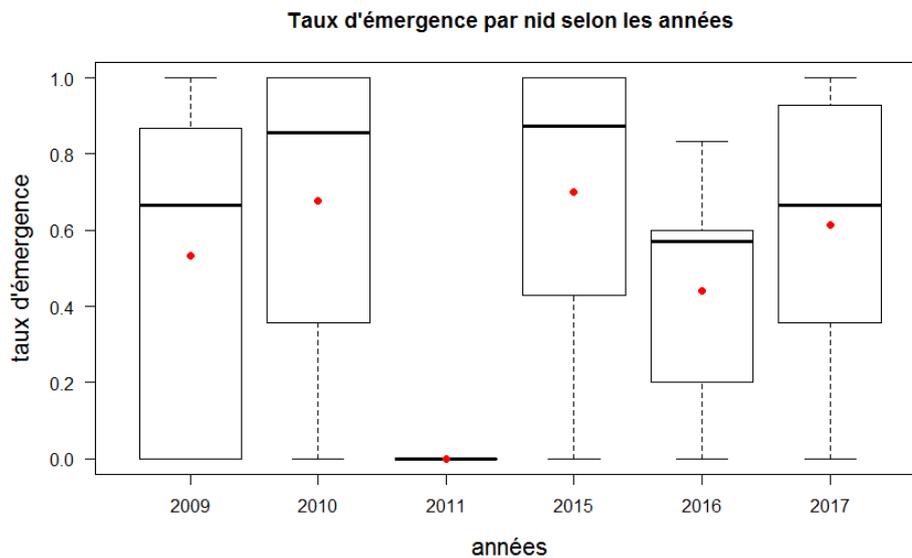


Figure 20 : Taux d'émergence
(point rouge : moyenne annuelle)

Concernant la composition même des nids (dénombrement des stades), seule la moyenne des embryons avortés montre une différence significative en fonction des années (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 18,92$, $df = 5$, $p = 0,002$). A nouveau, l'année 2011 se démarque des autres années avec un nombre important d'embryons (tableau 2) qui n'ont pas pu se développer complètement.

3. 3. 4. Phénologie des émergences

Les protocoles de recherche puis de suivi des nids viables, présentés dans la méthodologie générale, ont été appliqués entre 2015 et 2018. La figure ci-dessous présente une vision générale de cette phénologie au cours de ces 3 années de suivi. Elle porte sur un total de 40 nids : 16 issus des pontes protégées en 2015, 6 protégés en 2016, et 18 en 2017.

Année	mai	juin	juillet	août	septembre	octobre	novembre	décembre	janvier	février	mars	avril	mai
2015-2016		jaune			vert	vert					vert	vert	vert
2016-2017		jaune	jaune			vert					vert		
2017-2018		jaune	jaune		vert	vert					vert		

Figure 21 : Phénologie générale des émergences
(en jaune période des pontes, en vert celle des émergences)

L'observation du nouveau-né toujours présent dans le nid le 22 mai 2017 n'apparaît pas dans la figure précédente. Nous sommes dans l'incapacité d'affirmer s'il serait sorti de lui-même ou bien qu'il serait mort dans le nid. Une observation similaire fut faite le 3 mai 2019 (non présentée). Les trois automnes du suivi ont montré des émergences entre le 21 septembre et le 26 octobre. Les émergences printanières se sont réalisées entre le 27 février et le 7 mai.

La représentation ci-dessous (figure 22) nous indique que les émergences automnales ne sont pas liées à des pontes déposées en premier. De même, les dernières pontes n'aboutissent pas nécessairement à des émergences printanières.

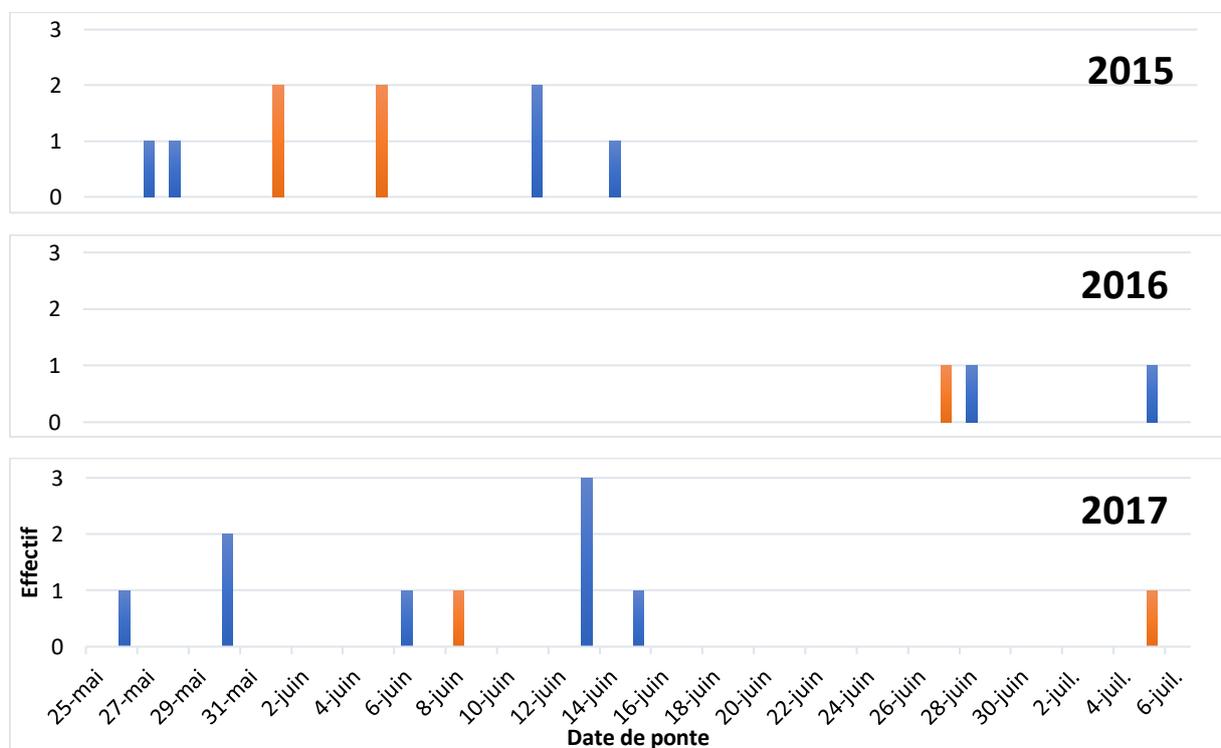


Figure 22 : Répartition des périodes d'émergences selon les dates de ponte (nids de 2015)
(émergence printanière en bleu, émergence automnale en orange)

En effet, sur les 4 nids découverts le plus tardivement (27, 28 juin et 5 juillet) 2 ont donné des émergences printanières. A l'inverse, les 4 nids découverts le plus tôt dans la saison, entre le 26 et le 30 mai de l'ensemble des 3 années, ont donné lieu à des émergences printanières.

Nous ne notons pas de lien entre la période d'émergence (printemps ou automne) et le site de ponte ($\chi^2 = 13,55$, $df = 9$, $p = 0,14$). Ainsi, pour un même site de ponte, les émergences

peuvent avoir lieu à l'automne ou au printemps suivant. En outre, il n'apparaît pas de lien entre la période des émergences et la nature du sol ($\chi^2 = 2,82$, $df = 3$, $p = 0,42$).

Aucun nid n'a montré une phénologie à la fois automnale et printanière. Nous précisons toutefois que pour l'un d'entre eux, un émergent était encore présent dans le nid à la fin des émergences automnales. Lors de l'ouverture des nids, nous n'avons identifié que des restes de nouveau-nés morts, certainement en raison de la présence d'une fourmilière à proximité. Toutefois, le maniement de la protection de ce nid pour laisser la possibilité à ce nouveau-né de sortir au cours de l'hiver ne nous permet pas de connaître son devenir.

Enfin, un test sur le lien entre les variables « années » et « émergence automnale (oui/non) » nous indique que ces deux éléments sont indépendants ($\chi^2 = 8,91$, $df = 5$, $p = 0,11$). En revanche, si l'on regroupe les observations par époque, c'est-à-dire 2009-2011 et 2015-2017, le même test nous indique que nous ne pouvons pas considérer les deux variables indépendantes au seuil de 5% ($\chi^2 = 4,91$, $df = 1$, $p = 0,03$). Par conséquent les émergences automnales peuvent être considérées comme plus fréquentes ces dernières années : 31,82 % d'émergences automnales contre 0 % entre 2009 et 2011.

3. 3. 5. Temps de présence dans le nid

Si l'on s'attarde sur le lien entre les dates de première émergence et celles des pontes, les moyennes fluctuent entre 206,3 et 242,3 jours, mais de manière non significative (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 1,79$, $df = 2$, $p = 0,41$). Le temps le plus court passé dans un nid est de 79 jours contre 309 pour le plus long. Une analyse dissociée nous indique que le temps passé dans le nid est en moyenne de 112,6 jours ($\pm 17,1$, $min = 79$, $max = 133$) pour les émergences automnales (figure 23) et de 275,8 jours ($\pm 17,8$, $min = 237$, $max = 309$) pour les émergences printanières (figure 24).

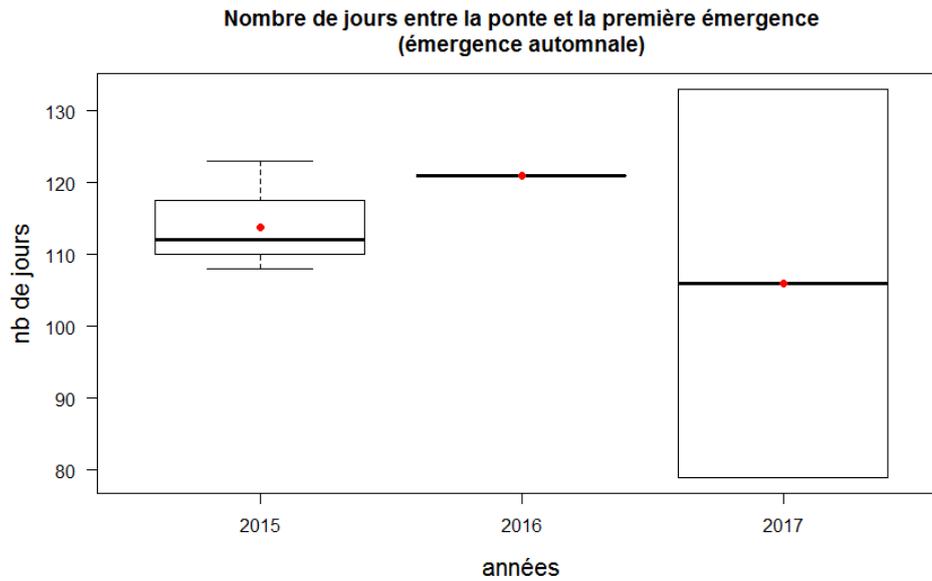


Figure 23 : Nombre de jours entre la ponte et la première émergence (émergence automnale)
(point rouge : moyenne annuelle)

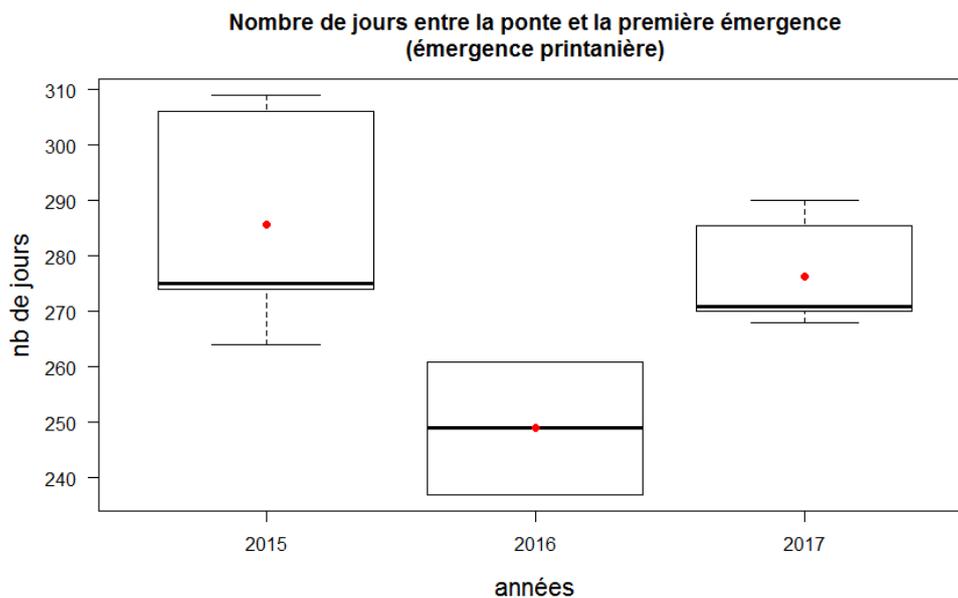


Figure 24 : Nombre de jours entre la ponte et la première émergence (émergence printanière)
(point rouge : moyenne annuelle)

Le temps de présence dans le nid est lié à la taille des nouveau-nés, pour les émergences printanière (corrélation de rang de Spearman, $r_s = 0,69$, $p < 0,001$, figure 25), de sorte que ce sont les plus petits qui passent le moins de temps dans le nid. Cependant, nous notons sur le graphique une ségrégation des années qui est confirmée par la comparaison entre année (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 18,86$, $df = 2$, $p < 0,001$).

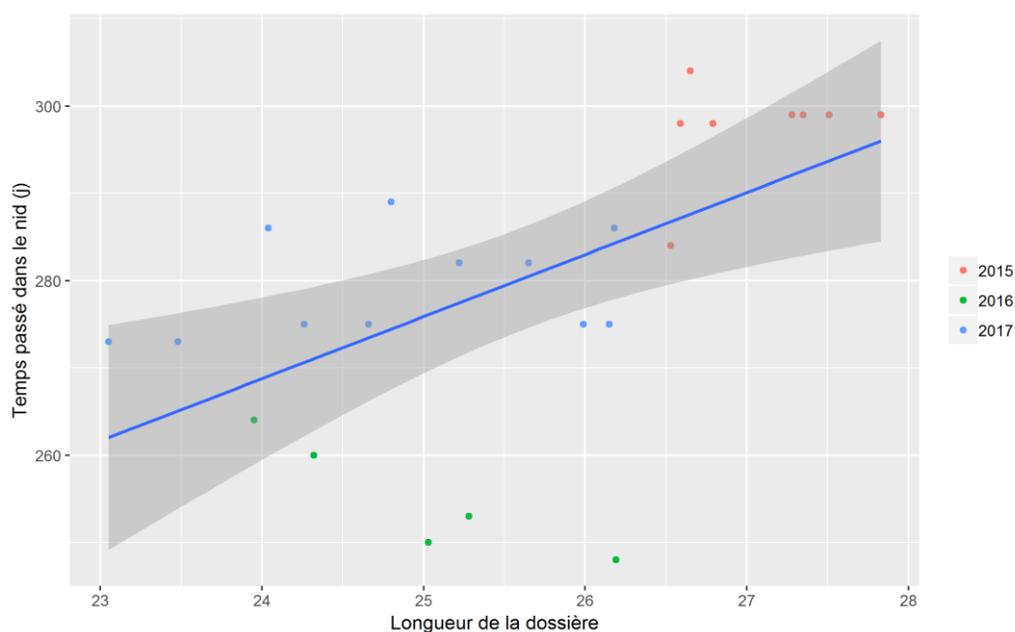


Figure 25 : Nombre de jours passés dans le nid en fonction de la taille de la dossière

Sur les données d'émergences printanières, le temps moyen entre la première et la dernière émergence est de 13,3 jours ($\pm 12,3$) avec un étalement entre 1 et 39 jours (figure 26). Ce temps peut être considéré comme similaire entre années (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 0,99$, $df = 2$, $p = 0,61$).

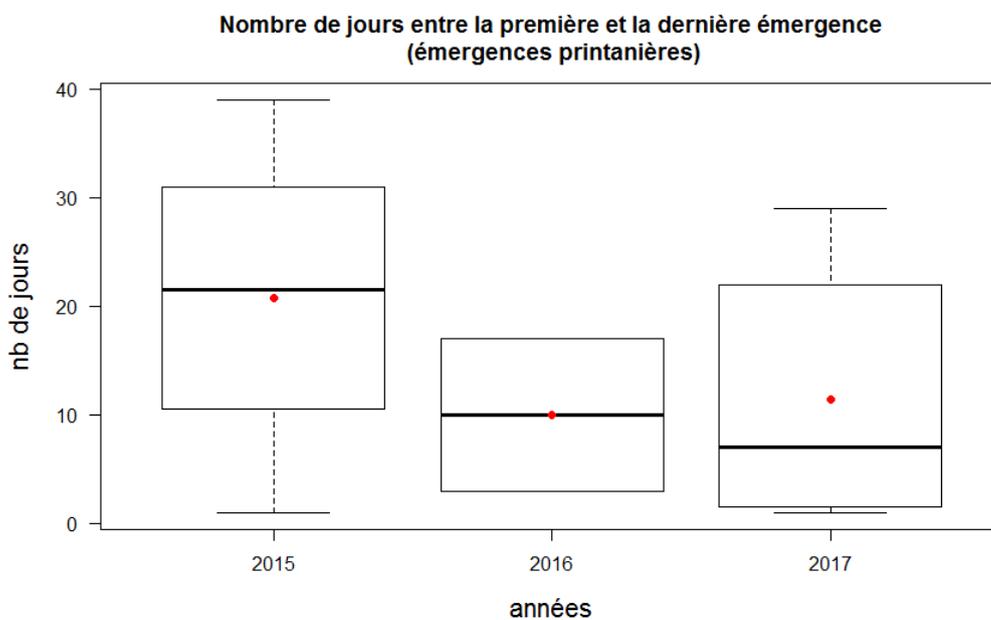
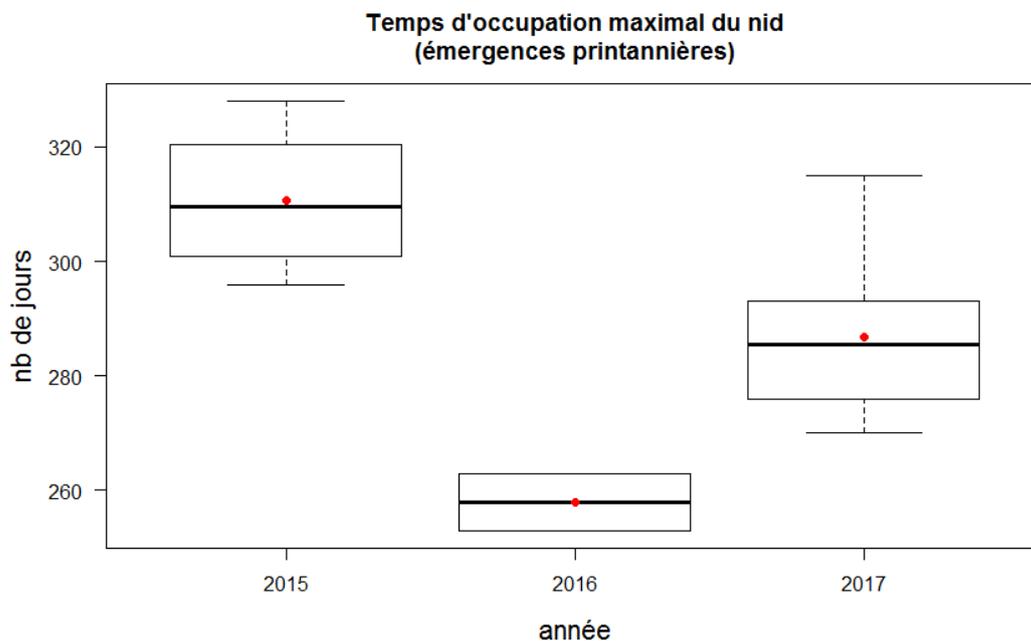


Figure 26 : Nombre de jour entre la première et la dernière émergence (émergences printanières)
(point rouge : moyenne annuelle)

En revanche, une analyse sur les nids d'émergence printanière, sur le temps maximal d'occupation du nid (= temps entre la ponte et la dernière émergence), nous indique que ce temps d'occupation des nids est variable selon les années (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 8,17$, $df = 2$, $p = 0,017$ figure 27). En d'autres termes, certaines années, les nids restent occupés beaucoup plus longtemps que d'autres. Le temps d'occupation maximal a été observé pour les nids de 2015 avec une moyenne de 310,8 jours ($\pm 13,5$), contre 258 jours ($\pm 7,1$) pour les nids de 2016, et 286,8 jours ($\pm 14,4$) pour ceux de 2017.



*Figure 27 : Temps d'occupation maximale du nid (émergences printanières)
(point rouge : moyenne annuelle)*

Enfin, les différences dans le nombre de jours passés dans le nid entre la ponte et la première émergence, selon la nature du site, ne sont pas significatives : 223,6 jours pour les digues (N=5) et 230,4 pour les prairies (N=15) (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 0,15$, $df = 1$, $p = 0,69$). La proportion d'émergences automnales ou printanières selon la nature du site n'est pas différente (Pearson $\chi^2 = 3,16$, $df = 3$, $p = 0,37$). Tout comme le temps entre la première et la dernière émergence, où la différence est plus importante mais toujours non significative : 2,3 jours pour les digues (N=3) et 17,8 pour les prairies (N=10) (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 3,51$, $df = 1$, $p = 0,06$).

3. 3. 6. Emergence et météorologie

Sur l'ensemble des 44 nids suivis depuis 2009, les taux d'embryons avortés semblent particulièrement liés à la pluviométrie du mois de juillet (corrélation de rang de Spearman, $r_s = 0,45$, $p = 0,002$, figure 28).

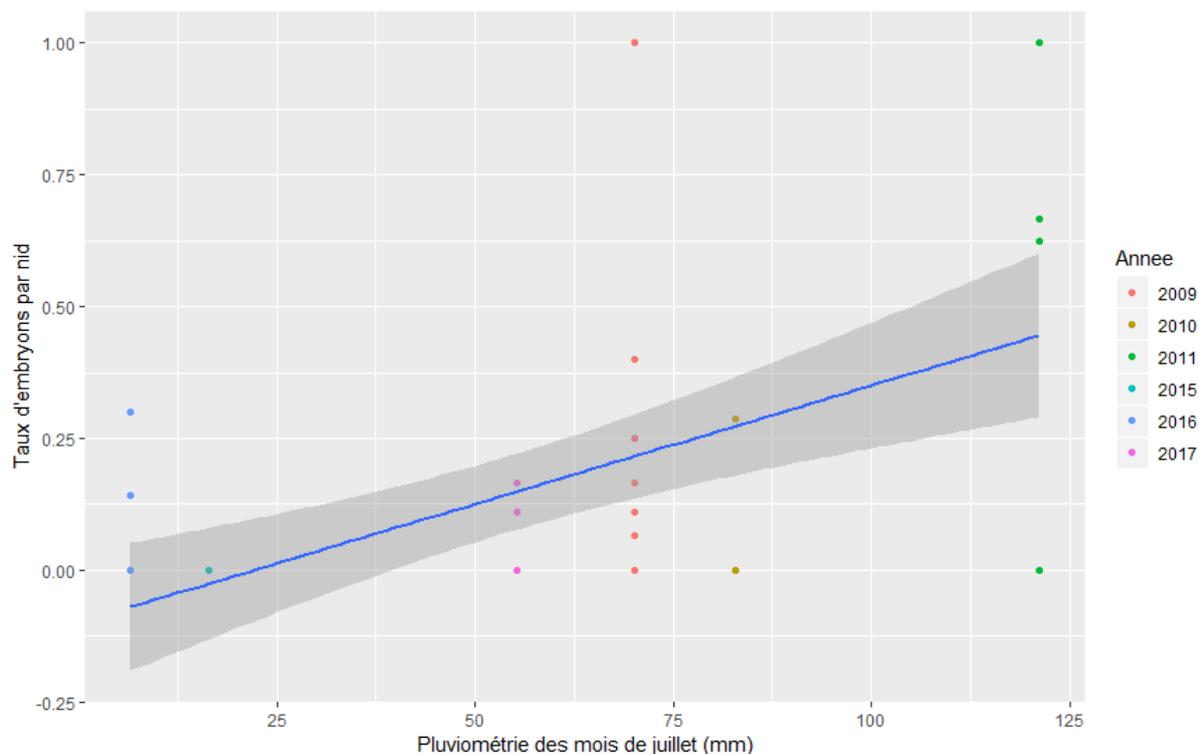


Figure 28 : Taux d'embryons avortés en fonction de la pluviométrie du mois de juillet

En revanche, nous n'avons pas trouvé d'éléments météorologiques explicatifs sur la phénologie et les temps d'occupation des nids parmi les covariables en notre possession (pluviométrie et température, ponctuelles et cumulées, ou données mensuelles globales).

3. 3. 7. Biométrie des émergents

A la sortie du nid, la longueur moyenne de la dossière est de 25,47 mm ($\pm 1,38$, min = 21,31, max = 27,95), pour un poids moyen de 4,6 g ($\pm 0,7$, min = 3,3, max = 6,1). La relation entre ces deux variables est très prononcée ($F_{1,67} = 161,6$, $p < 0,0001$, figure 29).

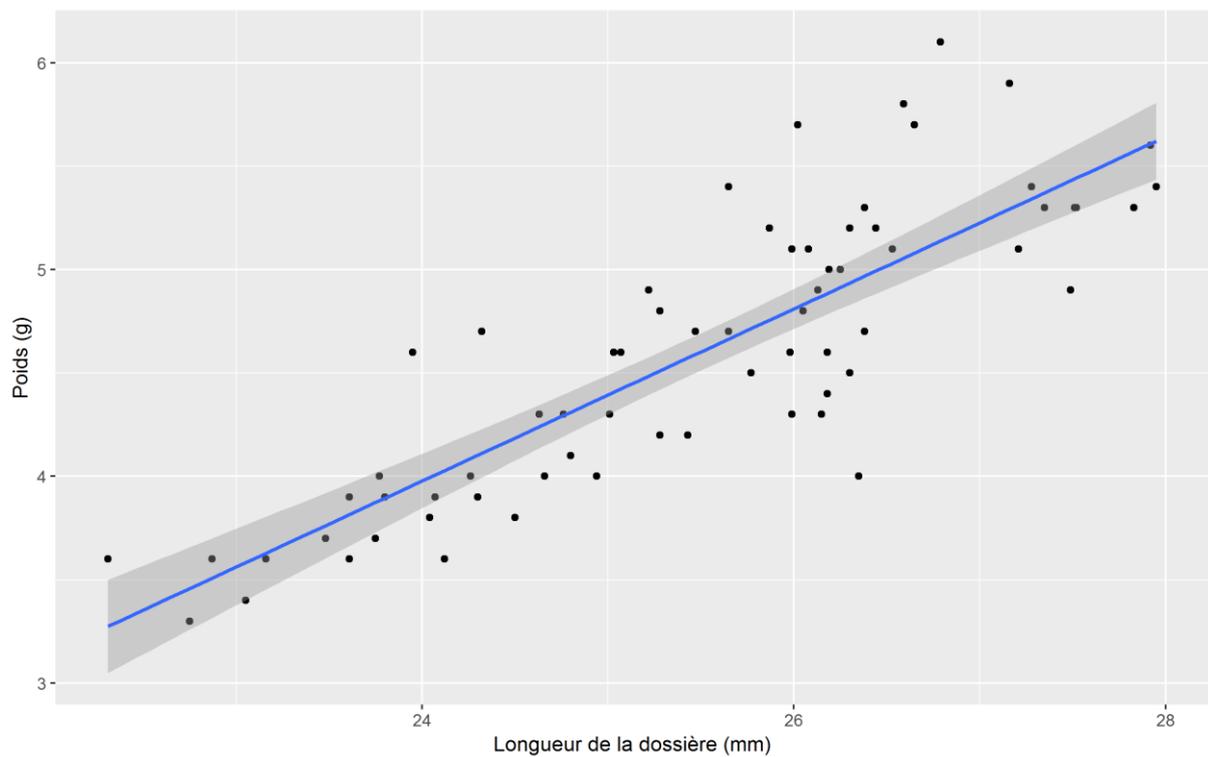


Figure 29 : Relation entre le poids et la longueur de la dossière des émergents

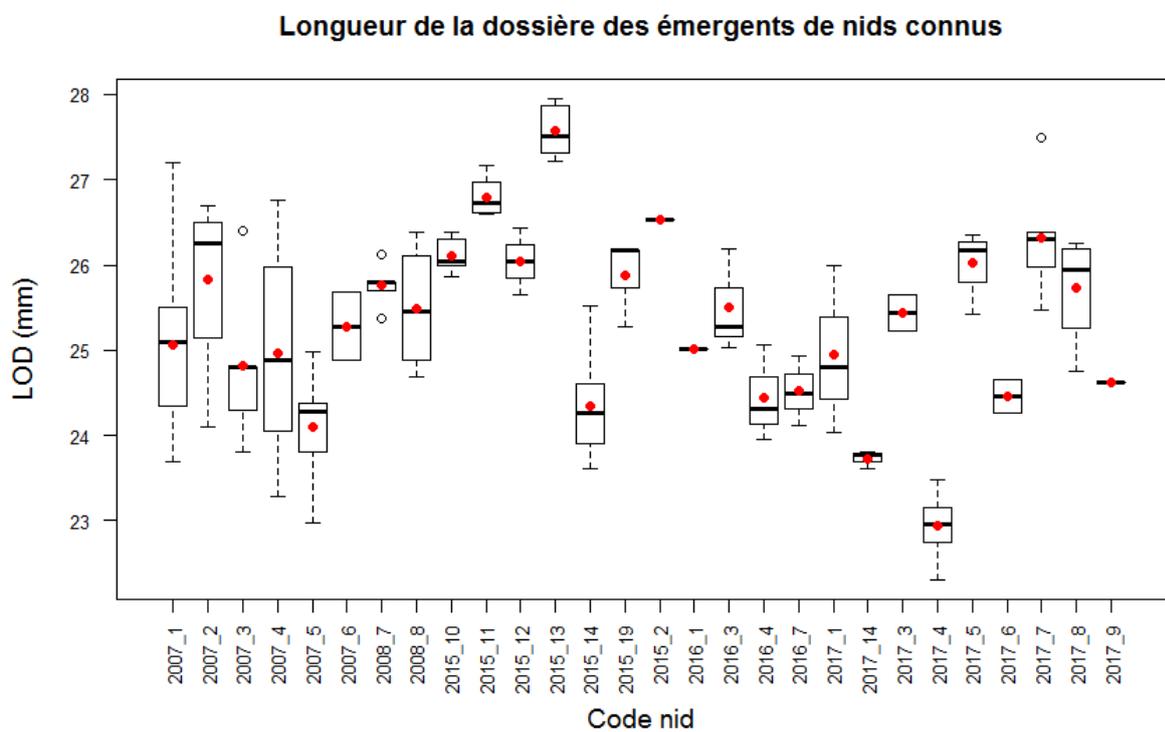


Figure 30 : Longueur de la dossière des émergents en fonction des nids
(point rouge : moyenne des nids)

Nous notons de fortes disparités entre les nids dans la taille des émergents sortant de terre (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 88,11$, $df = 27$, $p < 0,0001$). Les moyennes des tailles diffèrent également selon les années (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 25,28$, $df = 4$, $p < 0,0001$).

Les pistes sur la condition corporelle n'ont pas été explorées pour le moment.

3. 4. Discussion

L'analyse de nos résultats sur l'étude des nids en milieu naturel nous apporte de nouvelles connaissances avec des applications directes pour la conservation. Ainsi, nous avons pu estimer et quantifier l'intérêt de la réouverture des sites de ponte qui apparaît comme efficace à très court terme. De même, nous mettons en évidence l'efficacité de la mise en défens d'un site de ponte. Enfin, l'analyse de la phénologie des émergences et donc de l'occupation des nids par les nouveau-nés nous livre des informations complémentaires pour leur prise en compte dans la gestion des sites de ponte. Cependant, des pistes de suivi et d'analyse mériteraient d'être complétées au regard des informations acquises.

3. 4. 1. Intérêt de la réouverture des milieux pour la ponte

L'intérêt de la réouverture des milieux pour augmenter les surfaces disponibles pour la ponte des femelles de Cistude d'Europe est communément admis. Toutefois, à notre connaissance, il n'y a pas eu de vérification par la quantification des pontes. Nos résultats apportent une preuve de cet intérêt, qui plus est, dès la première année suivant l'action de gestion. De plus, cet intérêt va croissant, car dès l'année suivante (N+2), l'utilisation est plus importante encore. Cependant, nos résultats portent sur la réouverture de sites de ponte, car les milieux ouverts étaient autrefois utilisés par les femelles. La fermeture du milieu sur l'île de Ricot s'est déroulée dans les années 1980 (Trotignon, 2006). Elle est toutefois plus tardive sur les Terres de Renard puisque les étangs ont été créés en 1987, alors que la fermeture était en cours (*ibidem*). Or, il est connu que les femelles ont une fidélité relative au site de ponte (Thienpont, 2005; Mitrus, 2006; Najbar & Szuszkiewicz, 2007; Bona *et al.*, 2012). En effet, si la majorité est fidèle à son site de ponte à court terme (2-4 ans), à mesure que les années passent (8-12 ans), cette fidélité ne s'observe plus que chez quelques femelles (Mitrus, 2006). Le nombre d'années semble ici trop important pour envisager une mémorisation du site que sous-entend la considération de fidélité. Bien qu'à l'échelle d'une espèce longévive, il est probable que nombre de femelles aient connu ces milieux plus ouverts. De plus, certains

auteurs affirment une fidélité à plus long terme (60 - 70 ans) pour des individus dont l'âge est estimé à 120 ans en milieu naturel (Jablonski & Jablonska, 1998), longévité qui fut également observée, mais en captivité (Rollinat, 1934). L'étude qui annonce une fidélité à très long terme ne précise toutefois pas le contexte en termes de disponibilité et d'évolution des sites de ponte (Jablonski & Jablonska, 1998). C'est pourquoi nous restons prudents et considérons que nos résultats sont valables pour la remise en état de sites de ponte. L'extrapolation vers la création de sites ne nous paraît pas judicieuse et demanderait à être testée, bien que ces créations semblent *a priori* efficaces (Quesada *comm. pers.*). Cette utilisation rapide de sites de ponte rouverts est probablement à mettre en lien avec le comportement des femelles qui chercheraient d'autres sites en raison de conditions non favorables au nid, essentiellement liées à la fermeture (ombrage...), comme certains auteurs le supposent (Mitrus, 2006; Najbar & Szuszkiewicz, 2007; Bona *et al.*, 2012). Thienpont (2005) constate également que les fréquents changements observés dans la structure du paysage incitent les femelles à chercher de nouveaux sites. Ils expliqueraient le faible taux de fidélité observé sur les pourtours fréquemment modelé d'un étang. Toutefois, les femelles ne retournent pas immédiatement sur les sites de ponte redevenus favorables après l'arrêt des cultures (*Ibidem*), contrairement à ce que nous observons pour la réouverture de milieux.

Au-delà de cet aspect des modifications physiques, nos suivis des comportements de ponte par télémétrie nous indiquent que le dérangement lors de ces pontes (prédateurs, bétails, observateurs, nature du sol), amènent les femelles à changer de site et parfois parcourir de grandes distances cumulées pour échapper à ces dérangements. A titre d'exemple, une femelle a visité 3 sites de ponte, effectué 4 tentatives dont la dernière fut fructueuse, en l'espace de 10 jours pour une distance cumulée de 2,7 kilomètres. Ainsi, lors de ces recherches, le site rouvert peut être considéré comme favorable et utilisé pour la ponte.

3. 4. 2. Intérêt de la mise en défens d'un site de ponte

Concernant la mise en défens expérimentale, nous n'avons pas trouvé d'éléments de comparaison d'autres expériences de ce type sur l'espèce. Cette expérimentation nous indique une efficacité de cet aménagement, relative et améliorable. Elle représente un moyen simple, efficace et peu coûteux de favoriser la survie des nids. Elle est transposable sur tout site de ponte préalablement repéré pour sa concentration en nids. Il convient également de

bien connaître les principaux prédateurs spécifiques au site de ponte. En effet, l'efficacité en dépend. Sur notre site, les prédateurs principaux sont le renard, le blaireau et de gros mustélidés (*Martes* sp.). Par conséquent, l'installation les maintient à l'extérieur. Tout comme le sanglier, qui n'est pas, à notre sens, à la recherche spécifique des nids, mais peut en bénéficier lors de ses retournements du sol, et dont les impacts peuvent alors être importants sur des zones de forte concentration. En revanche, pour d'autres prédateurs connus, de plus petites morphologies (Baron, Rosoux & Duguy, 2001) tels que la belette, l'hermine, le putois ou encore le hérisson, l'efficacité est probablement très inférieure et demanderait à être testée. Leur utilisation implique des précautions dans la gestion pour ne pas créer une zone de fermeture du milieu qui serait alors contreproductive (Beau, 2019).

3. 4. 3. Composition des nids et taux d'émergence

Les analyses de la composition des nids nous indiquent que celle-ci peut être considérée comme équivalente au cours des années, à l'exception de 2011 qui diffère des autres années par une proportion d'embryons avortés très importante et la production d'aucun jeune viable. Il semble que les conditions d'incubation de cet été 2011 aient été insuffisantes à leur bon développement. En effet, l'humidité excessive du sol au mois de juillet entraînerait une trop grande absorption d'eau dans l'œuf, ce qui causerait sa fêlure et la mort des embryons (Pieau, 1974). Ceci est confirmé par nos observations sur les 6 années d'étude de composition des nids.

Le nombre d'œufs observés par nid conforte l'hypothèse selon laquelle la taille de la ponte augmenterait avec la latitude (Owen-Jones, 2015), mais également avec la longitude (vers l'est) (Thienpont, 2005). Nos résultats sont toutefois inférieurs à ceux des études passées en Brenne (Servan & Pieau, 1984; Owen-Jones, 2015). Concernant les émergences, nos résultats tendent à expliquer en partie pourquoi le taux de juvéniles dans les populations de Brenne est le plus faible d'Europe. En effet, outre des taux de prédation importants sur les nids (Owen-Jones, 2015; Beau, 2017), nos analyses sur les résultats des incubations nous indiquent des taux inférieurs à ce que l'on retrouve sur d'autres populations européennes. Ainsi, notre taux d'émergence moyen ($53\% \pm 41\%$, $n=44$ nids sur 6 années) est inférieur à une population autrichienne (76,6%, $n=16$ nids sur 1 année) (Rössler, 2000) ou encore à une population slovaque (60%, $n=5$ sur 1 année) (Bona *et al.*, 2017). Au-delà de ces pourcentages où il manque des fluctuations annuelles, il s'agit surtout du nombre de jeunes produits par nid

qui diffère considérablement. En effet, l'effectif moyen par nid en Slovaquie est plus de 2 fois supérieur au nôtre : 7,4 contre 3,37 (Bona *et al.*, 2017), et encore plus important en Autriche avec 9,4 émergents en moyenne (Rössler, 2000). D'autres auteurs nous donnent des informations parcellaires : en Espagne, sur 1 nid, le taux d'émergence est de 50% avec 4 émergents (Díaz-Paniagua *et al.*, 2014), en Isère ces taux fluctuent entre 0 et 46,1% (n=15 nids sur 2 années), sans connaître les effectifs d'émergents (Thienpont, 2005). De même, en Pologne, le nombre d'émergents par nid fait défaut et le taux moyen présenté de 62,3% (n=63 nids sur 10 années). Cette étude porte sur des œufs dont la fin de l'incubation est artificielle, il s'agit donc de taux d'éclosion. Il conviendrait de poursuivre de telles investigations sur l'ensemble de l'aire de répartition de l'espèce en conditions naturelles, tout comme cela a été fait pour d'autres paramètres de la fécondité, afin de pouvoir comparer entre zones géographiques.

Des observations de terrain de nouveau-nés morts, enlacés de racines lors de l'ouverture des nids, nous ont amené à nous demander si ce développement racinaire de la végétation ne pouvait pas entraver leurs capacités de mouvement et donc d'émergence. Nos résultats réfutent cette hypothèse car les taux d'émergence peuvent être considérés comme équivalents entre les émergences automnales et printanières. Concernant une hypothèse suggérée dans le passé, à savoir une incapacité des nouveau-nés à sortir des nids déposés sur des digues en raison du tassement du sol par la circulation d'engins (Kotenko, 2000; Owen-Jones, 2015), la variable « ponte sur digue » ou « dans une prairie » a été testée et ne montre pas de différence. Cependant aucun de ces nids n'a été tassé puisqu'ils étaient protégés et donc évités. La question reste donc en suspens

Lors de l'excavation des nids, nous avons constaté une prédation que nous pourrions qualifier de souterraine. En effet, en 2017, trois nids n'ont donné lieu à aucune émergence. Lors de l'ouverture, l'un d'eux était traversé par une galerie de micromammifères et a pu donner l'opportunité à un prédateur d'utiliser ce passage pour accéder au nid, protégé en surface par une cage. Les possibilités sont grandes et non vérifiables, il pourrait s'agir de micromammifères comme l'a décrit Rollinat (1934), mais également d'une Taupe d'Europe *Talpa europaea*, bien que la galerie ne soit pas typique de cette espèce, ou encore d'une Belette d'Europe *Mustela nivalis* qui est connue pour emprunter les galeries souterraines à la recherche de ses proies, ou encore de l'un des reptiles présents sur la Réserve tels que la Couleuvre verte et jaune *Hierophis viridiflavus*. Deux autres nids sans émergence ont été

particulièrement « nettoyés » par des fourmis bien présentes lors de l'excavation et dont la fourmilière était à proximité. L'impact des fourmis apparaît comme possible sous terre, dans un nid non ouvert (Najbar & Szuszkiewicz, 2005).

Outre les conditions d'incubation, malgré l'absence de différences observées entre les sites de ponte dans les taux d'émergence, il serait intéressant de poursuivre ces investigations sur un nombre de nids suffisants dans les mêmes conditions météorologiques, afin de rechercher si la sélection des habitats de ponte par les femelles a un impact sur les succès des nids comme cela est démontré chez d'autres espèces (Wilson, 1998; Kolbe & Janzen, 2002a)

3. 4. 4. Phénologie des émergences

Les émergences automnales qualifiées d'exceptionnelles en Brenne par le passé (Owen-Jones, 2015), ne l'ont pas été entre 2016 et 2018, car elles ont eu lieu tous les ans. L'analyse comparative avec l'époque 2009-2011 indique une différence significative. Toutefois, ces émergences automnales ne sont pas aussi précoces que ce que l'on peut observer dans diverses populations européennes, où celles-ci peuvent avoir lieu dès la seconde moitié d'août (Mitrus & Zemanek, 2000; Novotný *et al.*, 2004; Najbar & Szuszkiewicz, 2005; Bona *et al.*, 2017). Notre travail avait pour principal objectif de définir une période d'émergence afin de prendre en considération la présence de nouveau-nés encore dans le nid et donc sensibles aux actions de gestion des sites de ponte. Ainsi, il apparaît que les nids sont occupés par des nouveau-nés jusqu'au début du mois de mai. De plus, l'observation d'un nouveau-né toujours dans son nid le 22 mai peut laisser supposer que les émergences sont susceptibles de perdurer plus longtemps que nous le décrivons. Cependant, cet individu observé le 22 mai et qui s'était nourri des restes de sa fratrie (Beau & Brischoux, 2017), est mort le lendemain de son lâcher, comme les deux émergents sortis naturellement plus tôt de ce même nid. Ils présentaient tous une excroissance de la fermeture de la cavité coelomique et des yeux purulents, indiquant un état d'infection générale, confirmé par un vétérinaire de la faune sauvage (Biot, com. pers.). Il conviendrait toutefois de prolonger de tels suivis pour préciser une éventuelle date maximale des émergences.

3. 4. 5. Temps de présence dans le nid

Nos résultats concernant le temps de présence dans le nid sont plus longs que ceux tirés des rares données de la littérature. Ces dernières portent essentiellement sur les émergences automnales. Ainsi, nos valeurs basées sur 7 nids d'émergence automnale nous

indiquent un temps passé dans le nid compris entre 79 et 133 jours avec une moyenne de 112,6 jours ($\pm 17,1$). Ce temps est plus court en Pologne, avec un intervalle de 85 à 113 jours ($97,4 \pm 6,6$ jours, $n = 17$ nids) (Mitrus & Zemanek, 2000) ou encore en Italie avec 83-89 jours ($n=1$ nid) (Rovero & Chelazzi, 1996), en Slovaquie 74–89 jours ($n = 4$ nids) (Novotný *et al.*, 2004), et en Autriche avec 90-108 jours (Rössler, 2000). Enfin, Rollinat (1934) indiquait déjà des durées entre la ponte et les émergences de 82 à 98 jours bien que les œufs fussent manipulés pendant le développement et remis en terre pour l'éclosion. Les temps d'incubation en couveuses artificielles sont connues et vont de 55 à 75 jours selon les températures d'incubation (Pieau, 2004). Au vu de ces informations, seul un de nos nids semble avoir donné lieu aux émergences peu de temps après l'éclosion, car 2 émergents sont sortis après 79 et 83 jours passés dans ce nid. Nos résultats confirment donc la capacité bien connue de l'espèce à sortir juste après l'éclosion ou bien attendre plusieurs mois pour émerger après la période hivernale. Au-delà de ces informations sur les premières émergences, nos résultats indiquent que les temps d'occupation des nids peuvent être considérés comme différents entre années, que ce soit sur l'ensemble des nids ou de manière plus prononcée sur les nids d'émergence printanière. Pour rappel, le nombre de jours maximal observé est de 309 jours, soit plus de 7,6 mois passé dans le nid après éclosion. Malgré l'absence de relation mise en évidence entre la phénologie des émergences et les données météorologiques à notre disposition, il est fort probable que l'explication se trouve dans ces variables. Nous avons cependant besoin de plus de précisions sur les données spécifiques aux sites de ponte, voire au nid, pour comprendre les raisons de ces occupations prolongées pour certains nids. Il conviendrait donc de poursuivre ces investigations et mettre en place les éléments visant à acquérir ces données spécifiques.

3. 4. 6. Biométrie des émergents

Contrairement aux observations réalisées chez les adultes, la biométrie des émergents, bien que très variable selon les nids, semble similaire en fonction des zones géographiques (Servan & Pieau, 1984; Ayaz & Çiçek, 2011; Díaz-Paniagua *et al.*, 2014). Cependant, les données sont rares pour des nids développés en milieu naturel.

Le déficit de biométrie sur des émergents de l'automne ne nous permet pas de vérifier l'hypothèse selon laquelle les plus petits individus sont d'avantages susceptibles de sortir du nid à l'automne (chez *Chrysemys picta*) pour accroître leur réserve d'énergie avant d'hiverner

(Riley, Tattersall & Litzgus, 2014). De même, un accroissement des données d'automne pourrait nous apporter des éléments sur la condition corporelle des émergents et nous indiquer si cette dernière influe sur le choix de sortir ou de rester dans le nid pour hiverner. Il conviendra donc d'accroître les recherches dans ce domaine à l'avenir. De plus, il serait intéressant de rechercher les liens entre cette condition corporelle et la pluviométrie, dans l'hypothèse où l'eau contenue dans le corps des nouveau-nés dès de leur émergence permettrait de mieux supporter les risques de dessiccation. Hygrométrie corporelle qui serait en lien direct avec le substrat d'incubation. Ces émergents auraient alors une probabilité de survie supérieure (Finkler, 1999).

3. 5. Conclusion

Nos résultats, sur la base de protocoles simples de recherche de nids (viabiles ou prédatés), nous informent sur la capacité des femelles à utiliser des milieux ouverts par arrachage dès l'année qui suit cette opération. La mise en défens d'un site de ponte apparaît comme un moyen efficace pour protéger les nids au moment de la ponte, sur les zones où les taux de prédation peuvent être très importants. Ces deux expérimentations apportent alors des réponses possibles pour favoriser le recrutement de jeunes au sein d'une population, dans le contexte d'une baisse observée localement des taux de cette classe d'âge. Toutefois, des recherches plus poussées sur le lien entre les densités d'adultes et les taux de juvéniles à une large échelle seraient nécessaires pour réfuter l'hypothèse selon laquelle le recrutement de jeunes dans la population ne serait pas un facteur important pour le maintien de la population d'une espèce longévive comme la Cistude d'Europe *Emys orbicularis*.

Les taux des émergences observées varient de 0 à 100% entre nids ou entre années. Une pluviométrie importante au cours du mois de juillet, durant l'incubation, peut affecter les embryons et empêcher leur bon développement. En revanche, en l'état actuel de nos suivis, il ne nous a pas été possible de déterminer des liens entre la phénologie et la météorologie, vraisemblablement en raison d'un manque de précisions sur les données qui pourraient expliquer nos observations. Il conviendrait donc de poursuivre ce travail couplé à des acquisitions de données spécifiques aux nids (température et hygrométrie). De même, les émergences automnales sont plus importantes durant les trois dernières années par rapport aux suivis effectués 10 ans plus tôt. Qu'en sera-t-il les années à venir dans le contexte des changements climatiques ?

Toutefois, notre objectif premier était la connaissance de la phénologie des émergences. Ceci pour pouvoir appliquer des mesures de gestion qui intègrent l'occupation des nids par les nouveau-nés et non plus seulement la ponte des femelles. Il apparait donc clairement que les nids peuvent être encore occupés au début du mois de mai, voire jusque fin mai (données à préciser). Les futures préconisations de gestion devront intégrer cette utilisation des sites de ponte par les nouveau-nés, mais également par les émergents, une fois qu'ils sont sortis du nid (partie suivante).



4. Histoire de vie des émergents⁴

Cette partie, importante et attendue par les gestionnaires de sites naturels, englobe plusieurs aspects dont il sera tiré des analyses plus détaillées, pour produire plusieurs publications sur les diverses thématiques abordées (utilisation de l'habitat, survie etc.).

4. 1. Introduction

L'étude de la biologie et de l'écologie des premiers stades de vie des reptiles est bien souvent limitée en raison de problèmes d'échantillonnage en milieux naturels, ce qui engendre des méconnaissances (Pike *et al.*, 2008). En effet, les contraintes méthodologiques pour pouvoir révéler la présence d'individus particulièrement cryptiques pour certaines espèces sont importantes (Castellano, Behler & Ultsch, 2008). Pourtant, ces connaissances sont primordiales dans le cadre de la biologie de la conservation, afin d'assurer les recrutements de jeunes dans les populations, comme nous l'avons vu dans l'introduction de ce premier chapitre. Ainsi, ne tenir compte que de l'écologie des adultes dans la conservation des habitats et des ressources peut réduire le recrutement si les ressources nécessaires aux juvéniles sont différentes de celles des adultes (Paterson, Steinberg & Litzgus, 2012). Et ce, même s'il semble que pour des espèces longévives l'impact soit moindre (Heppell, 1998).

Chez les émergents de tortues d'eau douce, de nombreuses études portent sur des expérimentations visant à tester des hypothèses de prédation, d'orientation ou de déplacement en conditions contrôlées (e.g. Congdon *et al.*, 2011, 1999; Iverson *et al.*, 2009; Janzen *et al.*, 2000; Kolbe and Janzen, 2002; Myers *et al.*, 2007; Zuffi, 2017). Il existe peu de suivis en conditions naturelles, compte tenu des contraintes précédemment décrites. Toutefois, la mise en place de barrières entre le nid et les milieux aquatiques (Tucker, 2000), ou l'emploi de pigments fluorescents (Butler & Graham, 1993; Tuttle & Carroll, 2005) ou encore l'utilisation récente d'émetteurs suffisamment petits pour être placés sur des individus de quelques grammes (Ultsch, Draud & Wicklow, 2007; Castellano *et al.*, 2008; Najbar & Mitrus, 2013) ont permis d'obtenir des informations nouvelles sur certaines espèces. Ces études sur les comportements post-émergence portent principalement sur des suivis d'émergents sortis du nid en fin d'été (Tuttle & Carroll, 2005; Ultsch *et al.*, 2007; Castellano *et*

⁴ Nouveau-nés sortis du nid

al., 2008; Paterson, Steinberg & Litzgus, 2014) ou au printemps (Paterson *et al.*, 2012; Najbar & Mitrus, 2013). Des études comparatives entre saisons d'émergences pour une même espèce semblent manquer.

Les mouvements des émergents de tortue d'eau douce apparaissent comme le résultat d'un compromis entre le risque de prédation et celui de dessiccation (Kolbe & Janzen, 2002b) dont la pluie serait un facteur de déclenchement des déplacements (Tuttle & Carroll, 2005). Chez la Tortue serpentine *Chelydra serpentina*, certains individus ont des déplacements rapides et directs vers les milieux aquatiques, ce qui limite l'exposition aux prédateurs, mais accroît les pertes d'eau de leur organisme, alors que d'autres retardent ces déplacements pour limiter la perte d'eau, ce qui accroît les probabilités de prédation (*Ibidem*). Cependant, l'accroissement du temps passé en phase terrestre ne semble pas empêcher la perte de poids, au contraire : il a été noté des pertes de 11,5% du poids initial chez la Tortue de Floride *Trachemys scripta elegans* lors de migrations vers les milieux aquatiques, qui peuvent durer plus d'un mois (Myers *et al.*, 2007). D'autres auteurs indiquent des migrations beaucoup plus rapides entre 1 et 9 jours pour rejoindre un point d'eau, suggérant un phénomène de « ruée vers l'eau » pour la Tortue mouchetée *Emydoidea blandingii* (Butler & Graham, 1995) ou encore chez la Tortue des bois *Glyptemys insculpta* (Tuttle & Carroll, 2005). A l'inverse, cette même espèce est aussi connue pour avoir un comportement beaucoup plus terrestre, certains émergents n'ayant pas migré directement vers les points d'eau et ayant eu une phase terrestre de plusieurs jours à quelques semaines (Castellano *et al.*, 2008). La plupart de ces espèces ont la capacité de se nourrir à terre (Castellano *et al.*, 2008). Ces variations de distance et vitesse de déplacement, ou encore les taux de survie durant cette phase critique seraient corrélées à des facteurs tels que la taille des émergents (Tucker, 2000), leur déshydratation (Finkler, 2001; Kolbe & Janzen, 2002b), le risque de prédation (Janzen *et al.*, 2000; Janzen, Tucker & Paukstis, 2007), la distance des points d'eau (Najbar & Mitrus, 2013), etc. L'eau serait donc l'élément clé qui expliquerait les mouvements et la survie ; pas uniquement l'eau disponible des milieux aquatiques, mais également les pluies et l'eau contenue dans les organismes (Finkler, 1999, 2001; Kolbe & Janzen, 2002b; Castellano *et al.*, 2008; Paterson *et al.*, 2012, 2014), tout ceci étant étroitement lié.

La Cistude d'Europe est une espèce qui fait l'objet de nombreuses études, pourtant les connaissances sur le devenir des émergents une fois qu'ils ont quitté le nid sont très rares. A notre connaissance, seule une publication apporte des informations sur les premiers moments

de vie des émergents (Najbar & Mitrus, 2013). Or ces informations sont primordiales dès lors que des actions de gestion sur les sites de ponte sont envisagées. La plupart des guides techniques de référence pour la gestion conservatoire de l'espèce (Cadi & Faverot, 2004; Priol, 2009; Barthe, 2012) sont antérieurs aux travaux de Najbar et Mitrus (2013) et ne peuvent donc intégrer ces nouvelles données. De plus, comme nous l'avons abordé dans la partie précédente, les préconisations de gestion sur les sites de ponte se basent essentiellement sur l'utilisation des sites par les femelles et non par les émergents. Lorsque ces derniers sont pris en compte, leur utilisation du milieu relève plus de suppositions que de réels suivis. En effet, les émergents sont particulièrement cryptiques en phase terrestre, de par leur morphologie et leur comportement. C'est pourquoi la grande rareté, voire l'absence d'observations sur le milieu terrestre, couplée aux contacts avec des émergents en milieu aquatique, amènent les gestionnaires d'espaces naturels à considérer qu'un phénomène de « ruée vers l'eau » serait la règle, à l'image des tortues marines sortant de leur nid pour gagner l'eau le plus rapidement possible et nager avec frénésie (Wyneken & Salmon, 1992). De plus, le peu de littérature sur la Cistude d'Europe vient appuyer cette hypothèse en indiquant des émergences rapides, en deux jours, puis une migration en différentes directions à la recherche d'eau (Novotný *et al.*, 2004; Zinenko, 2004). Ce qui conforte l'idée d'une utilisation temporaire de l'habitat terrestre (sites de ponte) par les émergents.

Ainsi, l'absence d'observations en phase terrestre amène à « oublier » les émergents. Toutefois, l'absence de preuves n'étant pas la preuve de l'absence, nous nous sommes interrogés sur le bienfondé de cette hypothèse, d'autant que les travaux les plus récents sur cette espèce tendent à montrer le contraire (Najbar & Mitrus, 2013). En outre, les émergents de Cistude d'Europe ont aussi la capacité de se nourrir à terre (Zinenko, 2004; Beau & Brischoux, 2017). Les rares travaux sur les taux de survie des émergents de cistude au cours de leur première année de vie, indiquent des valeurs très faibles (Paul, 2004; Mitrus, 2005). La prédation des émergents est alors supposée importante mais les causes de mortalité manquent de renseignements.

Comme pour la partie précédente, les objectifs multiples ont un but commun : l'acquisition de connaissances sur les premiers moments de vie des émergents de Cistude d'Europe, afin de proposer des mesures de gestion conservatoire des sites de ponte. Le premier objectif était de vérifier l'hypothèse de « ruée vers l'eau » des émergents, puis de décrire leur utilisation de l'espace disponible, leur éventuelle plasticité, d'identifier ensuite les

facteurs pouvant être responsables d'hypothétiques variations. Enfin, des données sur la survie et la prédation de ces premiers moments du cycle de l'espèce ont été obtenus et sont décrites.

4. 2. *Matériels et méthodes*

Les généralités sur les techniques de triangulation ou du « homing-in » auxquelles nous avons eu recours sont présentées dans la méthodologie générale (§3.2).

Lors du suivi des émergences, les individus qui sortent du nid sont identifiés et mesurés comme les adultes (cf. méthodologie générale). Ils ne sont toutefois pas marqués à ce moment-là car leur carapace est trop molle. Ils peuvent l'être ultérieurement lors de la phase de retrait définitif de l'émetteur, si la durée a été suffisamment longue pour obtenir une carapace qui permette un marquage à l'aide de ciseaux de chirurgie. Ils sont alors sélectionnés essentiellement sur la base de leur masse et les individus les plus « lourds » sont équipés sur 2 sites de ponte lors de la première année. Les besoins d'informations complémentaires se sont ajoutés à la sélection par la masse les années suivantes.

Les émetteurs employés sont de la marque ATS (Advanced Telemetry Systems®), modèle A2414 et dont le poids total est de 0,3 g. Ils sont collés à l'aide d'une pointe de colle époxy à prise rapide. L'émetteur est alors peint en noir de façon indélébile pour cacher les composants électroniques visibles de couleur vive (argenté) (figure 31). Après séchage, l'individu équipé est alors relâché à l'endroit de son émergence dans les plus brefs délais, avec comme facteur limitant le séchage intégral de la colle. Les émergents sont ensuite localisés deux fois par jour lors de la première semaine (seulement pour la première année), puis de manière quotidienne, et une fois tous les 2 ou 3 jours après plusieurs semaines de suivi.

Lors de chaque recherche, une fois le signal localisé précisément, un contact visuel est tenté. A défaut, les informations sont enregistrées et l'individu est signalé comme « non vu ». Le contact visuel n'est pas systématiquement recherché pour ne pas laisser de traces olfactives aux prédateurs. Si le signal ne bouge pas pendant plusieurs jours, l'émetteur est alors recherché pour savoir s'il est toujours attaché à l'émergent et si ce dernier est en vie. Une fois localisé avec précision, avec ou sans contact visuel, l'emplacement est marqué par un piquet. Celui-ci sert de repère lors du passage suivant pour rechercher le signal dans ce secteur, et localiser rapidement les émergents avant de nous déplacer sur la zone de présence, et risquer un écrasement pour des individus très cryptiques. Il sert également de repère pour

la prise de mesure du déplacement entre deux pointages. Cette mesure est prise en ligne droite à l'aide d'un décimètre. A cela s'ajoute un géo-référencement par GPS (Garmin® eTrex 20x, $\pm 3\text{m}$), plus une localisation sur une image géo-référencée, provenant d'un drone (DJI® Mavic pro), dans la limite des secteurs photographiés.

Une fiche est alors remplie avec les informations suivantes pour chaque individu : heure, coordonnées GPS, contact visuel (oui/non), distance par rapport au dernier contact (en m), comportement (immobile, déplacement, autre), exposition par rapport au soleil (ombre/soleil), milieu occupé (milieu sec ou aquatique : flaque/sillon, mare, fossé, étang, autre), présence et épaisseur de la couche de matière organique. Puis, en phase immobile, un relevé phytosociologique sommaire est réalisé sur une surface de 1 m^2 autour de l'émergent, dans la limite des plantes identifiables en début de saison, les strates sont relevées séparément et un coefficient d'abondance-dominance est indiqué. Le pourcentage de recouvrement de la végétation est renseigné (total et par strate). Ce relevé n'est reconduit que lorsque l'émergent a gagné un autre secteur. Trois pièges photographiques sont placés sur 3 zones de présence des émergents pour noter les comportements des prédateurs à proximité de ceux-ci.

Les émetteurs ayant une courte durée de vie, entre 1 et 2 mois selon leur configuration, ils sont retirés et remplacés une ou deux fois avant d'être hors service. Disposant de 20 émetteurs chaque année, la première année, nous avons choisi d'équiper 15 émergents et les avons remplacés sur 5 encore en vie. Au cours des années suivantes, nous avons choisi d'équiper moins d'individus et de remplacer les émetteurs 2 fois, afin de disposer d'un suivi aussi long que possible en fonction des caractéristiques des émetteurs.



Figure 31 : Emergent équipé d'un émetteur (en phase de déplacement)

Les analyses de survie ont été réalisées sur la base des histoires de vie construites comme suit : lors de chaque pointage il est indiqué 00 si l'individu n'est pas vu à cette occasion, 10 s'il est vu et 11 s'il est mort ou si l'émetteur est perdu/seul/hors service ou décollé (que l'individu soit vivant ou mort) (Barbraud, *com. pers.*).

Les données météorologiques sont issues de stations en périphérie du site d'étude (cf. matériels et méthodologie générale §4.1.2).

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R[®], les cartographies avec QGIS[®], et Excel[®] a été utilisé pour quelques graphiques. Le choix du calcul des domaines vitaux s'est orienté vers la méthode du polygone convexe (100%) (Row & Blouin-Demers, 2006).

4.3. Résultats

En préambule, nous précisons que l'emploi d'émetteurs sur les émergents ne semble pas altérer leur capacité de déplacement (Ultsch *et al.*, 2007; Najbar & Mitrus, 2013). Selon les émergents, l'émetteur représente entre 4,9 et 8.8% de leur poids (moyenne = $6,5 \pm 1\%$), ce qui est inférieur aux travaux cités. Argument supplémentaire s'il en est besoin, c'est le plus petit émergent (3,6g) qui a effectué les déplacements les plus importants et dont le domaine vital à la fin du suivi a été le plus grand. Les caractéristiques des émetteurs n'ont permis que des suivis relativement courts mais riches d'enseignements.

4. 3. 1. Pression d'observation

Quinze émergents ont été équipés en 2016, 11 en 2017 et 12 en 2018. Tous étaient des émergents issus d'émergences printanières (38). Parmi eux, 34 étaient issus de nids connus, 4 autres étaient des individus trouvés en déplacement et équipés, dont un a pu être suivi au cours de 2 périodes sur 2 années consécutives. Aucun nouveau-né sorti du nid à l'automne n'a été équipé. La première année, le suivi nous a apporté des informations pendant 49 jours, entre le 23 mars et le 10 mai 2016. En 2017, ce suivi a duré 130 jours, du 12 mars au 19 juillet. En 2018, la période a été de 106 jours entre le 16 mars et le 29 juin. Selon la configuration des émetteurs, le nombre de jours moyen de suivi par émergent a différé entre années, le plus long suivi pour un individu a été de 46 jours en 2016 (moyenne = $28,5 \pm 9,4$, $N = 15$), de 90 jours en 2017 (moyenne = $41,7 \pm 35,9$, $N = 11$), et également de 90 jours en 2018 (moyenne = $49 \pm 21,6$, $N = 12$). Les données ont été collectées quotidiennement sur l'ensemble du suivi de la première année, soit 49 jours, contre 55 jours en 2017 et 58 jours en 2018. Le reste du suivi a été effectué tous les 2 ou 3 jours selon les besoins et les contraintes. Dans ce contexte, notre effort de suivi représente 1298 contacts avec les émergents, respectivement 408, 371 et 519 selon les années.

Les analyses suivantes concernent essentiellement 30 individus (sauf mention spéciale), 4 ne sont pas retenus : 2 en raison de leur mauvais état sanitaire (cf. partie précédente), ils sont morts le lendemain ou le surlendemain de leur lâcher, 1 car il a fait l'objet d'un déplacement manuel pour éviter un écrasement pas les visiteurs sur le site de la Maison de la Nature, et 1 dont l'émetteur s'est décollé dès le premier jour (défaut de collage). Les temps de suivi individuel sont présentés dans la figure ci-dessous afin de préciser les données dans leur contexte (figure 32).

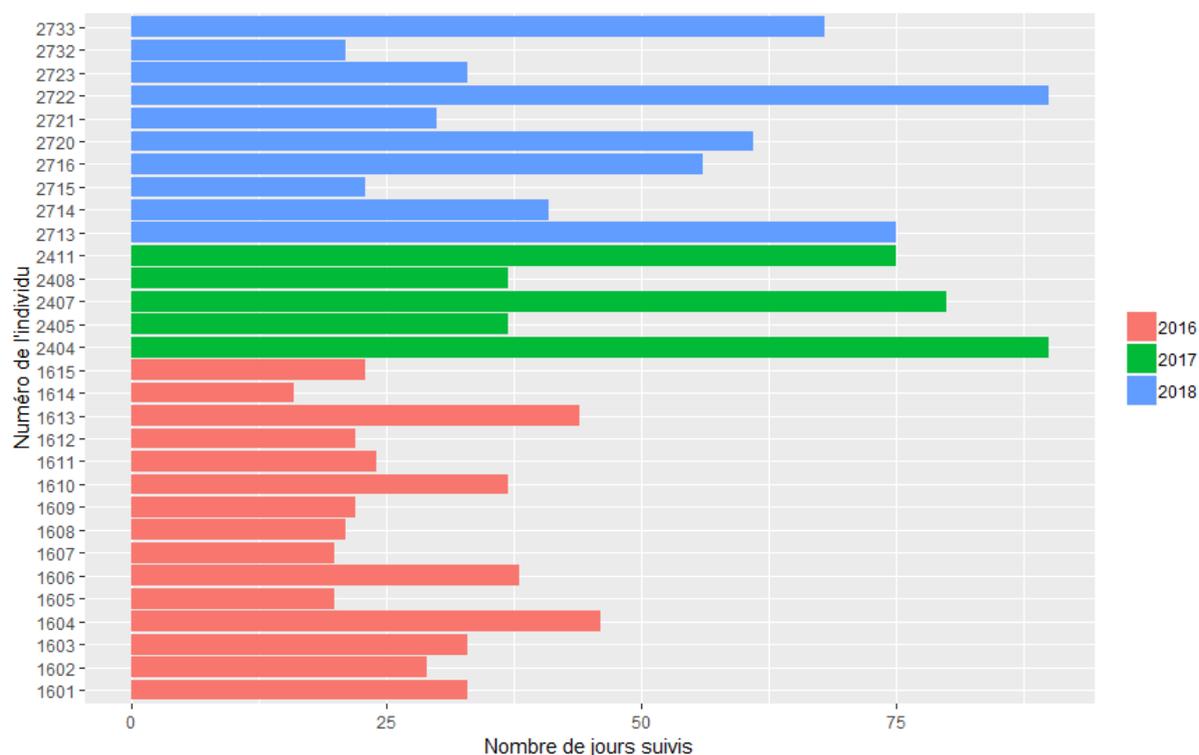


Figure 32 : Nombre de jours suivis par individu

4. 3. 2. Conditions météorologiques

La pluviométrie cumulée sur la période de suivi, à savoir de mars à juin compris, a été la plus importante en 2016 (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 11,29$, $df = 2$, $p = 0,004$), avec plus de 400 mm contre 238 en 2017 et 253 en 2018. De même, 2016 se distingue des 2 autres années par des températures moyennes (sur la période de suivi) inférieures aux deux autres (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 8,83$, $df = 2$, $p = 0,012$) avec 12,5°C contre 14,4°C en 2017 et 14,3°C en 2018.

La période mars-avril 2017 marque un déficit hydrique important. En effet, la pluviométrie est de 91 mm sur cette période, par rapport aux deux autres années, où elle est de 152 mm en 2016 et 153 mm en 2018 (figure 33). C'est au cours de ces deux mois qu'est réalisée la majorité des observations, bien que les suivis aient pu durer jusqu'au mois de juillet. Les analyses mensuelles des températures nous indiquent un mois de mars 2017 plus chaud que les deux autres mois de mars (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 20,04$, $df = 2$, $p < 0,0001$). Pour le mois d'avril, c'est en 2018 qu'il est le plus chaud (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 15,23$, $df = 2$, $p = 0,0005$).

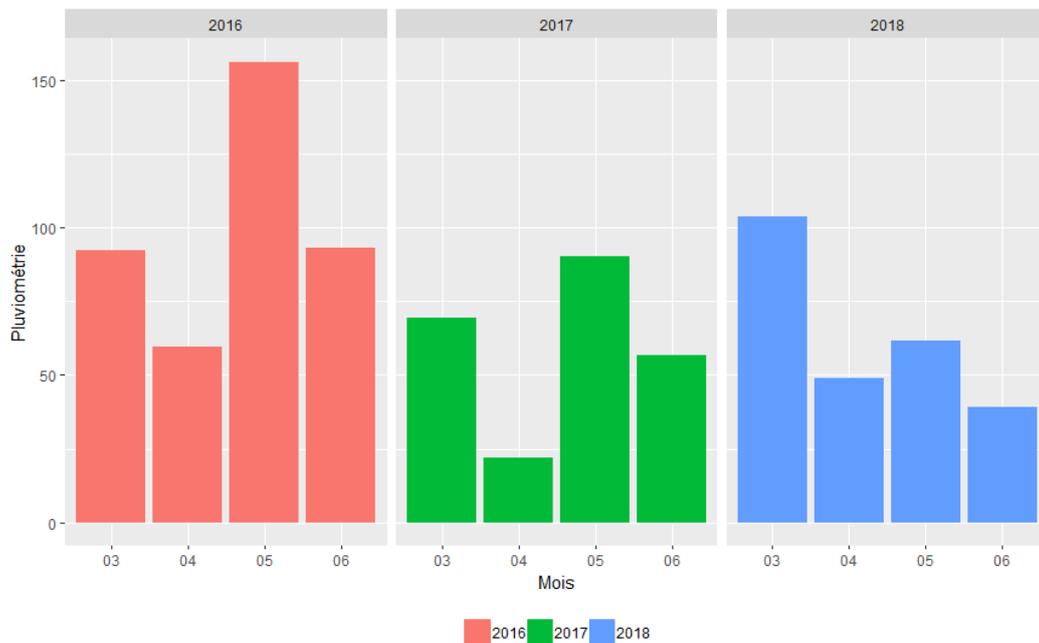


Figure 33 : Pluviométrie au cours des suivis

4. 3. 3. Ruée vers l'eau

Parmi ces 30 émergents, 23 (76,7%) ont rejoint un milieu aquatique avant la fin de leur suivi, et 7 (23,3%) ne l'ont pas fait. Ces premiers milieux rejoints par les émergents vont de milieux très temporaires - trou créé par le fouissement de sangliers (2 individus), sillon (vestige d'un mode de culture céréalière passé : 6 individus), flaque d'eau (4 individus) - à quasi-permanents : étangs (5 individus), mares (4 individus); en passant par des milieux intermédiaires : fossé (2 individus). Le nombre de jours mis pour rejoindre les milieux aquatiques pérennes (mare, étang ou fossé) est de 1 à 35 jours avec une moyenne de 18,1 jours ($\pm 13,8$). Certains individus passent d'abord par des milieux temporaires (sillon ou flaque) et mettent de 1 à 25 jours pour les rejoindre, avec une moyenne de 12,2 jours ($\pm 10,2$). Une analyse globale des premiers milieux rejoints nous indique que ce temps diffère selon les années (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 6,17$, $df = 2$, $p = 0,046$, figure 34). Dans l'ordre décroissant, une moyenne de 21 jours a été constatée pour rejoindre ces milieux en 2017 ($\pm 5,8$), 12,9 jours en 2016 ($\pm 8,6$) et 6,8 en 2018 ($\pm 11,7$).

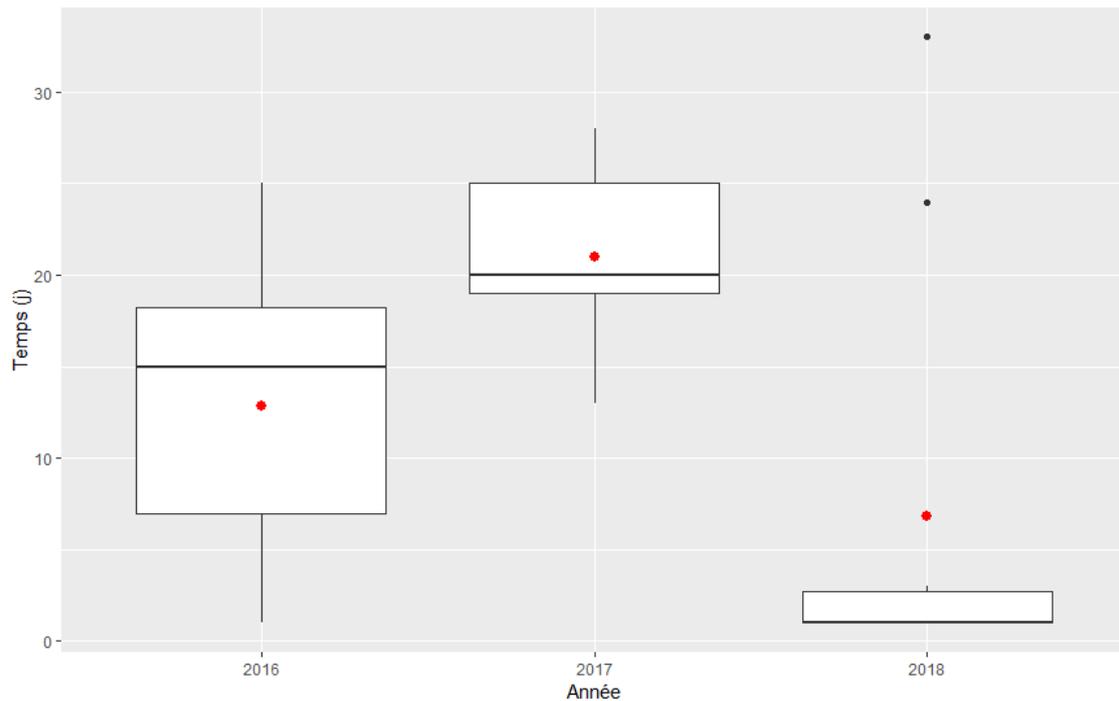


Figure 34 : Temps pour rejoindre un milieu aquatique selon les années
(En rouge : moyenne annuelle)

En revanche, les temps mis pour rejoindre un milieu aquatique ne peuvent pas être considérés comme différents en fonction des nids (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 13,05$, $df = 10$, $p = 0,22$).

De même, lorsque nous individualisons les sites de ponte par année, nous ne notons pas de différences dans les moyennes des temps mis pour rejoindre le premier site aquatique : tous les tests de Kruskal-Wallis sont non significatifs ($p > 0,1$). En revanche, une attention particulière sur le site de la « Petite Lande » nous indique que ces temps sont plus longs sur ce site que sur l'ensemble des autres sites (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 6,79$, $df = 1$, $p = 0,009$). Ce site de ponte étant celui où les milieux aquatiques sont les moins disponibles car les plus distants des nids et les plus tributaires de la pluviométrie. Nous retrouvons ce résultat avec une analyse linéaire qui nous indique que le temps mis pour rejoindre le point d'eau est fortement lié à la distance qui sépare l'émergent de ce point d'eau ($F_{1,20} = 9,42$, $p = 0,006$, figure 35).

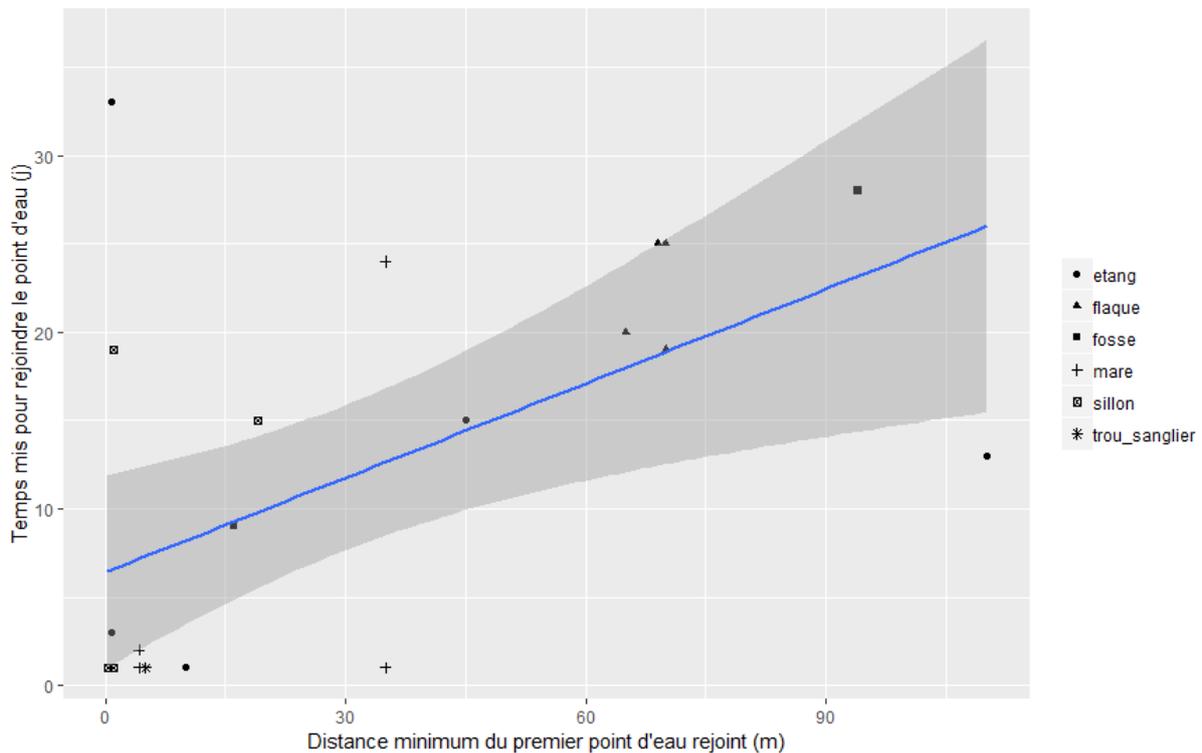


Figure 35 : Lien entre le temps mis pour rejoindre un point d'eau et la distance qui le sépare du nid

Inversement, si l'on s'attarde sur la phénologie de la présence en milieu terrestre, la date la plus tardive d'un émergent encore à proximité du site de ponte est le 4 mai 2016 pour une émergence ayant eu lieu de le 28 mars. Il se trouvait à 110 m du nid alors qu'un fossé était présent à 90 m de celui-ci.

L'individu le plus proche de son nid à la fin de son suivi se situait à 9,5 m de celui-ci le 29 avril, après avoir fait 24 m cumulés en 38 jours, alors que les milieux aquatiques à proximité se situaient à 20 m pour une mégaphorbiaie inondée en lien avec l'étang, et à 36 m pour la végétation rivulaire de l'étang.

4. 3. 4. Déplacements

Après avoir été équipés et relâchés, lors de la première journée, les émergents parcourent entre quelques centimètres et 40 m pour se cacher dans la végétation.

Une analyse générale des distances cumulées (excluant le premier jour de suivi), pondérées par le nombre d'individus suivis le jour J, et avec pour origine le jour de l'émergence de chaque individu, nous indique une mobilité plus importante en 2017 (figure 36). En 2016 et 2018, les quinze premiers jours après leur émergence, les jeunes tortues ont été quasiment sédentaires.

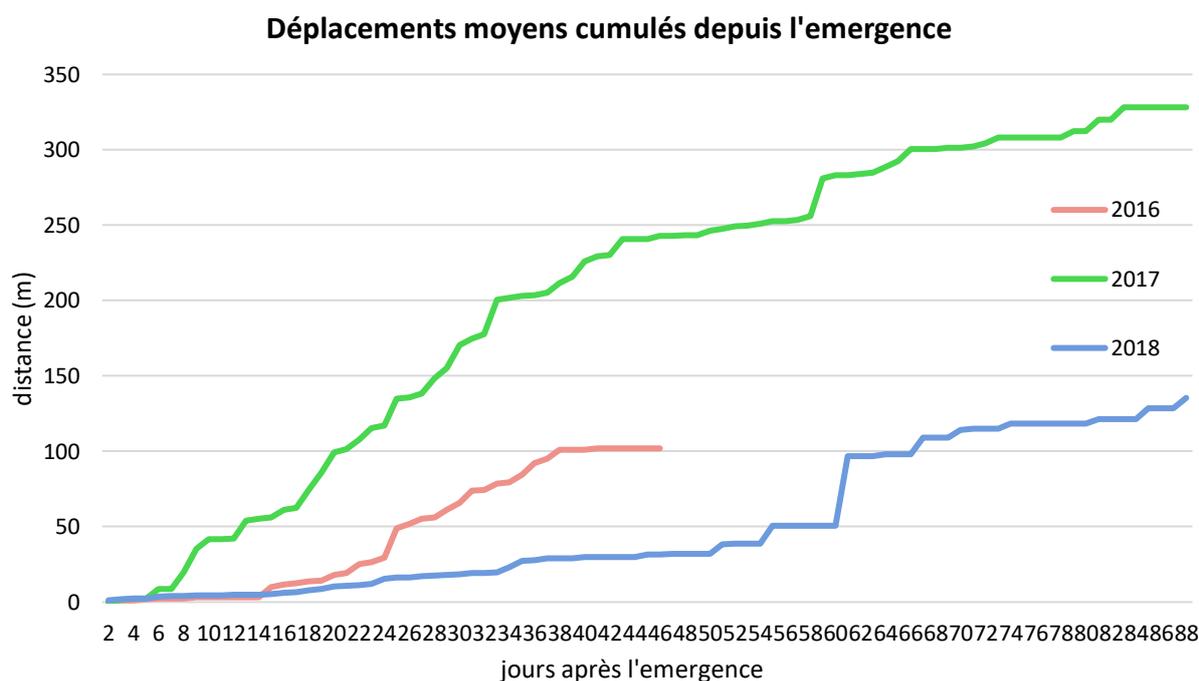


Figure 36 : Déplacements moyens cumulés depuis l'émergence, selon les années

Les distances cumulées totales ne sont pas identiques entre années (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 9,22$, $df = 2$, $p = 0,0099$, tableau 3). Ce même résultat est conservé, mais de manière moins marquée, sur les déplacements journaliers moyens par individu, avec des émergents plus mobiles en 2017 que sur les 2 autres années (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 7,63$, $df = 2$, $p = 0,02$, figure 37). De plus, les fréquences de déplacement ont été plus importantes en 2017 (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 7,99$, $df = 2$, $p = 0,019$).

Tableau 3 : Synthèse des distances cumulées (en mètre)

	2016	2017	2018
N individu	15	5	10
Moyenne	54,4	242,2	59,7
Ecart type	64,8	118,5	89,3
Minimum	0	126	4,2
Maximum	207,5	441,5	299,2

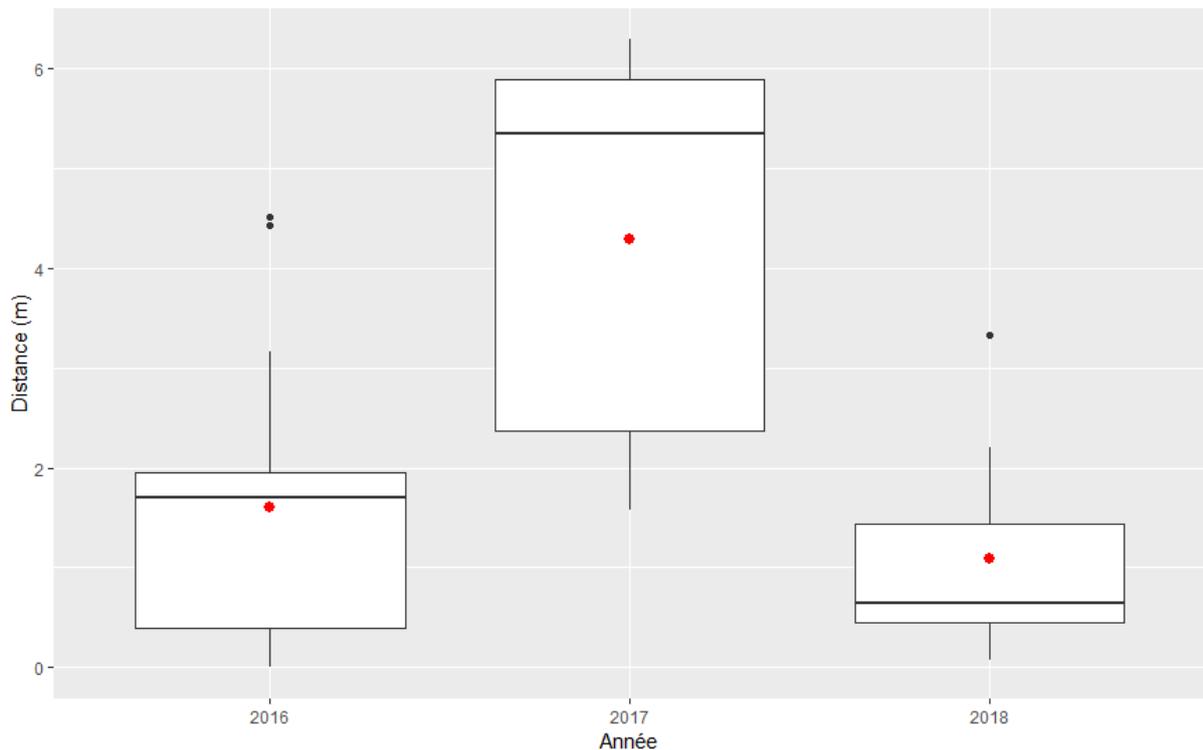


Figure 37 : Déplacement journalier moyen selon les années
(En rouge : moyenne annuelle)

Nous ne notons pas de différences entre nids sur les déplacements moyens journaliers (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 14,97$, $df = 11$, $p = 0,18$).

Le lien entre les déplacements et les pentes n'ont pas été réalisés puisque tous les sites, à l'exception d'un, n'ont aucune pente marquée. Le seul site avec une légère pente a fait l'objet du suivi de 2 émergents issus du même nid, ce dernier étant situé sur une bande de 10 m entre deux mares. Leurs premiers déplacements ont été en sens inverse, l'un montant, l'autre descendant, puis les deux individus se sont retrouvés dans le point d'eau en contrebas.

4. 3. 5. Mode de déplacement

Les calculs des domaines vitaux que nous développerons plus loin, nous permettent d'illustrer les comportements de déplacement des émergents. Ainsi, la représentation graphique de l'accroissement quotidien des domaines vitaux par individu nous permet de distinguer les phases de déplacement de celles qui sont plus sédentaires, et nous indique des déplacements en « sauts de puce » (figure 38).

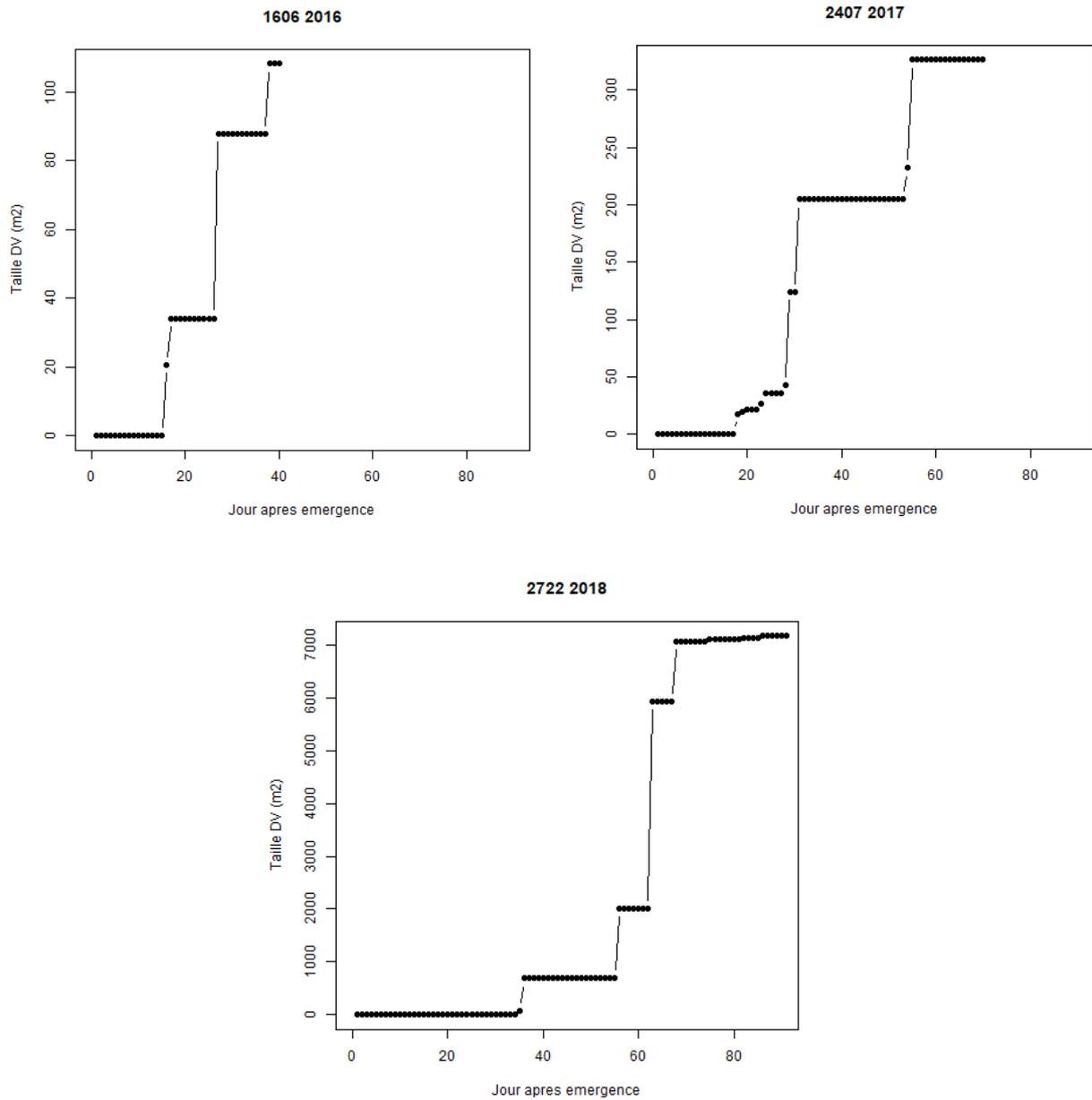


Figure 38 : Accroissement du domaine vital au cours du temps pour 3 émergents

Les émergents qui ont pu atteindre des milieux aquatiques permanents tels qu'un étang, un fossé ou une mare, se sont déplacés de manière relativement optimale. En effet, la distance cumulée observée est proche de la distance minimum qui sépare le nid du point d'eau (figure 39).

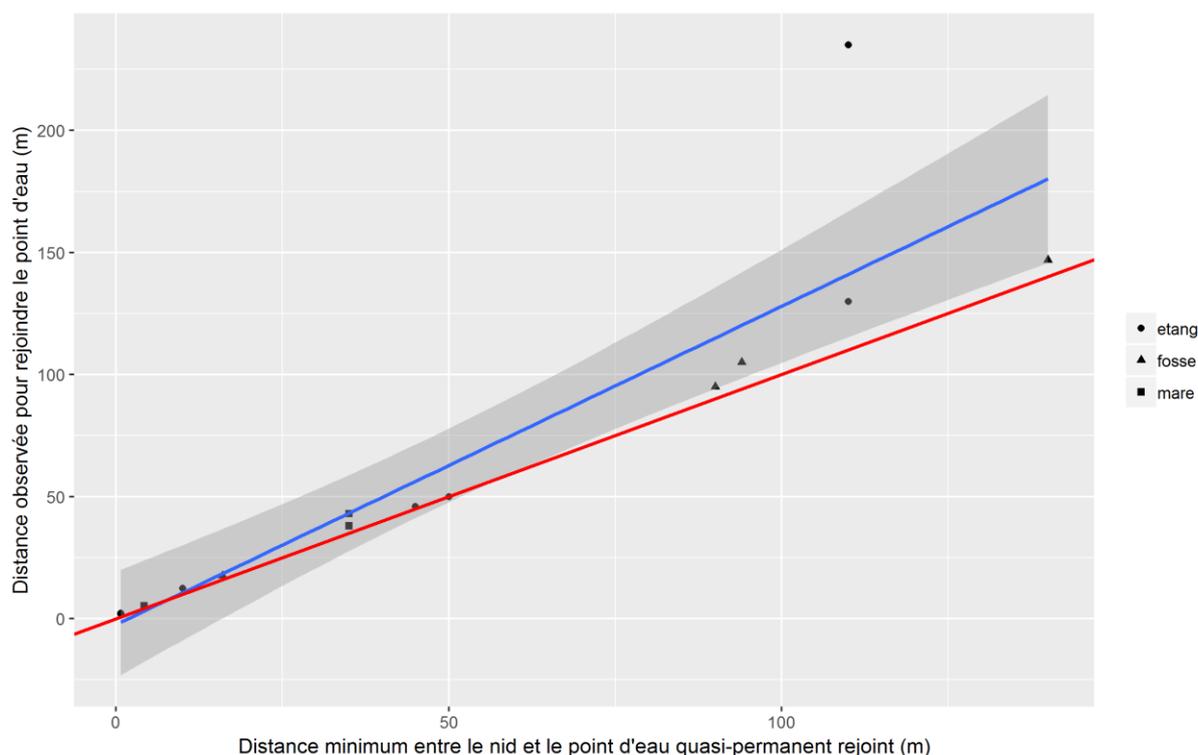


Figure 39 : Distance observée pour rejoindre le milieu aquatique en fonction de la distance minimale du nid par rapport à ce point d'eau
(en bleu : régression linéaire entre les 2 variables,
en rouge : droite $x=y$ matérialisant le plus court chemin entre le nid et le milieu aquatique)

Ces déplacements, qu'il s'agisse des distances parcourues ou de taux d'individus en déplacement, ne sont pas liés à la pluviométrie quotidienne ou cumulée (tous les $p > 0,1$), ni même aux températures, ou aux données d'énergie solaire (tous le $p > 0,1$). Le suivi de terrain nous oriente vers la considération suivante concernant les déplacements et la météorologie : il semble que les émergents se tapissent dans la végétation humide, puis gagnent des milieux temporaires tels que nous les avons décrits. Ces points d'eau très temporaires (flaque, sillon...), en l'absence de pluviométrie, viennent à s'assécher ; c'est alors que les émergents se déplacent en fuyant cet assèchement. Malheureusement, ces observations de terrain restent subjectives et pour le moment les variables ne les expliquent pas.

4. 3. 6. Utilisation de l'espace

Les données sur les domaines vitaux intègrent les émergents de nids inconnus, trouvés en début de saison et équipés. Tout comme les distances de déplacement, les domaines vitaux, sur la base de la méthode des « polygones convexes minimum » diffèrent selon les années (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 6,84$, $df = 2$, $p = 0,03$), avec une année 2017 montrant des domaines

vitaux plus importants (tableau 4). Nous notons des amplitudes et des écarts types particulièrement grands. En 2017, les domaines vitaux ne sont pas liés à la durée du suivi (corrélation de rang de Spearman, $r_s = -0,21$, $p = 0,74$), contrairement aux deux autres années, 2016 ($r_s = 0,64$, $p = 0,046$) et 2018 ($r_s = 0,35$, $p = 0,29$).

Tableau 4 : Domaines vitaux selon les années (en m²)

	2016	2017	2018
N individus	10	5	10
Moyenne	581,03	4 398,95	950,72
Ecart type	825,72	4 053,76	2 150,13
Minimum	0,01	326,37	0,92
Maximum	2 241,83	10 719,64	7 167,74

Deux individus de 1 an ont été suivis en même temps que les émergents. Leurs domaines vitaux sont respectivement de 1455,16 m² (85 jours) et de 0,84 m² (32 jours).

La taille du domaine vital est fortement liée à la distance qui sépare le nid du milieu aquatique rejoint ($r_s = 0,63$, $p = 0,002$).

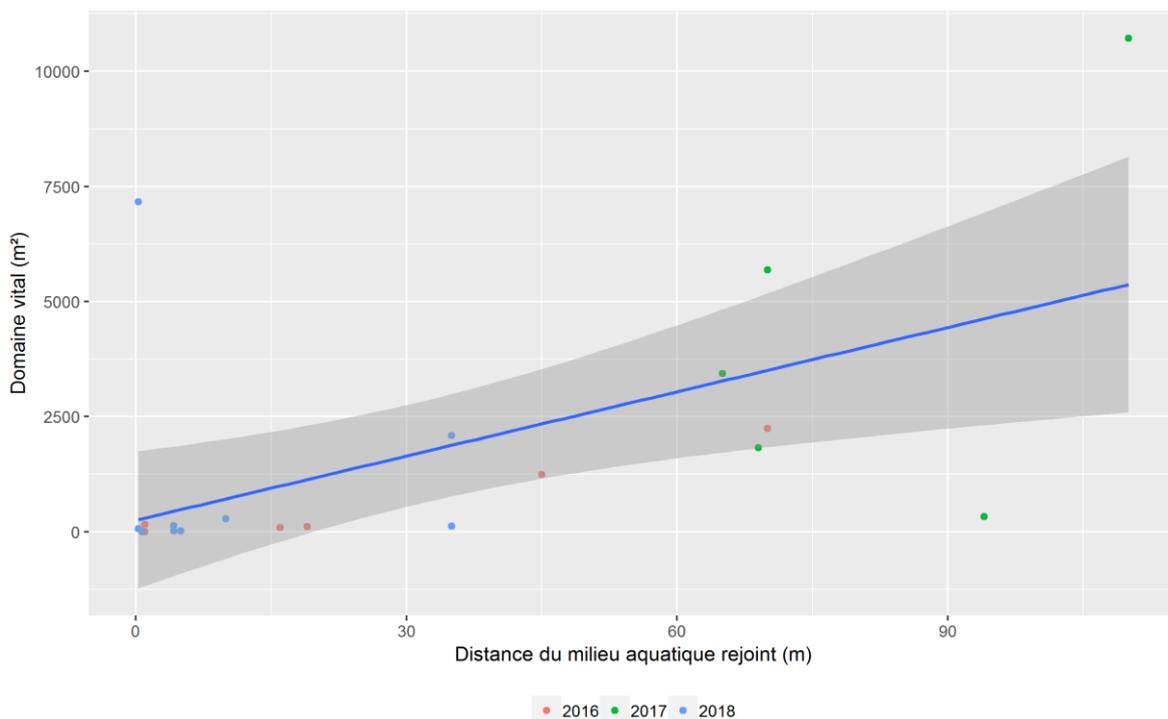
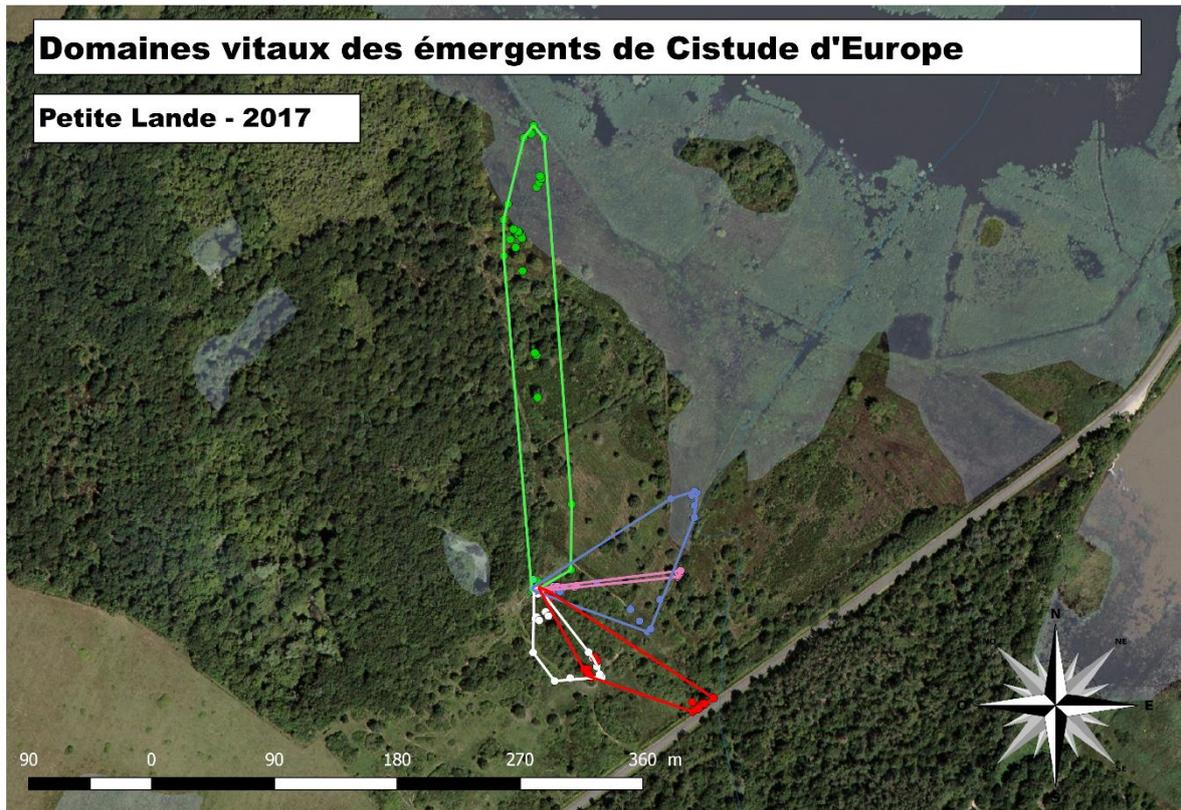


Figure 40 : Lien entre le domaine vital et la distance du milieu aquatique rejoint



*Figure 41 : Exemple de domaine vital pour le site de ponte de la Petite Lande en 2017
(chaque couleur correspond à un individu, le voile bleu correspond à la hauteur maximal de l'étang)*

L'analyse des comportements et des milieux occupés lors de chaque contact nous donne quelques éléments sur l'utilisation de l'espace. Ainsi, les émergents ont été en très grande majorité observés immobiles : 96% contre 4% en phase de déplacement. En 2016, plus de 2/3 des contacts ont eu lieu en milieu sec (pelouse, prairie, lande) sans présence d'eau (figure 42). En 2017, c'est également dans ces milieux que les émergents ont le plus fréquemment été observés, mais de façon moindre : un peu plus d'une observation sur 3. En 2018, les émergents ont plus souvent été contactés dans les étangs où les mares, ces derniers étant plus proches lors de cette année de suivi.

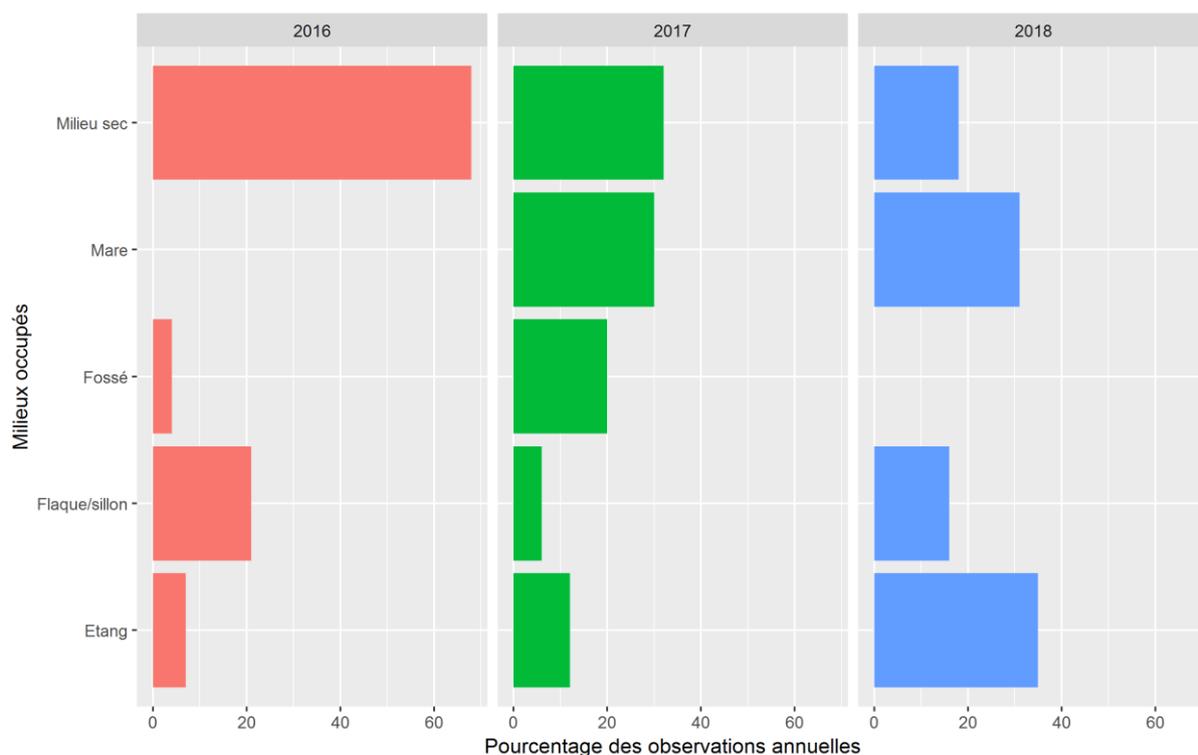


Figure 42 : Fréquence des observations annuelles en fonction des milieux aquatiques

Le pourcentage de recouvrement de la végétation totale lors des observations est en moyenne de 76,67% ($\pm 27\%$). La profondeur moyenne des milieux aquatiques utilisés, relevée uniquement en 2017 est de 16,6 cm (± 8).

4. 3. 7. Survie

Sur 38 émergents suivis (émergents de nids connus auxquels s'ajoutent les émergents de nids indéterminés, trouvés et équipés), 1 a été retrouvé mort desséché sur une fourmière, 11 ont été prédatés de façon certaine (3) ou suspectée (9), 9 ont pu être relâchés après la durée de vie des émetteurs et 17 ont eu un devenir indéterminé (émetteur retrouvé seul sans indice de prédation ou signal perdu).

Une première analyse sur les taux de survie nous indique des taux relativement stables, autour de 0,9 durant le premier mois (Barbraud, *com.pers.*). Ce taux chute ensuite rapidement au cours du temps (figure 41). Des analyses supplémentaires sur ces taux de survie seraient particulièrement intéressantes, notamment en fonction des données biométriques.

Estimation des taux de survie des émergents

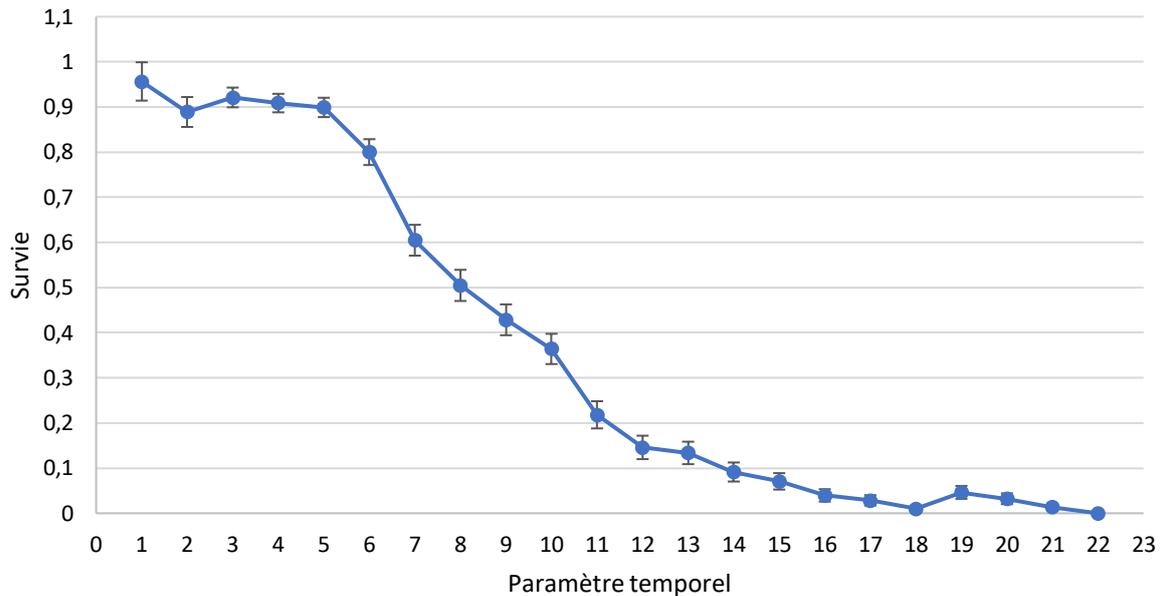


Figure 43 : Taux de survie au cours du temps ($\pm ET$)
(Paramètre temporel : une unité correspond à 5 jours, Barbraud, com. pers.)

4. 3. 8. Prédation

Sur les 40 individus suivis au total (émergents de nids connus et inconnus, et juvéniles d'un an), seuls 3 ont été prédatés avec certitude : un par un sanglier *Sus scrofa*, un par un mammifère indéterminé (émetteur avec antenne détériorée par l'impact de dents) et un par un oiseau (émetteur retrouvé dans un arbre sans trace d'impacts de dents sur l'antenne). A ceux-là s'ajoute un individu retrouvé mort sur une fourmilière mais ayant montré durant plusieurs jours des signes de déshydratation. Plusieurs individus ont disparu sans que nous puissions être certains de l'origine de ces disparitions. Cependant, les disparitions soudaines d'individus qui n'avaient pas bougé depuis plusieurs jours, alors que l'émetteur n'était pas en fin de vie, nous amène à fortement suspecter des prédatations. L'utilisation de pièges photographiques avait pour objectif de répondre à ces disparitions. Toutefois, lors du suivi par cette méthode en 2018, aucun des émergents n'a été prédaté. Les informations acquises à cette occasion nous indiquent par ailleurs que les émergents ne sont pas détectés par les prédateurs qui passent au-près d'eux (tableau 5). Des espèces connues pour rechercher les nids des cistudes lors de la ponte (renard, blaireau, martre...) sont fréquemment passés à proximité, certains ont prospecté la zone de quelques mètres carrés et n'ont pas remarqué la

présence de l'émergent. De même, les sangliers ont été filmés régulièrement, et en nombre, se nourrir dans les flaques d'eau où se trouvaient les émergents et aucun de ceux-ci n'a été prédaté. En revanche, nous n'avons pas d'élément d'information lors des déplacements des émergents alors qu'ils sont visibles et potentiellement plus détectables.

Tableau 5 : Fréquentation des sites de présence des émergents par les prédateurs potentiels (A : nombre de jour avec passage, B : nombre d'individu total, du 9 mars au 26 mai 2018)

	Renard roux	Sanglier	Blaireau Européen	Chat forestier	Faisan de Colchide	Martre des pins	Héron cendré	Héron pourpré	Chat domestique	Corneille noire
A	16	8	6	5	5	3	2	2	1	1
B	19	19	6	5	5	3	2	2	1	1

4. 3. 9. Déplacements et conditions corporelles

Des analyses supplémentaires sur notre jeu de données seraient nécessaires pour tester les hypothèses sur les liens entre les capacités de déplacement et la biométrie des individus.

4. 4. Discussion

Nos résultats confortent les observations sur les émergents de Pologne (Najbar & Mitrus, 2013) et battent en brèche l'idée selon laquelle ils se ruent vers les milieux aquatiques (Novotný *et al.*, 2004; Zinenko, 2004). En effet, des individus ont été observés à moins de 10 mètres de leur nid plus d'un mois après l'émergence. Tout d'abord, juste après leur émergence, ceux-ci se déplacent de quelques centimètres à plusieurs dizaines de mètres (Castellano *et al.*, 2008), se tapissent dans la végétation, puis thermorégulent à proximité en s'extirpant légèrement de la végétation tout en conservant leur caractère cryptique (Tuttle & Carroll, 2005). Ils réalisent des déplacements seulement après plusieurs jours. Il est possible que l'émergence soit un effort qui nécessite un temps de récupération, d'autant plus que nous avons remarqué un individu bloqué pendant 3 jours avant de pouvoir s'extirper totalement du nid. Ensuite, nous observons une grande variation entre les individus dans les comportements de déplacement. Malgré ces grandes variations, des tendances se dessinent selon les années et les sites. Les émergents ont été beaucoup plus mobiles en 2017 que durant les autres années, indépendamment du nombre de jours suivis. La météorologie des mois de mars et avril de cette année peut expliquer cette mobilité. En effet, bien que nous n'ayons pas pu mettre en évidence de lien direct entre la pluviométrie ou les températures quotidiennes

et les déplacements (distance ou fréquence) (Tuttle & Carroll, 2005), les données cumulées de cette année 2017 montrent un déficit de pluviométrie couplé à un mois de mars plus chaud. Ainsi, des températures plus chaudes au moment de la majorité des émergences peuvent favoriser la mobilité de ces individus par rapports aux émergents de périodes plus froides.

Rappelons que les deux principales causes de mortalité pour des émergents de tortue d'eau douce en phase de migration terrestre sont la prédation et la dessiccation (Paterson *et al.*, 2012). Dans un contexte anthropisé, s'y ajoutent les risques d'écrasement par des véhicules sur le réseau routier (Kolbe & Janzen, 2002b; Paterson *et al.*, 2012, 2014) ou par des piétons sur les chemins. Nos résultats confirment l'hypothèse selon laquelle les émergents ont des comportements visant à limiter les deux causes de mortalité principale précédemment décrites. En effet, les micro-milieus aquatiques disponibles à proximité des nids en 2016 ne l'étaient pas en 2017 en raison du déficit hydrique, obligeant les émergents à se déplacer de manière plus importante pour trouver des conditions limitant les risques de perte hydrique de leur organisme. De plus, les températures moins froides cette même année peuvent s'ajouter aux capacités de déplacement des émergents. Pour limiter ces pertes, le fait de rejoindre un milieu aquatique très temporaire comme une flaque d'eau (dépression ou sillon avec végétation) est optimal dans cette hypothèse. Toutefois, être abrité sous une végétation dense et humide semble remplir ces conditions. Nous avons observé de nombreux émergents qui n'avaient pas rejoint de milieux aquatiques en 2016, mais qui restaient tapis sous la végétation. Ainsi, ces individus ne bougeaient pas tant que leur micro-milieus restaient humides, que ce soit sous des bryophytes bien présents sur certains sites de ponte à végétation rase, ou bien enfouis sous des graminées, ou encore au sein de strates arbustives denses. Nos observations sur les accroissements des domaines vitaux indiquant des déplacements en « saut de puce » renforcent cette hypothèse. Pour autant, nous n'avons pas pu mettre en évidence un lien direct entre la pluviométrie et les déplacements quotidiens (Tuttle & Carroll, 2005). Cependant, cette dernière étude se porte sur des nouveau-nés sortis des nids au mois d'août et les comportements pourraient donc être différents de ceux qui sortent du nid à la fin de l'hiver ou au début du printemps.

En outre, il semble que la vision soit un élément important pour les déplacements (Tuttle & Carroll, 2005; Congdon *et al.*, 2011; Pappas, Congdon & Brecke, 2017), ce que suggèrent également nos observations d'émergents empruntant des chemins et des coulées. Toutefois, certains individus n'hésitent pas à quitter ces chemins ouverts pour passer à travers

des landes denses. Suivant ces conditions de déplacement, entre risque de prédation et de dessiccation, les émergents semblent avoir un déplacement optimal d'un point de vue distance, proche de la ligne droite, pour rejoindre un milieu aquatique, contrairement à ce qui a pu être observé pour d'autres espèces en milieu agricole (Castellano *et al.*, 2008). La disponibilité spatiale des milieux aquatiques semble être la raison de cette différence. Il est plus aisé de rejoindre en ligne droite des points d'eau lorsque ceux-ci se trouvent tout autour des nids, quelles que soient les distances. De plus, selon les sites de ponte, la disponibilité en milieux aquatiques diffère, et les émergents peuvent être amenés à passer plus de temps à terre, indépendamment des conditions météorologiques. A l'inverse, pour un même site, la période et la pluviométrie peuvent avoir un impact sur le devenir de certains émergents, en les amenant à errer sans trouver de milieux humides. A titre d'exemple, pour un même site de ponte, un individu a rejoint les mêmes milieux que les autres émergents, mais de manière plus tardive. Alors que, pour les premiers, les dépressions prairiales proches du nid étaient en eau, lors de son arrivée, celles-ci étaient desséchées. Il a alors erré pendant 38 jours en montrant des signes de déshydratation lors de chaque contact. Il a été observé en déplacement de façon plus fréquente. Puis il a été retrouvé mort, desséché, sur une fourmilière. Il est probable que les fourmis aient profité de sa faiblesse, s'il n'était pas déjà mort, pour le consommer (Najbar & Szuszkiewicz, 2005).

Malgré la variabilité des comportements, certains émergents sans émetteurs ont été observés à proximité de ceux équipés, après des parcours de plusieurs jours et de plusieurs mètres. Ce phénomène, observé chez d'autres espèces de tortues d'eau douce, suggère des réponses à des signaux extérieurs voire conspécifiques (Tuttle & Carroll, 2005). Inversement, les comportements peuvent être très différents entre individus, et au sein d'un même nid. Ainsi, pour un nid situé sur une digue, à 70 cm de l'étang, sur 2 émergents suivis, l'un a rejoint l'eau au bout de 3 jours alors que l'autre est resté entre le nid et l'étang pendant 1 mois avant de descendre la berge pour rejoindre la végétation rivulaire. Ce dernier émergent a été retrouvé noyé, ce qui constitue une autre cause de mortalité connue (Paterson *et al.*, 2012). Un autre individu de cette même année (2018) est suspecté de s'être noyé dans une mare profonde. L'impact du poids de l'émetteur pour des individus en eau profonde a été suspecté, cependant, cette même année, un émergent a montré sa capacité à traverser l'étang, soit près de 130 m en eau libre avec une profondeur moyenne de 1,5 m. Cette observation a été réalisée le 20 mai après qu'il soit entré dans l'étang la veille, alors que l'individu noyé avait

rejoint l'eau le 16 avril. Il est possible que les faibles températures du mois de mars soient responsables de la faible température aquatique des masses d'eau (mares et étangs) en début de saison, ce qui a pu affecter le métabolisme des émergents entrés dans des masses d'eau importante (étang ou mare) de façon précoce. Avril 2018 a été le plus chaud des mois d'avril des 3 années d'étude, permettant probablement une hausse des températures des masses d'eau, avec toutefois un temps de latence. Des dispositifs d'enregistreurs de température ont été placés pour juger de la pertinence de cette hypothèse. Outre ces observations ponctuelles en eau profonde, les émergents se cantonnent préférentiellement aux zones avec peu de profondeur (16 cm \pm 8) et beaucoup de végétation, probablement pour l'utiliser comme support et comme camouflage.

Les premières analyses de survie au cours du temps nous indiquent un taux important, de 90%, et stable au cours du premier mois. Il chute ensuite vraisemblablement en raison de la durée de vie des émetteurs (1 mois la première année et 2 mois les années suivantes). Toutefois, comme nous l'avons vu, les premières semaines, les émergents se cachent des prédateurs et de la dessiccation, expliquant ces taux de survie importants. Puis, lorsqu'ils ont rejoint des points d'eau pérennes et végétalisés (mare, fossé ou étang), leur comportement se rapproche de ceux des adultes avec des phases de nourrissage et de thermorégulation où ils sont particulièrement visibles. Il conviendrait de pousser les investigations sur ce point.

De même, nos analyses n'ont pas abordé l'étude de l'hypothèse « the bigger is the better », selon laquelle les individus les plus grands ont des probabilités de survie supérieures aux plus petits, ce qu'une première approche analytique indique sur nos données (Barbraud, *com. pers.*). Hypothèse débattue car des études indiquent des cas de figure inverses en raison d'une potentielle sélection des proies par les prédateurs selon qu'il s'agissent principalement d'oiseaux ou de mammifères (Congdon *et al.*, 1999; Janzen *et al.*, 2000, 2007; Paterson *et al.*, 2014). De plus, à cette sélection par les prédateurs s'ajoute l'importance de l'eau contenue dans le corps des nouveau-nés au départ de leur émergence, en lien direct avec le substrat d'incubation (Finkler, 1999). Ainsi, les individus avec plus d'eau auraient des capacités supérieures pour supporter la dessiccation avant que celle-ci n'affecte les fonctions vitales (*Ibidem*). Toutefois, notre objectif principal initial étant l'utilisation des données à des fins de gestion conservatoire, ces aspects ne sont pas explorés ici, bien que les données le permettent. Ils sont prévus pour la réalisation ultérieure de publications spécifiques.

4. 5. Conclusion

Les émergents de Cistude d'Europe montrent une grande hétérogénéité dans les comportements après la sortie du nid. De manière générale, l'idée d'une ruée vers l'eau est erronée. L'eau semble toutefois l'élément fondamental pour leur survie et le facteur influençant leurs comportements. Une fois sortis du nid, les principaux risques de mortalité sont la prédation et la dessiccation. Les milieux qui les prémunissent de ces risques sont, dans un premier temps, les zones de végétation dense, où ils peuvent se tapir (strate muscinale, herbacée ou arbustive) et, dans un second temps, les milieux aquatiques très temporaires comme des dépressions prairiales inondées et bien végétalisées. Puis ils gagnent des zones plus pérennes comme des fossés, des mares ou des étangs, qu'ils devront quitter si ceux-ci viennent à s'assécher. En plus des milieux utilisés, nos suivis nous apportent des informations quant à la phénologie de ces émergents en lien avec le site de ponte. Ainsi, nous savons désormais que ces derniers peuvent se trouver à seulement quelques mètres de leur nid un mois après leur émergence et pas nécessairement dans un milieu aquatique.

Notre jeu de données pourrait permettre des analyses plus poussées, qu'il conviendra de mener, et de poursuivre, sur des questions telles que les liens entre la biométrie et les patterns de déplacement, ou encore les aspects liés à la survie pour lesquels très peu de choses existent sur ces premiers moments de vie des Cistudes d'Europe.

5. Conclusion et perspectives de gestion

Nous proposons d'organiser cette conclusion en trois sous parties, avec tout d'abord un bilan des informations acquises, à partir desquelles nous proposerons ensuite des réflexions pour les mesures de gestion des sites de ponte, et nous terminerons par des perspectives de suivis et de recherches complémentaires.

5. 1. *Bilan*

Les résultats fournis par nos années successives de suivis nous apportent des éléments importants sur les premiers moments de vie de la Cistude d'Europe *Emys orbicularis*. Il apparaît alors que les émergences peuvent occuper une plage temporelle importante au cours des saisons. Sur les douze dernières années, nous notons des émergences automnales plus fréquentes lors des trois dernières années de suivi, puisqu'elles étaient absentes des observations précédentes, mais notées comme exceptionnelles hors du cadre du suivi. La phénologie précise de nos récentes observations d'émergences automnales fait défaut en raison des choix méthodologiques. En revanche, concernant les émergences de printemps, il apparaît que celles-ci peuvent s'étaler de la dernière semaine de février au début du mois de mai, avec des interrogations sur des possibilités d'émergence plus tardives. A l'inverse, des émergences plus précoces sont envisageables dans le cadre du réchauffement climatique. Chaque nid peut mettre entre 1 et 39 jours pour se vider de ses occupants. Une fois sortis du nid, les émergents ont des comportements visant à échapper aux deux causes de mortalité principales que sont la prédation et la dessiccation. Dès le premier jour de leur sortie, ils se déplacent sur de plus ou moins grandes distances, de quelques centimètres à plusieurs dizaines de mètres, puis se tapissent dans la végétation (herbacée ou arbustive) pour ne plus bouger pendant plusieurs jours. Les déplacements diffèrent ensuite selon les individus, la configuration des sites et la météorologie, mais suivent les grandes lignes suivantes : lors de leurs rares déplacements, en raison des risques de prédation, ils rejoignent des milieux qui les prémunissent des deux causes de mortalité principales, ci-dessus évoquées. Par conséquent, ces sites peuvent être des milieux aquatiques très temporaires ou quasi-pérennes, mais également des lieux humides et pas forcément en eau. En revanche, à mesure que l'eau et l'humidité viennent à manquer, ils se déplacent pour trouver de nouveaux sites pouvant remplir ces conditions. En Brenne, les sites de ponte que nous avons suivis sont plats, et les

conditions édaphiques permettent la présence de nombreuses dépressions prairiales et autres flaques d'eau végétalisées en début de saison, au gré de la pluviométrie. Mais qu'en est-il sur des milieux de pentes arides (coteaux de bord de marais...) ? Dans ces conditions de déplacement, il est alors possible que des émergents soient à proximité de leur nid plus d'un mois après leur émergence. Par conséquent, si l'on cumule la phénologie des émergences et des émergents, des individus peuvent encore être sur le site de ponte, à proximité immédiate du nid, au début du mois de juin, soit potentiellement un an après la ponte.

Il conviendra donc de prendre en compte les émergents dans cette occupation de l'espace que nous venons de définir dans cette première partie, et ne plus considérer les sites de ponte comme un milieu uniquement voué à l'utilisation par les femelles. Il s'agit également d'un habitat occupé par les premiers moments de vie des cistudes et ce, pendant plusieurs jours à plusieurs semaines. Cette considération amène alors à revoir notre perception et notre organisation dans la gestion conservatoire de ces milieux.

Toutefois, ces informations valent pour les populations suivies durant notre étude. Même si certaines généralités semblent se dégager, il demeure important de considérer les spécificités de chaque population en fonction des zones géographiques, des contextes locaux et de la météorologie.

5. 2. *Gestion*

Outre nos études sur les nids et les émergences, des protocoles simples ont permis de mettre en évidence l'intérêt rapide de la réouverture des sites de ponte par arrachage de la strate arbustive. En effet, l'arrachage conduit à la disponibilité immédiate du sol pour la ponte. En revanche, le broyage ou le défrichage laissent en place le système racinaire qui peut bloquer cet accès et provoquer des repousses si l'entretien du milieu rouvert n'est pas prévu à la reprise de la végétation.

La mise en défens d'un site de ponte a fait ses preuves et peut être utilisée comme moyen artificiel d'accroître la probabilité de survie des oeufs et des nouveau-nés. En effet, en Brenne, la prédation est très importante sur le stade œuf. Jusqu'au 15 septembre 2019 nous n'avions pas constaté de manière certaine des prédateurs de nids à la fin de l'été. Par conséquent, cet aménagement peut être ponctuel au cours de la période des pontes, mais peut se maintenir sur une durée plus longue (Beau, 2019). Comme toute action de gestion, il est à adapter aux contextes (taille des prédateurs) et aux objectifs locaux.

résultats montrent l'importance de zones refuges pour permettre aux émergents de se prémunir de la dessiccation et de la prédation. Ces zones sont :

- des points d'eau temporaires et végétalisés : dépressions prairiales, flaques, anfractuosités du sol, queues d'étangs... ;
- des points d'eau plus pérennes : fossés, mares, étangs ;
- des mosaïques de végétation dense : bryophytes, strates herbacées ou arbustives.

Il conviendrait que les sites de ponte soient composés d'une mosaïque de ces zones refuges disponibles à proximité des nids. Pour les milieux plus profonds, il serait nécessaire de préciser les risques de noyade si ceux-ci sont rejoints de manière trop précoce.

5. 3. Perspectives de recherche

Avec un objectif d'application à la conservation, nos analyses pour ce manuscrit de thèse se sont cantonnées à la compréhension de certains éléments. Toutefois, les données emmagasinées ces dernières années permettraient de nombreux approfondissements. Il s'agit d'un objectif à court terme que de valoriser ces aspects non exploités par la publication d'articles spécifiques. En premier lieu l'analyse de la survie des émergents selon les critères biométriques des individus mérite une attention particulière. Dans un second temps, il importe de s'intéresser aux caractéristiques des sites de ponte, afin de répondre à l'hypothèse d'une sélection des habitats par les femelles pour assurer la survie des émergents au cours de leurs premiers moments de vie.

Par ailleurs, la poursuite des protocoles de recherche des nids, aidé par l'utilisation d'un chien détecteur, apporterait plus de matière, et par conséquent, plus de robustesse aux résultats de ces premières pistes de recherche sur l'espèce.

L'amélioration des acquisitions de données pour accroître la qualité des variables explicatives est en cours, et nécessite leur poursuite. Ces collecteurs de données sont les suivants : station météorologique locale, enregistreurs de température et d'hygrométrie du sol (nid), ou encore enregistreurs de température aquatique (étangs). Dans ce cadre, il serait intéressant de participer aux pistes sur la détermination du sexe par les hormones présentes dans les coquilles d'œufs de certaines tortues (Xia *et al.*, 2011; Kobayashi *et al.*, 2015; Monsinjon *et al.*, 2017). En effet, comme nous l'avons indiqué, les connaissances acquises en laboratoire sur le développement embryonnaire de la cistude permettent aujourd'hui des modélisations sur le développement *in situ*. Modélisations qui pourraient permettre la

détermination du sexe-ratio à l'émergence en milieu naturel en fonction, entre autre, de l'amplitude thermique de l'incubation (Monsinjon *et al.*, 2017). Il serait alors fort intéressant de coupler cela à la multiplication des suivis de température des nids sur de nombreux sites de ponte étudiés. L'étude par CMR sur le long terme permet de suivre d'éventuelle évolution des sexe-ratios sur les plus jeunes classes d'âge identifiables sexuellement. Ainsi, de nouveaux partenariats, la réorientation des suivis actuels, couplés aux analyses de laboratoire, apporteraient des éléments aux interrogations liées au réchauffement climatique sur la dynamique des populations d'une espèce dont le sexe est déterminé par la température.

Localement, la définition des traits de vie des émergents qui quittent le nid à partir de la fin de l'été serait nécessaire pour combler l'absence d'informations. Nous pourrions alors déterminer si leurs comportements et leur utilisation des sites de ponte et des zones refuge diffèreraient des émergents de printemps.

Pour finir, l'exportation de ces suivis sur des populations méditerranéennes permettrait de définir d'éventuelles variations liées aux zones climatiques.

CHAPITRE II : EFFETS DES MODES DE GESTION SUR LES POPULATIONS DE CISTUDES



1. Contenu du chapitre

Approche globale des populations de Cistude d'Europe *Emys orbicularis* de la Brenne et lien avec les modes de gestion.

La contamination par le mercure chez les Cistudes d'Europe *Emys orbicularis* de Brenne. Causes environnementales et reproduction. *Article publié*

Causes et conséquences du recouvrement algal sur les Cistudes d'Europe *Emys orbicularis* de Brenne. *Article en préparation*

Conclusion et perspectives de gestion

2. Préambule

La partie précédente avait pour ambition d'apporter des informations nouvelles sur le cycle de l'espèce, sur la base de suivis ayant pour cadre les sites de ponte. La partie à venir propose de s'attacher à l'observation des habitats des adultes, mais sous un angle nouveau, à travers des thèmes qui n'ont pour le moment pas été explorés. En effet, la population de Cistude d'Europe en Brenne est suivie depuis de très nombreuses années (Pailler, 1909; Rollinat, 1934) puis, plus récemment, par des protocoles de piégeage et de marquage des individus depuis les années 80 (Lescure, 1982; Servan, 1986, 1988, 1991, 2001, 2002, 2003; Owen-Jones & Thienpont, 2011; Owen-Jones, 2015; Owen-Jones *et al.*, 2016), sans oublier les travaux de très nombreux étudiants. Les récents suivis réalisés résultent souvent de demandes de la part de gestionnaires d'espaces naturels protégés, dont le but est d'obtenir des éléments objectifs et chiffrés pour évaluer et réorienter les actions de gestion conservatoire. C'est pourquoi la dynamique de population occupe une place importante à travers l'estimation des effectifs, les taux de transition et les taux de survie. Toutefois, de façon plus récente, de nouvelles interrogations sont nées sur l'état sanitaire des cistudes. Ainsi, des premiers travaux ont eu lieu sur les pathologies de la carapace (Biot, 2017), et l'étude de certains polluants (Guillot, 2017; Guillot *et al.*, 2018).

La description du site d'étude fait état des étangs et des paysages environnants. Toutefois, il s'agit là d'un état des paysages modernes, comme nous le précisons dans cette même partie (cf. matériels et méthodologie générale §1.). Façonnée pour et par la pisciculture, les étangs ont permis une omniprésence de la Cistude d'Europe en Brenne. Nous notons néanmoins aujourd'hui une évolution des pratiques traditionnelles, qui tendent vers une modernisation et une intensification de la production piscicole. Les pratiques changent donc, considérant l'étang comme un agrosystème dont on peut faire varier les paramètres (pH, azote, oxygène, végétation...). En conséquence, les habitats disponibles pour les cistudes changent au regard de ceux décrits par Rallet (1936). Quels sont alors les impacts de ces modifications sur les populations de cistudes ? C'est ce que nous proposons d'étudier dans cette partie, à travers un angle nouveau. Nous souhaitons ainsi déterminer les causes et les conséquences de quelques facteurs, qu'ils soient visibles, comme la prolifération d'algues sur les carapaces, ou invisibles, comme la condition corporelle ou la présence de mercure dans les organismes.

3. Approche globale des populations de Cistude d'Europe *Emys orbicularis* de la Brenne, et lien avec les modes de gestion.

3.1. Introduction

Comme nous l'avons vu dans les parties précédentes, la Cistude d'Europe a été particulièrement étudiée en Brenne dans le passé. Malgré cela, il subsiste des zones d'ombre dans le cycle de l'espèce, essentiellement entre la ponte et le moment où nous retrouvons les juvéniles dans les mêmes milieux que les adultes, autour de 3-4 ans. Les études sur les adultes, sous des angles d'approche différents des habituelles études de dynamique de population, peuvent également apporter de nouvelles connaissances sur l'espèce. C'est l'objet de la première partie du second chapitre de ce mémoire que de faire un bilan et une présentation succincts des analyses globales réalisées sur la vaste population des cistudes de Brenne, basée sur la méthode des CMR. Dans ce cadre, la discussion visera surtout à faire ressortir quelques éléments de réflexion pour les sujets abordés ultérieurement.

Nous rechercherons donc des spécificités biologiques et écologiques issues de notre échantillon étudié depuis 2007, en lien avec nos données relatives aux étangs. Pour ce faire, nous dresserons tout d'abord un bilan des connaissances acquises en termes de dynamique des populations locales, en nous intéressant à l'influence des modes de gestion sur les individus grâce à une analyse de leur morphologie (taille et condition corporelle). En effet, ces variables, et notamment la condition corporelle, reflètent l'état de santé d'un animal (Litzgus, Bolton & Schulte-Hostedde, 2008). Il a été démontré que celles-ci est associée à des éléments importants comme la survie et le succès de reproduction chez de nombreux groupes d'espèces (Chastel, Weimerskirch & Jouventin, 1995; Bonnet *et al.*, 2001; Schulte-Hostedde *et al.*, 2005; Lowe, Likens & Cosentino, 2006; Brischoux *et al.*, 2016), dont les tortues (Litzgus *et al.*, 2008).

3.2. Matériels et méthodes

Tous les éléments de cette partie sont présentés dans la méthodologie générale de terrain (CMR). Dans l'objectif principal d'estimer la taille des populations par étang, depuis 2015, 3 sessions de piégeage annuelles sont réalisées sur les étangs piégés. Avant 2015, le nombre de sessions a varié de 2 à 4. Des captures manuelles ont également été réalisées au gré des opportunités de contact avec les cistudes. Plusieurs analyses ont été réalisées au cours du temps auxquelles nous nous référerons dans les résultats, que ce soit pour les estimations de tailles de populations, ou bien pour la survie ou encore pour les taux de dispersion.

Les différences de taille observées entre individus de même sexe et de même stade selon différentes variables nous amènent à considérer l'indice de condition corporelle. Celui-ci est calculé comme les résidus de la régression linéaire de la masse corporelle par rapport à la longueur de la dossière (LOD), après transformation en log. Les analyses ont été effectuées sur les adultes, séparément pour les mâles et les femelles (les femelles gravides sont exclues).

Les données sont comparées aux informations de notre base de données étangs. Pour les besoins des analyses, certains étangs et/ou mares proches peuvent être regroupés, c'est pourquoi nous parlons alors de « site ».

Les analyses statistiques et les graphiques ont été réalisés avec le logiciel R® et la cartographie à l'aide de QGIS®.

3. 3. Résultats

L'échantillon analysé porte sur 48 étangs et mares comprenant, sur la base de la première capture : 2630 adultes (1182 femelles, 1442 mâles et 6 indéterminés), 250 juvéniles (émergents exclus, dont 32 femelles, 38 mâles et 180 indéterminés). Le nombre total de contacts (captures et recaptures) est de 8456 (émergents exclus).

Les résultats ci-dessous sont issus de nos analyses sur la taille et la condition corporelle des individus. Les travaux sur la dynamique des populations sont tirés des analyses de Casajus et al. (2019).

3. 3. 1. Dynamique de population

Estimation des tailles de population

Les estimations des tailles de population varient de manière non négligeable entre étangs, entre années, mais également selon les sources (e.g. Beau, 2015; Beau and Morgnieux, 2018; Casajus et al., 2019; Owen-Jones, 2015) et les méthodologies employées : « POPAN », « Robust design » ou « closed capture ». C'est pourquoi des analyses sur les raisons des différences de résultats entre étangs ne sont pas effectuées dans cette approche globale. Les analyses de variations se limiteront à l'étude des caractéristiques physiques.

Paramètres démographiques : survie et dispersion

Au cours des douze années de suivi, de 2007 à 2018, la survie des femelles est légèrement plus élevée que celle des mâles ($0,984 \pm 0,015$ contre $0,912 \pm 0,017$) (figure 45).

D'un point de vue dispersion (figure 45), les mâles ont une probabilité de rester dans l'étang de la première capture ($0,936 \pm 0,013$) plus importante que les femelles ($0,854 \pm 0,081$). Par conséquent, celles-ci présentent une probabilité plus importante de disperser. En revanche, lorsque les adultes ont quitté leur étang de première capture, les mâles présentent une probabilité plus importante de ne pas revenir vers cet étang ($0,242 \pm 0,097$), aucune femelle n'a été observée dans cette situation. Ces dernières, une fois qu'elles ont dispersé, ont plus tendance à retourner à leur étang de première capture ($0,221 \pm 0,114$), alors que les mâles n'ont pas été observés dans cette situation.

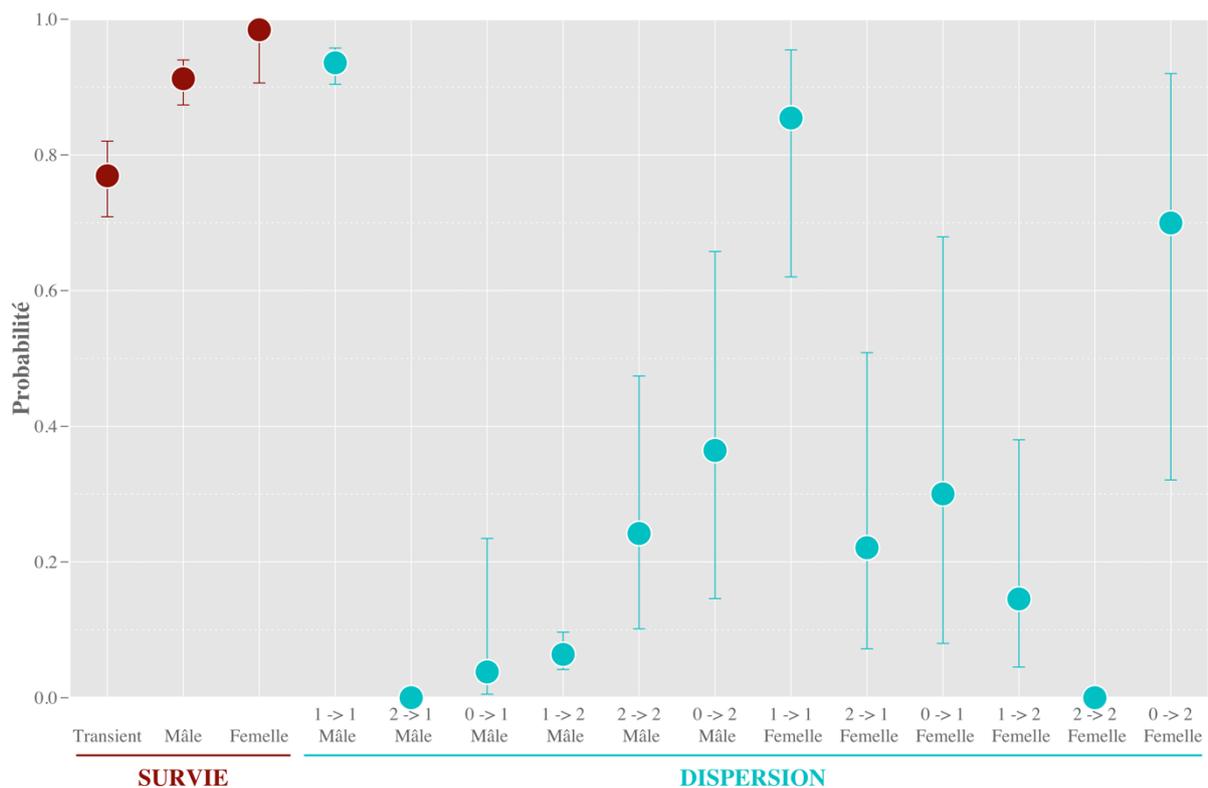


Figure 45 : Survie et dispersion estimées (Casajus et al., 2019)

(Transient : individu qui n'apparaît qu'une seule fois dans l'histoire de capture ; 0, l'individu n'a pas été capturé ; 1, l'individu a été capturé dans l'étang où il a été capturé la première fois ; 2, l'individu a été capturé dans un autre étang que celui où il a été capturé la première fois).

Taux de croissance de la population

Sur la base d'un cycle de vie mélangeant des données locales disponibles et des données bibliographiques (Arsovski et al., 2018; Casajus et al., 2019), le taux de croissance pour la population de Cistude d'Europe des étangs retenus dans l'analyse est de 1,05,

indiquant une population en croissance. La classe la plus représentée est celle des adultes, suivie par la classe des émergents puis des juvéniles (figure 46).

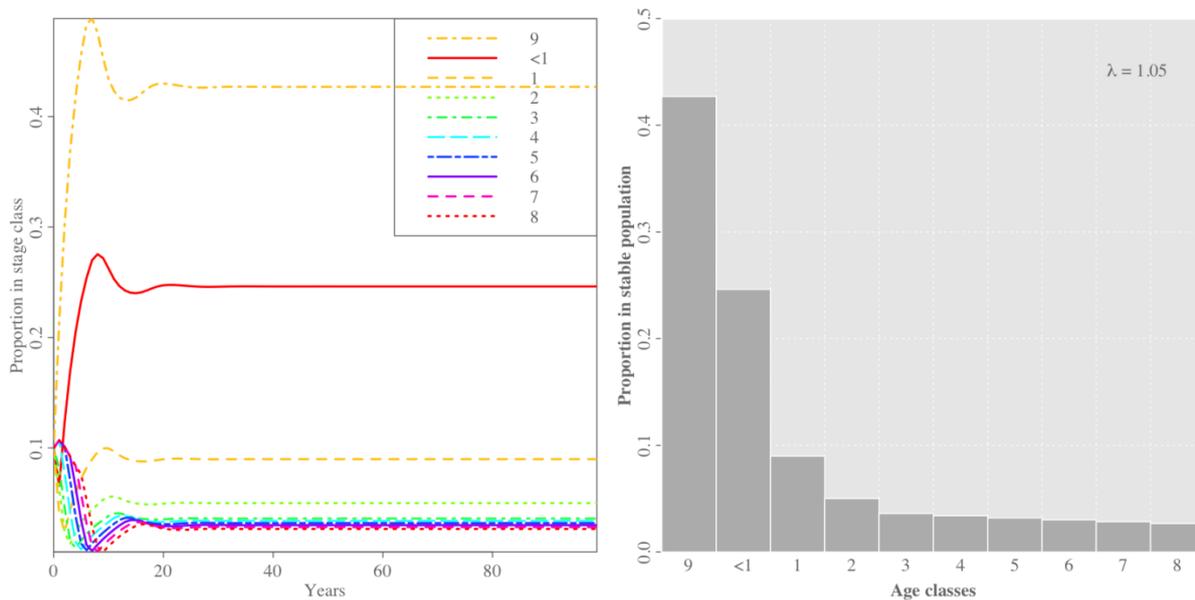


Figure 46 : Simulation du modèle de dynamique de population (Casajus et al., 2019)
(les chiffres correspondent aux âges)

3. 3. 2. Taille et condition corporelle

La longueur de la dossière des adultes varie entre les sexes. Les femelles sont en moyenne plus grandes que les mâles : 156,61 mm ($\pm 10,98$, N = 923) contre 146,09 mm ($\pm 9,3$, 1339) (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 654,08$, df = 1, $p < 0,001$). Il en est de même pour la masse qui est de 728,8 g ($\pm 132,9$) pour les femelles, contre 508,8 g ($\pm 85,9$) pour les mâles.

De manière anecdotique, nous observons une répartition spatiale de la taille des individus dans la zone d'étude. Les cistudes de l'est sont en moyenne plus petites que celles de l'ouest, à la fois pour les mâles et les femelles (figures 47 et 48). Les raisons pourront en être recherchées à l'avenir.

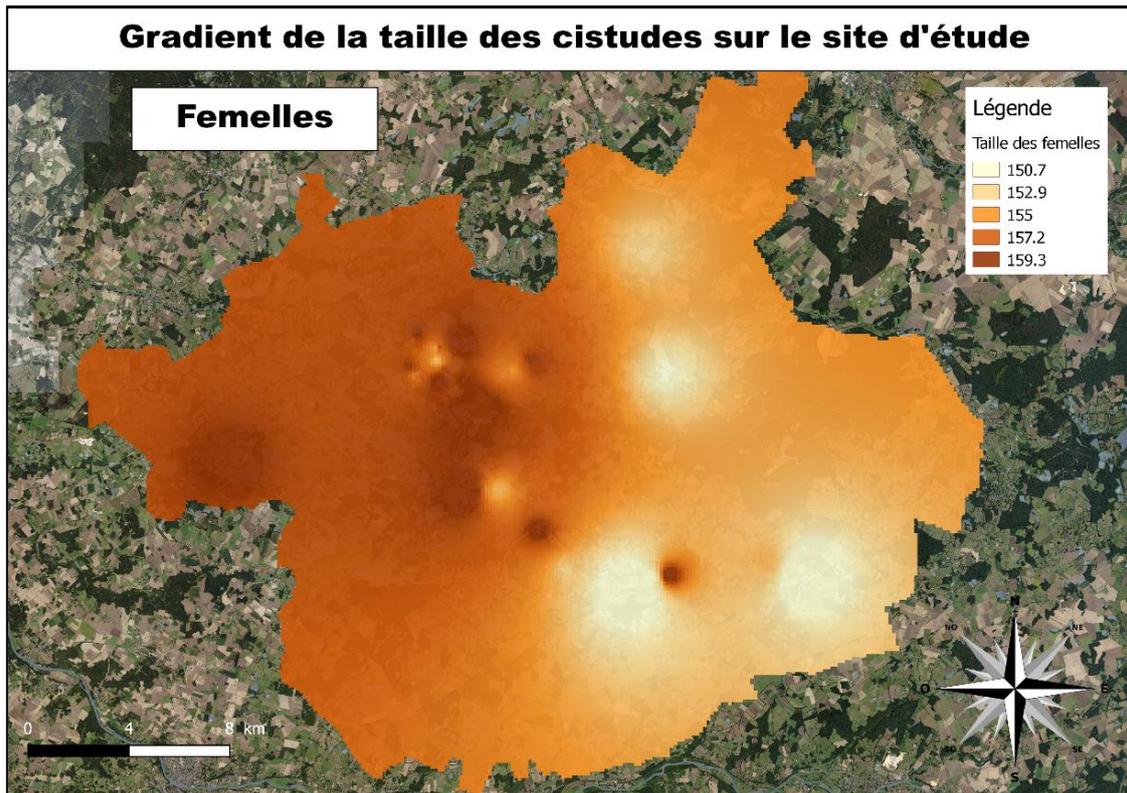


Figure 47 : Répartition de la taille des femelles sur le site d'étude

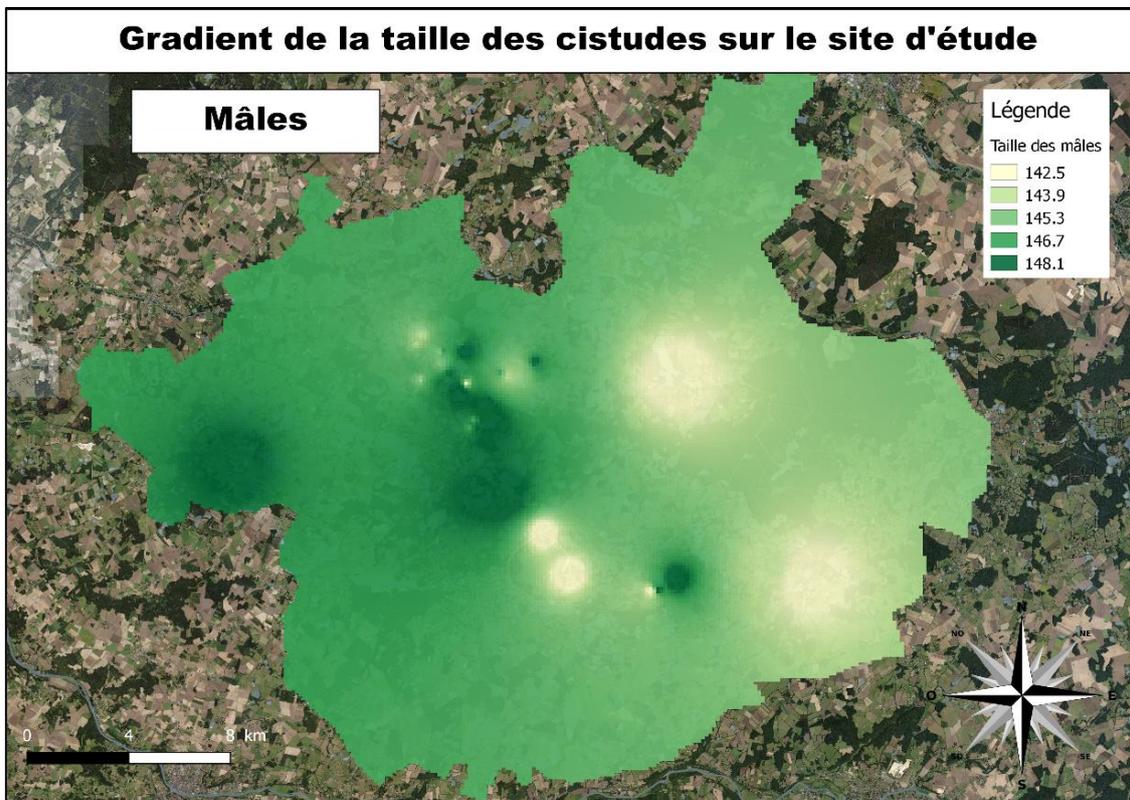


Figure 48 : Répartition de la taille des mâles sur le site d'étude

Les différences de taille entre étangs, et selon les sexes, sont très marquées. On note également des différences dans les moyennes de la condition corporelle entre sites, à la fois pour les mâles (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 106,11$, $df = 32$, $p < 0,0001$) et pour les femelles (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 80,21$, $df = 32$, $p < 0,0001$).

La taille de la dossière des mâles diffère légèrement, mais de manière significative selon les types de pisciculture pratiquée (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 9,71$, $df = 1$, $p = 0,002$). La longueur moyenne est de 146,2 mm (± 9) sur un site de production extensive, contre 148 mm ($\pm 8,8$) en production intensive. Nous ne notons pas de différence entre les femelles (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 0,06$, $df = 1$, $p = 0,8$).

En revanche, chez les femelles, le type de pisciculture semble influencer la condition corporelle, car les cistudes avec la meilleure condition corporelle se situent dans les étangs de production extensive (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 6,99$, $df = 1$, $p\text{-value} = 0,008$, figure 49). Toutefois, nous ne notons pas de différence chez les mâles (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 0,14$, $df = 1$, $p = 0,71$).

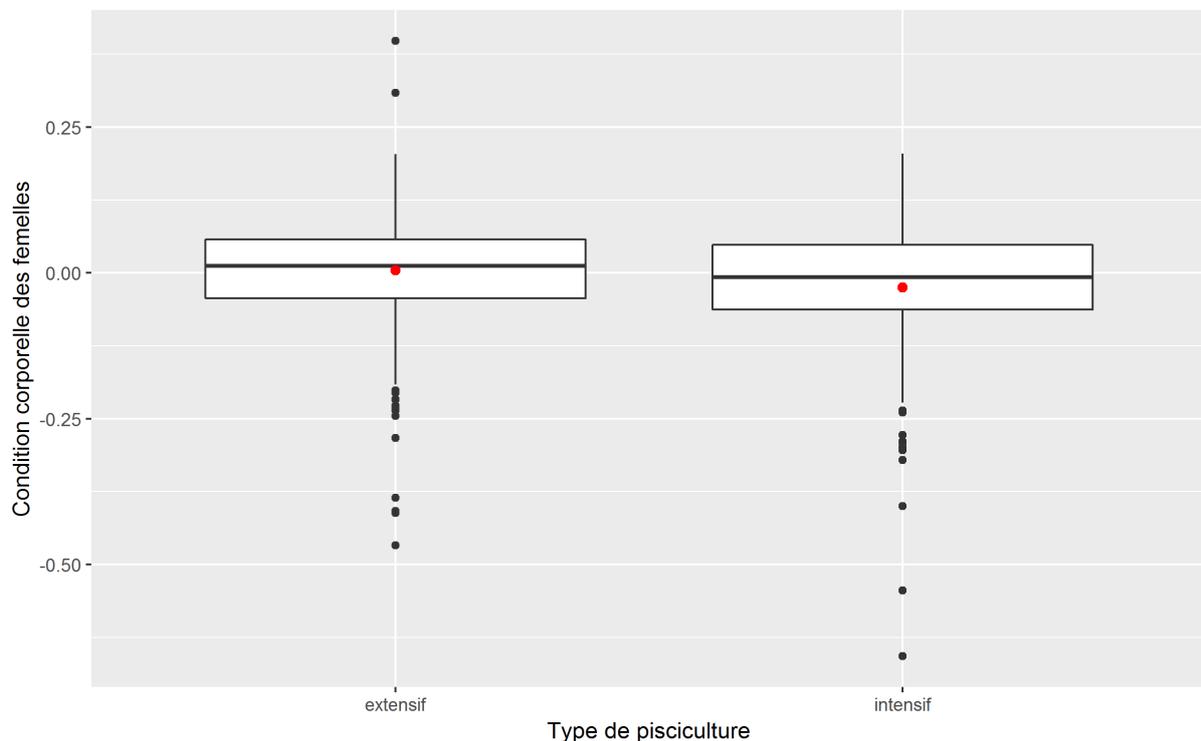


Figure 49 : Condition corporelle des femelles en fonction du type de pisciculture
(En rouge : moyenne)

Nous notons un effet de la fréquence des assecs sur la condition corporelle des mâles et des femelles. Ainsi, plus les assecs sont fréquents, moins la condition corporelle est bonne chez les mâles (corrélation de rang de Spearman, $r_s = -0,10$, $p = 0,003$), et chez les femelles (corrélation de rang de Spearman, $r_s = -0,13$, $p < 0,001$)

La condition corporelle des femelles semble négativement liée à la surface des étangs ($r_s = -0,01$, $p = 0,004$). A l'inverse, celle des mâles est liée de façon positive ($r_s = 0,07$, $p = 0,017$).

Enfin, les étangs les plus récents abritent les mâles avec une condition corporelle légèrement meilleure ($r_s = 0,07$, $p = 0,041$), tout comme les femelles ($r_s = 0,05$, $p = 0,021$). Toutefois, les pentes restent particulièrement faibles pour ces dernières variables.

3. 4. Discussion

Les taux de survie des cistudes de Brenne sont élevés (Owen-Jones *et al.*, 2016; Casajus *et al.*, 2019) comme dans la plupart des populations. A titre d'exemple, la population de Camargue a une survie moyenne (mâles et femelle) de 0,895 ($\pm 0,022$) (Olivier, 2002), celles des étangs de La Jemaye, de 0,92 ($\pm 0,03$) (Owen-Jones *et al.*, 2016). En Pologne, elle se situe entre 0,98 et 0,99 (Mitrus & Zemanek, 2004). Cependant, ceux-ci chutent drastiquement de 0,99 à 0,63 lors des épisodes de mises en assec prolongés, alors que les vidanges hivernales n'ont pas d'impact (Owen-Jones *et al.*, 2016). Dans un autre contexte (étangs de la Jemaye) les assecs prolongés n'ont pas d'impact sur la survie (Owen-Jones *et al.*, 2016). La chute du taux de survie en Brenne par rapport à celui des étangs de la Jemaye peut s'expliquer par une augmentation des transitions entre étangs liées aux assecs, et donc l'augmentation des risques de mortalité liés à ces transitions, tels que les écrasements sur le réseau routier (Owen-Jones *et al.*, 2016). Une autre raison invoquée est le contexte de densité des étangs en Brenne qui induit l'absence d'échantillonnage sur des étangs pouvant servir de refuge (*Ibidem*). Les études passées révèlent des différences de taille de population, également liées à la gestion traditionnelle des étangs (Beau, 2015, 2016, 2017; Owen-Jones, 2015; Beau & Morgnieux, 2018; Casajus *et al.*, 2019). En effet, lorsqu'un étang est mis en assec prolongé, les cistudes se reportent en grande partie sur les étangs à proximité (Owen-Jones *et al.*, 2016). Par conséquent, les années qui suivent sa remise en eau voient une recolonisation progressive de cet étang, qui peut prendre plusieurs années en fonction de la gestion pratiquée sur les étangs riverains, et de leur propre mise en assec prolongé.

Les analyses sur le taux de croissance de la population indiquent l'omniprésence des adultes, mais également la présence importante, dans une proportion de 25%, des individus de moins de 1 an (émergents). Ceci s'ajoute à l'hypothèse d'une utilisation de l'espace différente de ce stade par rapport aux adultes, ou du moins par rapport aux individus de plus de trois ans. Utilisation qui semble intégrer une phase terrestre non négligeable en lien avec des milieux aquatiques temporaires (dépressions prairiales etc.), puis des milieux plus pérennes (fossés, mares), avant que les étangs ne soient rejoints (cf. chapitre I).

La condition corporelle, prise comme indicateur de santé des cistudes, montre des variations entre étangs. Des analyses rapides de facteurs pouvant expliquer ces variations nous amènent à considérer des caractéristiques physiques, avec toutefois des différences significatives mais faibles, à l'instar de la surface des étangs ou des fréquences d'assec par exemple. De plus, les réponses des mâles et des femelles ne sont pas nécessairement les mêmes. C'est le cas également si l'on considère une variable qui en englobe de nombreuses autres et qui nous intéresse particulièrement, à savoir le type de pisciculture pratiquée. En effet, dans le cadre de l'accroissement de la productivité (pisciculture intensive, cf. gestion piscicole de la partie matériel et méthodologie générale), les effets induits en termes de gestion de l'eau, de végétation ou de nourrissage, peuvent impacter la condition corporelle des femelles et par conséquent, limiter les cistudes dans leurs fonctions vitales telles que la reproduction et la survie.

3. 5. Conclusion

La gestion des étangs affecte donc la dynamique des populations de Cistude d'Europe, tant pour la dispersion, la taille de population et la survie. Les conditions corporelles sont également liées à certaines caractéristiques des étangs. Ces deux aspects doivent être étroitement liés, en raison de l'effort imposé par les transitions résultant de la gestion pratiquée sur les étangs. De plus, d'autres éléments non pris en compte dans ces analyses peuvent affecter les organismes et par conséquent les populations. En effet, qu'en est-il de l'impact de certains composants organiques de l'environnement tels que les affections pathologiques de la carapace (bactéries), les ectoparasites (sangsues), les épisodes de proliférations algales, et des éléments non organiques tels que le mercure ? Ces deux derniers points font l'objet des parties suivantes.

4. La contamination par le mercure chez les Cistudes d'Europe *Emys orbicularis* de Brenne. Causes environnementales et reproduction

Cette partie a donné lieu à une publication dans la revue *Environmental Research* dont la référence est :

Beau, F., Bustamante, P., Michaud, B., & Brischoux, F. (2019). Environmental causes and reproductive correlates of mercury contamination in European pond turtles (*Emys orbicularis*). *Environmental research*, 172, 338-344.

Nous avons construit cette partie du chapitre à partir de la version corrigée et finale de l'article publié dans la revue précédemment citée. Ceci donne la possibilité aux gestionnaires et techniciens non anglophones de bénéficier des éléments d'analyse et de réflexion qui la composent. Pour les anglophones désireux de se référer à l'article en lui-même, celui-ci se trouve en annexe.

4. 1. Introduction

Le mercure (Hg) est l'un des contaminants environnementaux les plus étudiés (Wiener *et al.*, 2003). À travers divers processus de transport, il tend à se concentrer dans les environnements aquatiques, qui sont alors considérés comme des puits de mercure (Mason *et al.*, 2012; Driscoll *et al.*, 2013). Il est difficile d'évaluer les sources de contamination par le mercure dans les écosystèmes aquatiques, car les zones humides font partie de réseaux vastes et complexes composés d'eaux de surface et d'eaux souterraines. Les contaminants peuvent pénétrer dans les milieux aquatiques par diverses voies, telles que les dépôts atmosphériques, l'érosion ou les sources anthropiques, comme le drainage agricole, les mines ou les effluents industriels (Förstner & Wittmann, 1983; Wiener *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2004). Les sources cryptiques peuvent compliquer davantage notre compréhension de l'étendue de la contamination par le mercure. Par exemple, il a été récemment démontré que la pisciculture est responsable du transfert du mercure marin dans des zones qui semblent superficiellement indemnes d'autres sources de pollution (Hansson *et al.*, 2017; Guillot *et al.*, 2018; Lemaire *et al.*, 2018).

Les milieux aquatiques sont des sources importantes de méthylmercure (MeHg), une forme de mercure responsable des effets toxiques sur les humains et sur la faune sauvage

(Wolfe, Schwarzbach & Sulaiman, 1998; Scheuhammer *et al.*, 2008; Crump & Trudeau, 2009; Tan, Meiller & Mahaffey, 2009; Green *et al.*, 2010; Rutkiewicz *et al.*, 2011; Schneider *et al.*, 2013; Tartu *et al.*, 2013). Plusieurs processus, relativement spécifiques aux zones humides, sont connus pour influencer sur les vitesses auxquelles le Hg inorganique peut être bio-transformé en MeHg (Eagles-Smith *et al.*, 2018; Hsu-Kim *et al.*, 2018). Ces facteurs impliquent la sédimentation et la bio-méthylation par des microorganismes, qui dépendent de processus physiques (tels que l'anoxie dans des masses d'eau à faible mouvement) et biologiques (par exemple, le développement d'un biofilm périphérique sur des algues et des macrophytes) (Gochfeld, 2003; Hsu-Kim *et al.*, 2018). Une fois méthylié, le mercure devient facilement bio-disponible, il est alors bio-accumulé dans les organismes et bio-amplifié tout au long de la chaîne alimentaire (Lavoie *et al.*, 2013). À leur tour, ces processus peuvent également être influencés par plusieurs facteurs écologiques tels que la productivité primaire, la structure de l'habitat et la structure du réseau trophique (Eagles-Smith *et al.*, 2018).

Dans les réseaux aquatiques complexes, la surveillance de la contamination par le mercure est compliquée sur le plan logistique. Pour contourner ces difficultés, l'utilisation d'indicateurs biologiques est souvent nécessaire et permet une bio-surveillance spatio-temporelle du contaminant. Traditionnellement, les poissons d'eau douce ont fait l'objet d'études approfondies pour détecter la contamination par le mercure (Depew *et al.*, 2012; Åkerblom *et al.*, 2014; Scheuhammer *et al.*, 2015; Eagles-Smith *et al.*, 2016), car ils sont largement utilisés comme source de nourriture pour de nombreuses populations humaines (Futsaeter & Wilson, 2013; Dong *et al.*, 2015; Fliedner *et al.*, 2016; Lepak *et al.*, 2016). Plus récemment, les reptiles aquatiques (principalement les tortues et les serpents) se sont révélés particulièrement utiles pour surveiller le mercure dans les habitats d'eau douce (Bergeron *et al.*, 2007; Burger *et al.*, 2009; Schneider *et al.*, 2009, 2010, 2013; Turnquist *et al.*, 2011; Hopkins, Hepner & Hopkins, 2013a; Eggins *et al.*, 2015; Adel *et al.*, 2017). En raison de leur capacité de dispersion relativement limitée et de leur degré élevé de philopatrie, les concentrations de mercure trouvées dans leurs tissus devraient être étroitement liées à celles de leur domaine vital réduit, permettant ainsi un échantillonnage spatialement explicite. De plus, les reptiles sont considérés comme des prédateurs en milieu ou fin de chaîne alimentaire, ce qui permet d'intégrer des informations provenant des niveaux sous-jacents du réseau trophique. Contrairement aux vertébrés endothermiques, leurs taux métaboliques relativement faibles et leurs taux de conversion tissulaire relativement élevés permettent une

plus grande capacité à intégrer une contamination à long terme au mercure dans leur organisme (Lemaire *et al.*, 2018; Slimani *et al.*, 2018). Enfin, les récents développements de techniques non invasives d'évaluation de la contamination individuelle par le mercure permettent des échantillonnages de taille relativement grande tout en respectant des considérations éthiques importantes. Ainsi, des tissus facilement accessibles tels que des écailles ou des griffes dans lesquels le mercure se bio-accumule en raison de sa liaison à la kératine (Schneider *et al.*, 2011; Bezerra *et al.*, 2013) permettent l'utilisation d'une telle technique non invasive pour quantifier la contamination par le mercure dans ces modèles (Hopkins *et al.*, 2013a; Lemaire *et al.*, 2018; Slimani *et al.*, 2018).

En utilisant la Cistude d'Europe *Emys orbicularis* comme bio-indicateur du mercure, nous avons tiré parti d'un contexte naturel que l'on qualifie de semi-expérimental dans l'une des plus grandes zones humides continentales françaises : la Brenne. Dans cette zone, chaque étang abrite une population de tortues fidèles et se caractérise par des éléments qui lui sont propres (âge, taille, utilisation; Benarrous, 2017). Sur la base d'un échantillon relativement important (255 tortues de 15 étangs), notre étude avait trois objectifs : tout d'abord étudier les déterminants individuels des concentrations de mercure (à savoir le sexe, l'âge et la taille) ; puis évaluer les déterminants environnementaux de la contamination par le mercure sur la base de la combinaison unique de caractéristiques physiques de chaque site (c'est-à-dire l'âge du bassin, sa taille et son utilisation) ; enfin, étudier les conséquences néfastes potentielles d'une telle contamination chez la cistude, en examinant les relations entre la concentration de mercure et la condition physique, ainsi que la reproduction.

4. 2. Matériels et méthodes

L'échantillonnage a eu lieu pendant les sessions de piégeage dont le mode opératoire est présenté dans la méthodologie générale. Lors des manipulations des individus pour leur identification (sexe, biométrie...) et leur marquage, nous avons recueilli les extrémités de 2 griffes par patte à l'aide d'un coupe-ongle. Une telle technique, non invasive, a été utilisée avec succès chez plusieurs espèces de tortues d'eau douce (Hopkins *et al.*, 2013a; Slimani *et al.*, 2018) et validée chez *Emys orbicularis* de la région de la Brenne (Guillot *et al.*, 2018). Fait important, chaque tortue est relativement fidèle à son étang d'origine (Owen-Jones, 2015), ce qui permet de déterminer avec précision le niveau de contamination par le mercure pour chaque site. Dans la mesure du possible, nous avons cherché à collecter les griffes de 10 mâles

et de 10 femelles par site. Au total, nous avons prélevé des échantillons de griffes chez 255 individus (232 adultes et 23 juvéniles), représentant 126 femelles, 122 mâles et 7 individus non sexés.

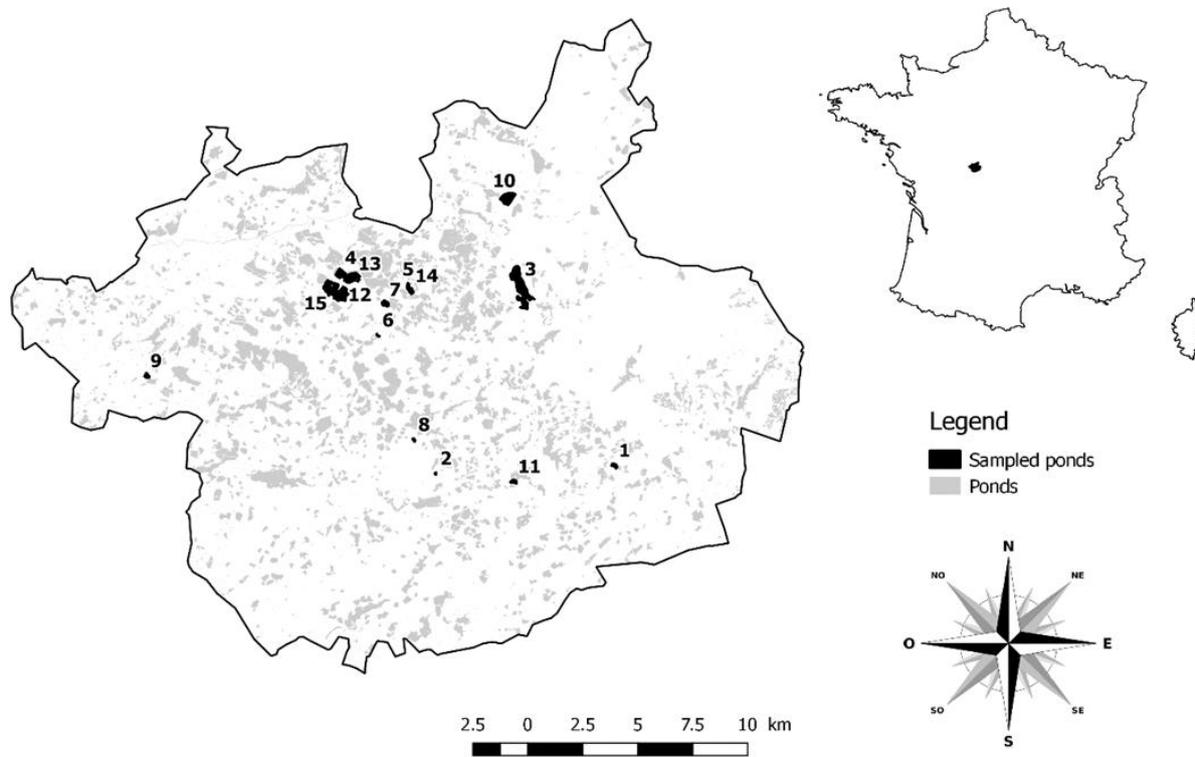


Figure 50 : Localisation des étangs analysés

Ainsi, notre protocole a porté sur 15 étangs de notre zone d'étude (figure 50). Les sites ont été échantillonnés soit en 2016 (mai à septembre, N = 148 tortues sur 9 sites), soit en 2017 (avril à juin, N = 107 tortues sur 6 sites). Les caractéristiques des étangs ont été répertoriées de la manière suivante : nous avons mesuré la taille de chaque étang (ha) à l'aide de QGIS® ; puis l'âge de l'étang a été recueilli dans la littérature locale (Benarrous, 2017), tout comme les données liées aux assecs, ce qui nous a permis de définir une fréquence d'assec par étang et le temps écoulé depuis le dernier assec prolongé (TDDA⁵) ; et enfin, nous avons créé deux catégories de gestion locale : les étangs situés dans des zones protégées (ou gérés par le personnel de la réserve naturelle) ont été classés en « réserves », tandis que les étangs non soumis à une réglementation ou non gérés comme la catégorie précédente ont été classés en « non protégés ». La combinaison de ces informations détaillées pour divers sites, répartis

⁵ Temps Depuis le Dernier Assec

dans un contexte environnemental similaire, et ce sur une échelle spatiale relativement petite, représente une excellente occasion d'enquêter sur les déterminants environnementaux de la contamination par le mercure dans une zone humide continentale typique.

4. 2. 1. Analyses du mercure

Les griffes ont été envoyées à la plateforme « Analyses Élémentaires » du laboratoire du LIENS (Littoral ENvironnement et Sociétés) de l'Université de La Rochelle. Se référer à la publication en annexe pour les détails des analyses.

4. 2. 2. Analyses statistiques

Nous avons utilisé des modèles linéaires généraux pour étudier les déterminants individuels de la concentration en mercure, avec cette dernière comme variable dépendante et les caractéristiques individuelles des cistudes comme facteurs (sexe [sexe [indéterminé, femelle, male]], classe d'âge [juvénile, adulte] et taille [LOD⁶]).

Nous avons également utilisé des modèles linéaires généraux pour étudier les déterminants environnementaux de la concentration de mercure en fonction des caractéristiques des étangs (taille, âge et catégorie de gestion).

Pour explorer les corrélations potentielles de la concentration en mercure, nous avons utilisé deux estimations de l'état des tortues. Tout d'abord, nous avons calculé un indice de condition corporelle (cf. matériel et méthode de la partie précédente). La relation entre l'indice de condition corporelle et la concentration en mercure a été évaluée à l'aide d'une régression linéaire. Puis, pour chaque site, nous avons évalué la proportion de femelles gravides, comme indiqué dans la méthodologie générale. Cette gravidité peut être influencée par les conditions environnementales (température, précipitations, disponibilité des aliments...). En effet, les deux années montrent une forte variation de la proportion de femelles gravides (de 0% à 18% pour les sites échantillonnés en 2016 par rapport à 0%-53% pour les sites échantillonnés en 2017). Par conséquent, les deux années ont été analysées séparément par une analyse de rangs de Spearman. Seules les femelles adultes dont la longueur de la dossière est supérieure à 133 mm ont été retenues pour cette analyse (plus petite taille pour une femelle gravide de notre base de données). Précisons que la gravidité ne concerne pas uniquement les cistudes analysées, mais l'ensemble des femelles capturées

⁶ Longueur de la dossière

au sein des étangs, alors que la concentration moyenne en mercure pour les femelles adultes a été calculée sur un sous-échantillon de la population capturée.

Les analyses et graphiques ont été effectuées avec Statistica 12 et le logiciel R.

Tableau 6 : Présentation générale des données de concentrations de mercure chez les Cistudes d'Europe

Numéro (carte)	Etang	Gestionnaire	Age (années)	TDDA (années)	Sexe	LOD	Hg	N
1	Beaugu	R	NA	3	I	111,53	1,22	1
					F	158,94±12,15	1,69±0,35	11
					M	145,68±8,97	1,99±0,52	9
2	Beauju	NP	NA	NA	I	96,49	2,50	1
					F	157,42±8,42	3,39±2,23	4
					M	135,60±3,82	2,13±0,56	4
3	Bellebouche	NP	618	NA	F	144,15±14,13	3,12±1,39	11
					M	137,19±7,49	2,55±0,71	11
4	Cistude	R	37	4	I	126,66	0,94	1
					F	166,21±6,13	2,10±0,99	8
					M	146,68±8,91	1,64±0,41	7
5	Courlis	NP	NA	NA	F	159,89±4,67	1,67±0,48	10
					M	151,46±4,77	1,80±0,62	7
6	Gorgeat	R	578	10	F	161,09±10,93	2,04±0,37	11
					M	149,88±10,53	2,06±0,44	8
7	Hautes-Rondières	R	800	15	F	157,16±7,71	1,81±0,37	10
					M	145,34±7,12	1,62±0,33	10
8	La Cure	NP	NA	NA	I	98,78	2,60	1
					F	160,6±3,82	2,46±1,00	5
					M	142,65±11,23	3,21±0,66	6
9	La Touche	R	NA	3	F	143,98±18,93	2,52±0,82	4
					M	148,32±9,84	3,53±0,94	7
10	Lion	R	337	6	F	153,83±12,94	1,33±0,29	11
					M	151,28±7,67	1,55±0,99	10
11	Ménetrie	NP	NA	NA	I	124,61±10,04	1,13±0,23	3
					F	154,47±12,66	2,37±0,54	7
					M	148,59±8,56	2,07±0,82	11
12	Monmelier	NP	562	5	F	155,36±9,09	2,83±0,54	8
					M	138,93±2,31	2,11±1,27	3
13	Nuret	NP	549	8	F	160,80±6,87	1,82±0,48	10
					M	152,86±9,80	1,59±0,25	10
14	Petit Ajonc	NP	NA	NA	F	167,70±7,80	1,90±0,56	2
					M	146,97±6,37	1,64±0,41	8
15	Ricot	R	500	1	F	151,81±7,21	3,19±1,04	14
					M	144,25±6,10	2,32±1,09	11

4. 3. Résultats

Les concentrations moyennes de mercure (\pm écart type) pour chaque site et sexe sont présentées dans le tableau 6. Elles sont exprimées en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw⁷.

La concentration de mercure n'était pas liée à la taille de la tortue ($F_{1,250} = 2,35$, $p = 0,13$) ni au genre ($F_{2,250} = 1,79$, $p = 0,17$), mais était influencée par les classes d'âge ($F_{1,250} = 10,10$, $p = 0,001$) avec des juvéniles ayant une concentration de mercure inférieure à celle des adultes (Hg moyen $1,62 \pm 0,20$ pour les juvéniles et $2,21 \pm 0,06 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ pour les adultes, figure 51).

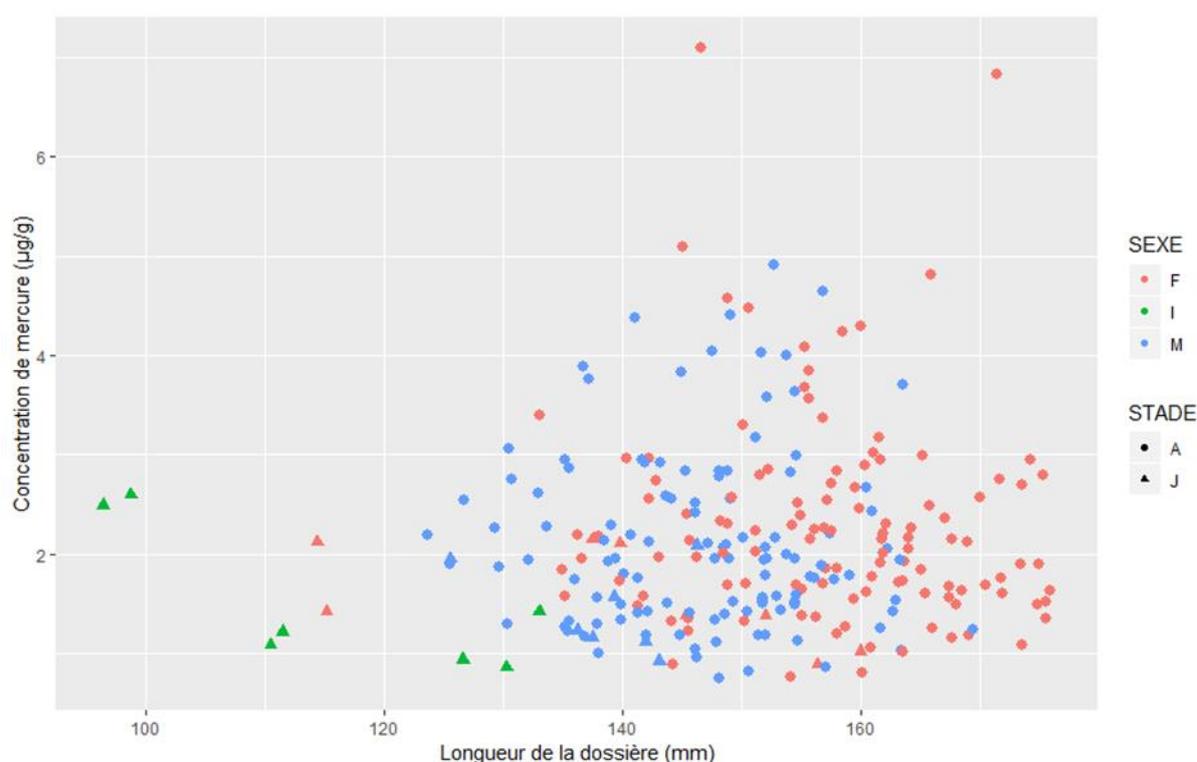


Figure 51 : Concentration de mercure dans les griffes des cistudes en fonction de la longueur de la dossière
F : Femelles, I : Indéterminés, M : Mâles ; A : Adultes, J : Juvéniles

Les concentrations de mercure divergent fortement entre les sites ($F_{14,240} = 7,27$, $p < 0,0001$; de $1,44 \pm 0,18$ à $3,17 \pm 0,25 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, tableau 6). La concentration de mercure n'était pas liée à la catégorie de gestion ($F_{1,127} = 0,02$, $p = 0,87$) ni à la taille de l'étang ($F_{1,127} = 0,06$, $p = 0,81$), mais elle était positivement liée à l'âge de l'étang ($F_{1,127} = 7,17$, $p = 0,008$) et négativement lié au temps depuis le dernier assec ($F_{1,127} = 4,43$, $p = 0,03$, figure 52).

⁷ dw : dry weight : poids sec

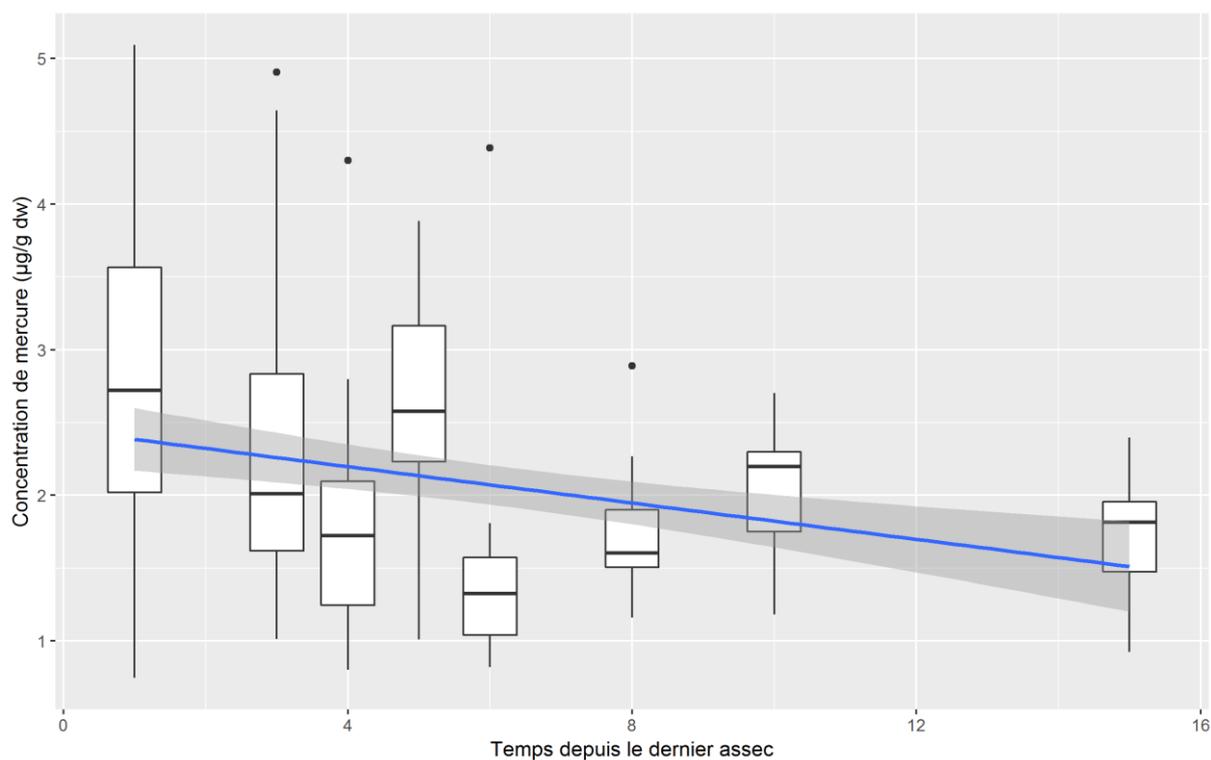


Figure 52 : Concentrations de mercure selon le nombre d'années depuis le dernier assec prolongé

Nous n'avons pas trouvé d'influence significative des concentrations de mercure sur l'état corporel des mâles ($F_{1,117} = 1,31$, $p = 0,25$) ou des femelles ($F_{1,123} = 0,007$, $p = 0,93$). Des résultats similaires ont été trouvés lorsque les analyses étaient limitées aux individus adultes (tous $p > 0,32$).

Nous avons trouvé des relations négatives significatives entre la proportion de femelles gravides par étang et les concentrations de Hg des femelles adultes pour 2016 (corrélation de rang de Spearman, $r_s = -0,50$, $p < 0,0001$, figure 53) et 2017 (corrélation de rang de Spearman, $r_s = -0,39$, $p = 0,004$, figure 54).

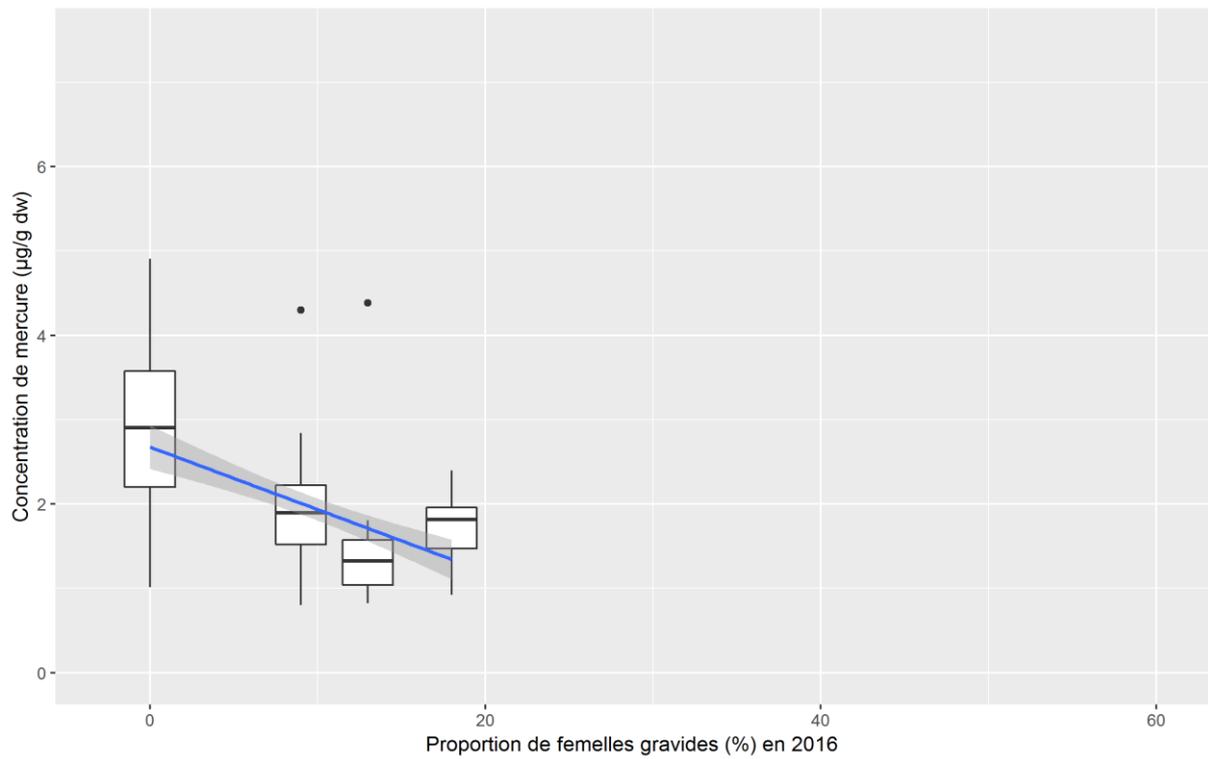


Figure 53 : Corrélation entre la concentration de mercure et la proportion de femelle gravides en 2016

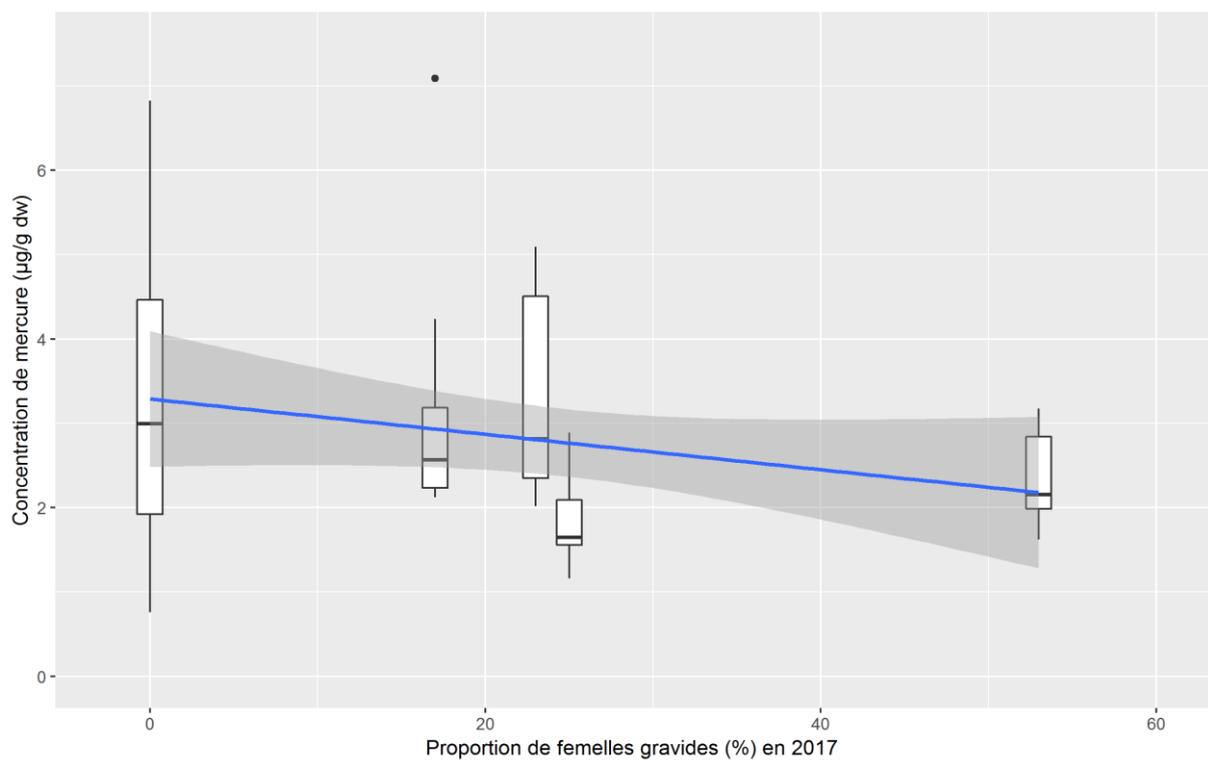


Figure 54 : Corrélation entre la concentration de mercure et la proportion de femelle gravides en 2017

4. 4. Discussion

Dans l'ensemble, les résultats que nous avons trouvés sur les déterminants individuels des concentrations de mercure dans les Cistudes d'Europe *Emys orbicularis* de Brenne plaident en faveur de l'utilisation des tortues d'eau douce comme bio-indicateurs de la contamination environnementale, comme cela a déjà été démontré dans d'autres études (Bergeron *et al.*, 2007; Burger *et al.*, 2009; Schneider *et al.*, 2009, 2010; Turnquist *et al.*, 2011; Hopkins, Willson & Hopkins, 2013b; Slimani *et al.*, 2018). De plus, le contexte « semi-expérimental » de nos sites d'échantillonnage a permis de mettre en évidence plusieurs variables environnementales (autres que la contamination anthropique directe) qui semblent influencer sur la biodisponibilité du mercure pour les tortues. Enfin, un lien existe entre les concentrations de mercure trouvées dans les cistudes de notre site et leur propension à se reproduire (femelles gravides). Sans parler de conséquences directes, ce lien nous amène à nous interroger sur l'impact potentiel du mercure à long terme sur la persistance de cette population. L'ensemble de ces différents aspects est discuté ci-dessous.

4. 4. 1. Déterminants individuels des concentrations de mercure

L'utilité des tortues d'eau douce en tant que bioindicateurs de la contamination par le mercure a déjà été démontrée chez cette espèce (Guillot *et al.*, 2018) et chez d'autres espèces (Bergeron *et al.*, 2007; Burger *et al.*, 2009; Schneider *et al.*, 2009, 2010; Turnquist *et al.*, 2011; Hopkins *et al.*, 2013b; Slimani *et al.*, 2018). Conformément à ces études, nos recherches indiquent également que l'analyse des griffes d'*Emys orbicularis* est une technique non invasive utile pour surveiller la contamination par le mercure chez un grand nombre d'individus. Nous avons constaté que les concentrations de mercure chez les individus juvéniles étaient plus faibles que chez les tortues adultes plus âgées, ce qui indique que le mercure se bioaccumule pendant la vie des cistudes (Guillot *et al.*, 2018). Malgré cette différence entre les classes d'âge (juvéniles et adultes), nous n'avons trouvé aucune relation entre la taille de la tortue et la concentration de mercure, alors qu'une telle corrélation avait déjà été enregistrée (Hopkins *et al.*, 2013a; Guillot *et al.*, 2018). Nous proposons deux hypothèses complémentaires non mutuellement exclusives pour expliquer ce résultat. Premièrement, la gamme de tailles disponibles dans notre étude est limitée aux individus relativement grands (tous ont une longueur de la dossière supérieure à 96,5 mm correspondant aux grands juvéniles et aux adultes), alors qu'une étude précédente incluait

des nouveau-nés et de très petits individus (Guillot *et al.*, 2018). Cette gamme restreinte de tailles a inévitablement masqué toute relation entre la concentration de mercure et la taille des tortues. Deuxièmement, la cistude a une croissance relativement déterminée. En effet, bien que les jeunes adultes puissent continuer à grandir, la plupart des individus âgés ont presque cessé de grandir. Par conséquent, pour une taille similaire, les âges peuvent être très différents. Étant donné que le mercure se bioaccumule avec l'âge, les individus de taille similaire peuvent présenter des concentrations de mercure très différentes. Encore une fois, de tels phénomènes masqueraient toute relation entre les concentrations de mercure et la taille des individus adultes. Les futures études devront étudier de telles hypothèses, notamment en échantillonnant des individus d'âge connu issus d'études à long terme de capture-marquage-recapture.

Comme il a déjà été suggéré pour cette espèce (Guillot *et al.*, 2018) et pour d'autres tortues d'eau douce (Bergeron *et al.*, 2007; Schneider *et al.*, 2009; Turnquist *et al.*, 2011; Hopkins *et al.*, 2013a; Adel *et al.*, 2017; Slimani *et al.*, 2018), il n'y a pas de différence de concentration de mercure selon les sexes. Cela suggère que les taux d'alimentation, de métabolisme et/ou de croissance sont probablement assez similaires pour les deux sexes (Yu *et al.*, 2011; Allender *et al.*, 2015), contrairement à ce qui a été trouvé chez une autre espèce de tortue d'eau douce (Nagle, Rowe & Congdon, 2001) et pour des tortues de mer (Gurilet, Das & Girondot, 2008). En outre, cela suggère que la reproduction (production d'œufs et ponte) ne représente pas une voie de détoxification majeure pour les femelles de cistude (Burger & Gibbons, 1998; Hopkins *et al.*, 2013b).

4. 4. 2. Déterminants environnementaux des concentrations de mercure

Notre étude met en évidence le rôle de plusieurs facteurs environnementaux affectant les concentrations de mercure dans les griffes des cistudes. Ainsi, ces déterminants ne sont pas liés aux sources directes de pollution dues aux activités anthropiques (comme les effluents industriels, Wang *et al.*, 2004), mais indiquent plutôt des sources plus subtiles de biodisponibilité du mercure dans la nature (Driscoll *et al.*, 2013). Tout d'abord, la catégorie de gestion de chaque étang ne semble pas influencer de manière significative les concentrations de mercure chez les tortues. Cela suggère que, dans la Brenne, la pisciculture intensive (dans des étangs non protégés) pourrait ne pas être responsable du transfert du mercure marin dans les aliments pour poissons, comme le montrent les systèmes d'élevage de truites (Hansson *et*

al., 2017; Lemaire *et al.*, 2018). En effet, dans notre zone d'étude, la pisciculture est principalement dédiée aux espèces omnivores (carpes) pour lesquelles le nourrissage, lorsque celui-ci est réalisé, est à base de céréales (essentiellement du maïs) (FAReC⁸, com. pers.), plutôt que des granulés commerciaux à base de protéines de produits de la pêche d'origine marine (Hansson *et al.*, 2017). Toutefois, il semble que ces nourrissages par de tels granulés aient existé par le passé (Otto-Bruc, 2001), et l'opacité des pratiques ne nous permet pas d'écarter totalement cette hypothèse encore aujourd'hui. Nos résultats montrent également que les cistudes des étangs plus anciens, présentent des concentrations de mercure relativement plus élevées. Ce résultat suggère que les concentrations de mercure, et donc sa biodisponibilité, augmentent avec l'âge de l'étang. Étant donné que les sources naturelles de mercure comprennent à la fois les dépôts hydrologiques et atmosphériques (Mason *et al.*, 2012), une masse d'eau plus ancienne a été soumise à ces processus naturels pendant une période plus longue, et peut donc présenter des concentrations de mercure naturellement plus élevées (Eagles-Smith *et al.*, 2018). Bien qu'il puisse sembler compliqué d'évaluer ce paramètre dans d'autres zones géographiques, nous pensons que cette source naturelle de variation de la concentration de mercure est un problème majeur à prendre en compte. Enfin, nous avons trouvé une influence du temps depuis le dernier assec prolongé (TDDA) des étangs sur les concentrations de mercure. Comme cela est présenté dans la partie gestion des étangs de la méthodologie générale, au cours de l'assec d'entretien, la matière organique contenue dans la boue est minéralisée. En conséquence, les années qui suivent un tel épisode d'assec sont généralement caractérisées par une prolifération importante de végétation, à la fois en termes de densité et de richesse en espèces (Richier & Broyer, 2014). Un tel processus peut influencer la biodisponibilité du mercure (c'est-à-dire la méthylation du mercure inorganique) en favorisant la croissance du biofilm bactérien sur les algues et les macrophytes. Ce biofilm bactérien étant le lieu d'action des bactéries générant la méthylation du mercure, et donc l'augmentation de sa biodisponibilité (Gentès *et al.*, 2013, 2017). De plus, la rhizosphère macrophytique est également impliquée dans la méthylation du mercure et peut donc augmenter sa biodisponibilité pour la faune locale (Gentès *et al.*, 2013). Observation confortée par les plus fortes concentrations dans le Petit Etang de la Touche ($3,16 \pm 1,07 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) sur l'ensemble de notre échantillon, avec des communautés de végétation amphibie très

⁸ Fédération Aquacole de la Région Centre

importantes. Un tel processus est susceptible d'expliquer la relation négative et significative que nous avons trouvée entre le temps depuis le dernier assec et la concentration de mercure chez la Cistude d'Europe. Bien que les événements de mise en assec soient sans aucun doute favorables à la floraison d'une végétation spécifique post-assec (Richier & Broyer, 2014), nos résultats suggèrent que, s'ils sont trop fréquents, ils pourraient provoquer une augmentation de la biodisponibilité du mercure. Les futures politiques de gestion devraient tenir compte de ce résultat et viser un juste équilibre entre la favorisation de la végétation post-assec favorable à la biodiversité (espèces végétales patrimoniales et reproduction d'invertébrés et de vertébrés) et la biodisponibilité accrue associée au mercure qui en découle. Toutefois, cette végétation post-assec, serait-elle aussi importante si les massifs d'hydrophytes étaient bien présents ?

4. 4. 3. Concentrations de mercure et reproduction

Enfin, notre étude fait ressortir d'éventuels effets négatifs des concentrations de mercure sur la reproduction des cistudes. Plus précisément, nous avons trouvé des relations négatives entre les concentrations moyennes de mercure chez les femelles adultes et la proportion de femelles reproductrices selon les sites. Qui plus est, cette tendance négative a été détectée sur les deux années de notre étude. Le mercure est connu pour avoir une influence négative sur le succès d'éclosion chez une autre espèce de tortue d'eau douce (Hopkins *et al.*, 2013b). Bien que notre étude indique une corrélation négative entre les facteurs, nous préférons parler de corrélation négative et non directement d'impact, car les processus d'action du mercure sur la perturbation de la reproduction sont complexes et agissent à différents niveaux. De plus, l'indice de femelles reproductrices est soumis à variation selon les conditions d'études (temporelles). Cependant, la répétition de ces résultats sur deux années consécutives amène à considérer cet état de fait. En revanche, nos résultats sur l'absence de lien entre la concentration de mercure et l'état corporel des individus n'indiquent pas d'influence du mercure sur l'alimentation, la croissance ou même le métabolisme. Par conséquent, au regard de ces deux éléments, nos résultats suggèrent une influence du mercure sur les mécanismes de la reproduction. Le mercure, en particulier le méthylmercure, est connu pour être un perturbateur des hormones de la reproduction (Zhu *et al.*, 2000; Tan *et al.*, 2009; Frederick & Jayasena, 2011), il a été démontré qu'il influence la probabilité de reproduction chez d'autres vertébrés longévifs (Tartu *et al.*, 2013; Goutte *et al.*,

2014). Notre ensemble de données ne permet pas d'affirmer un lien de causalité et notre conclusion doit être prise avec prudence. Malgré l'absence de preuves d'une causalité directe, les concentrations de mercure trouvées chez les cistudes du site d'étude (jusqu'à $7 \mu\text{g.g}^{-1}$) sont cohérentes avec celles connues pour provoquer des dysfonctionnements de la reproduction dans d'autres systèmes d'étude (par exemple, $1 \mu\text{g.g}^{-1}$ dans le sang et entre 2,4 à $40 \mu\text{g.g}^{-1}$ dans des plumes d'oiseaux : Burger and Gochfeld, 1997; Evers et al., 2008), suggérant que les taux que nous avons trouvés ne sont peut-être pas anodins pour *Emys orbicularis*. Les futures études devraient examiner les niveaux d'hormones de reproduction et les concentrations de mercure chez les femelles de cistude afin de vérifier cette hypothèse. De plus, bien que la population de Cistude d'Europe de Brenne soit l'une des plus importantes de France, la proportion de nouveau-nés est l'une des plus faibles (Owen-Jones, 2015; Beau, 2017). Ainsi, la relation négative entre les concentrations de mercure et la proportion de femelles reproductrices que nous avons détectées suggère que la contamination par le mercure, même en l'absence de sources de pollution directes et puissantes, pourrait avoir un impact critique sur la reproduction et donc sur la persistance de la population chez un vertébré à longue vie.

4. 5. Conclusion

Les cistudes de Brenne, bien que non exposées à des sources de pollution au mercure directe, d'un point de vue spatial ou temporel, montrent la présence de ce métal lourd dans leur organisme. Les valeurs trouvées par le biais des analyses de fragments de griffes nous indiquent des taux non négligeables, entre $0,7475 \mu\text{g.g}^{-1} \text{ dw}$ et $7,0889 \mu\text{g.g}^{-1} \text{ dw}$. Les adultes qui contiennent plus de mercure que les juvéniles nous confirme le phénomène de bioaccumulation chez cette espèce. En revanche, l'absence de différence entre les mâles et les femelles ne nous indique pas de voie d'excrétion du mercure par les femelles. Les différences observées entre sites ne nous semblent pas imputables à la gestion piscicole comme cela a pu être observé sur d'autres zones de pisciculture. En revanche, la gestion par assec prolongé répétés dans le temps, nous apparait comme l'élément explicatif de l'entrée du mercure dans la chaîne alimentaire. Il conviendra de considérer cet élément étant donné qu'un lien négatif a été mis en évidence entre les taux de mercure et la gravidité des femelles, le mercure étant bien connu pour affecter la reproduction de nombreuses espèces. Toutefois, des recherches ultérieures sur la base de ces observations seraient souhaitables pour juger d'un impact potentiel sur une espèce longévive.

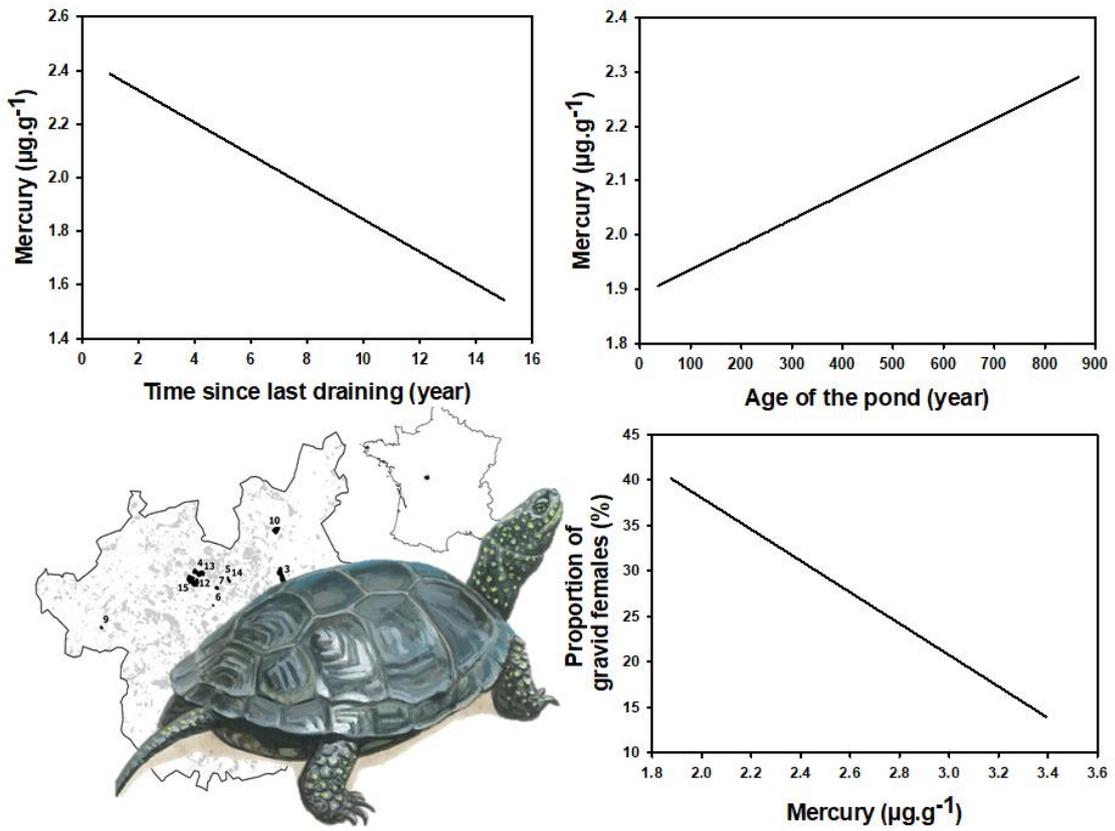


Figure 55 : résumé en images des principales informations liées au mercure
(réalisation F. Brischoux)

5. Causes et conséquences du recouvrement algal sur les Cistudes d'Europe *Emys orbicularis* de Brenne.

Cette partie est parallèlement en cours de rédaction pour une soumission à court terme dans la revue *Freshwater Biology*.

5.1. Introduction

A l'image de l'agriculture moderne, l'aquaculture, qu'elle soit pour la production de poissons ou de crustacés, peut avoir des effets négatifs sur les écosystèmes locaux, et plus largement, l'environnement mondial (Strain, 2005; Aubin *et al.*, 2009). En effet, la pisciculture productiviste induit généralement de fortes densités de poissons dans des zones relativement restreintes, ce qui implique alors l'utilisation de produits supplémentaires destinés à l'alimentation, voire au traitement de ces poissons. Ainsi, les modes d'élevages intensifs impliquent l'utilisation d'aliments et de produits vétérinaires qui peuvent engendrer des taux élevés d'antibiotiques (Kümmerer, 2009) et un accroissement de la matière organique, augmentant par là même les concentrations d'azote et de phosphore dans le milieu aquatique (Smith, Tilman & Nekola, 1999). Récemment, il a été démontré que les intrants alimentaires étaient responsables du transfert de contaminants tels que le mercure du milieu marin vers des lacs de montagne (Hansson *et al.*, 2017).

Les taux d'azote et de phosphore, mais aussi de carbone contenus dans la matière organique influencent fortement la croissance des algues et des plantes vasculaires dans les écosystèmes d'eau douce et marin (Vollenweider, 1968; Goldman *et al.*, 1972; Hecky & Kilham, 1988; Nixon, 1995; Smith *et al.*, 1999). Une concentration élevée de matière organique peut conduire à une eutrophisation (Khan & Ansari, 2005; Strain, 2005), processus défini comme «un accroissement du taux de matière organique dans un écosystème» (Nixon, 1995). La pisciculture peut être responsable de cet enrichissement en matière organique, à la fois directement par un excès de nourriture pour le poisson, et indirectement par la production de déchets des poissons élevés, ce dernier point ayant un fort impact sur le phosphore (Daniel, Sharpley & Lemunyon, 1998; Khan & Ansari, 2005). A ces apports s'ajoutent ceux des eaux de ruissellement des terres du bassin versant, qu'il s'agisse de cultures ou de pâturages (Strain, 2005). L'eutrophisation est désormais considérée comme un problème global dans de nombreux écosystèmes aquatiques (Dolbeth, Cardoso & Pardal, 2010).

Les conséquences de l'eutrophisation peuvent être multiples, telles que la modification de la composition physico-chimique ainsi que de la turbidité de l'eau (Candolin, Engström-Öst & Salesto, 2008). Un autre effet majeur est la prolifération des algues (Smith *et al.*, 1999). Cette prolifération engendre un déficit en oxygène dû à leur décomposition par les bactéries, après leur cycle, qui peut affecter la faune aquatique (Rosenberg & Loo, 1988; Strain, 2005). La flore est également impactée (phytoplancton et plantes vasculaires), en raison de la baisse de luminosité engendrée par la turbidité (Kocum, Underwood & Nedwell, 2002; Khan & Ansari, 2005). De plus, les cyanobactéries peuvent proliférer et causer des dommages en produisant des composés toxiques (Smith *et al.*, 1999) qui peuvent être responsables de la mortalité massive chez certaines espèces (Nasri, El Herry & Bouaïcha, 2008; Chislock, 2013). Enfin, il a été démontré que l'eutrophisation avait une influence sur les processus évolutifs (Vonlanthen *et al.*, 2012).

L'accumulation d'algues sur divers substrats constitue un autre impact des proliférations algales dues à l'eutrophisation (Wahl & Lafargue, 1980; Wahl, 1989). Cette accumulation, connue sous le nom de « biofouling » ou encrassement biologique, peut avoir un impact sur les activités et les structures humaines. Ce phénomène est largement étudié en raison des conséquences socio-économiques potentielles (Landoulsi, Cooksey & Dupres, 2011; Fitrige *et al.*, 2012; Nguyen, Roddick & Fan, 2012; Legg *et al.*, 2015). Cet encrassement biologique peut affecter les êtres vivants, on parle alors d'épibiose (Wahl, 1989). Ce phénomène s'observe en milieu marin (Shine, Brischoux & Pile, 2010; Pfaller *et al.*, 2012), mais également en milieu d'eau douce (Garbary *et al.*, 2007; Burgin & Renshaw, 2008, 2012). Toutefois, les causes et les conséquences de ces épibiontes sur leurs hôtes sont très discutées car elles peuvent être multiples. Il peut s'agir de commensalisme, où l'hôte ne fournit qu'un substrat et/ou un moyen de dispersion pour l'épibionte (Burgin and Renshaw, 2008; Edgren *et al.*, 1953; Garbary *et al.*, 2007; Pedroso Dias *et al.*, 2008; Ziglar and Anderson, 2005). Mais également de mutualisme, bénéfice mutuel, où l'hôte fournit un moyen de dispersion et l'épibionte un camouflage par exemple (Neil & Allen, 1954; Hulse, 1976; Barea-Arco, Pérez-Martínez & Morales-Baquero, 2001). L'amensalisme est également évoqué, lorsque l'épibionte induit des impacts négatifs sur l'hôte (Neil & Allen, 1954; Allen, De Stasio & Ramcharan, 1993; Burris & Dam, 2014).

Les tortues d'eau douce se prêtent bien à l'étude des causes et des conséquences de l'épibiose dans les écosystèmes d'eau douce. Ainsi, la présence d'algues sur ces reptiles est

documentée depuis la fin du XIXe siècle (Peter (1886) dans Edgren et al., 1953 ; Harper, 1950 ; Smith (1882) dans Neil et Allen, 1954). Ce cas d'épibionte (l'algue) qui colonise un animal est qualifié d'épizoïque ou encore épizoaire, bien que des différences sémantiques existent selon les considérations (Fayolle, 2016; Vassal *et al.*, 2017; Bertrand, 2018; Triplet, 2018) ; il se distingue des épiphytes qui colonisent des végétaux. De nombreuses espèces ont été décrites comme hôtes d'algues épizoïques, essentiellement en Amérique du Nord (Harper, 1950; Edgren *et al.*, 1953; Proctor, 1958; Sexton, 1965; Gibbons, 1968; Ziglar & Anderson, 2005; Garbary *et al.*, 2007), mais aussi en Australie (Skinner, FitzSimmons & Entwisle, 2008), en Turquie (Ziglar & Anderson, 2005; Soylu *et al.*, 2006; Akgul *et al.*, 2014) et en France (Fayolle *et al.*, 2016). Les caractéristiques de la carapace des tortues semblent être importantes pour la présence d'algues. En effet, seules les tortues à carapace dure sont recouvertes car les anfractuosités se prêtent bien à la fixation des rhizoïdes algaux (Ernst & Norris, 1978), alors que les tortues à carapace molle en sont exemptes (Edgren *et al.*, 1953; Ziglar & Anderson, 2005).

Depuis quelques années, le recouvrement algal des Cistudes d'Europe est étudié, essentiellement pour ce qui est de la composition des peuplements. Ainsi, il a été noté une grande diversité avec, par exemple, 59 taxons en Turquie (Ersanli & Gonulol, 2015), 77 en Camargue (Fayolle *et al.*, 2016), 75 en Brenne : dont 52 diatomées, 9 chlorophyta, 11 cyanobactéries, 2 euglénophytes et 1 xanthophytes inventoriés (Fayolle, 2016), et plus récemment, 140 diatomées (Bertrand, 2018). De plus, il est noté des différences de composition entre le plastron et la dossière (Fayolle *et al.*, 2016).

Dans le cadre de nos suivis sur l'espèce depuis de nombreuses années, en raison de l'ampleur de certains recouvrements (figure 56), il nous est apparu important d'aller au-delà de l'étude de la seule composition des peuplements algaux, en recherchant les causes et les éventuelles conséquences de ces recouvrements. Le contexte d'étangs piscicoles se prête aisément à ce type d'étude. Nous souhaitons tout d'abord comprendre les raisons environnementales de ces recouvrements, mais également les spécificités liées aux caractéristiques des individus, telles que le sexe ou l'âge. Enfin, nous souhaitons étudier le lien entre ce recouvrement et l'état corporel des cistudes ou encore la reproduction.



Figure 56 : Présentation de la couverture algale sur l'individu 2633

5. 2. Matériels et méthodes

A l'image de la partie sur le mercure, l'échantillonnage a eu lieu pendant les sessions de piégeage dont le mode opératoire est présenté dans la méthodologie générale. Lors des manipulations des individus pour leur identification et les prises de mesure, comme il est détaillé dans la méthodologie générale (biométrie, gravidité de femelle...), nous avons relevé

le recouvrement algal. Tout d’abord, la présence ou l’absence d’algues visibles, indépendamment sur le plastron et sur la dossière a été relevé. Ensuite, la prévalence a été évaluée, comme le pourcentage de recouvrement de l’algue sur l’ensemble de la dossière ou du plastron. Pour la prévalence, cinq catégories ont été définies de 0 à 100% avec un intervalle de 25%. Nous possédons donc les informations de chaque individu pour chaque contact, ainsi que le site de capture. Les informations concernant chaque site ont ensuite été renseignées avec les données suivantes : tout d’abord, le « type de pisciculture » : intensif pour les étangs essentiellement dédiés à la production de capes accompagné de nourrissage, et extensif pour les étangs sans nourrissage avec ou sans carpe ; Puis, les critères « carpe » (présence/absence) et « nourrissage » (oui/non) ont été isolés pour les tester séparément.

Les relevés de terrain se sont déroulés sur 23 étangs (figure 57), entre avril et août durant 3 années consécutives (2016 à 2018). Nous avons ainsi réalisé 1883 contacts sur 1112 individus, représentant 551 femelles, 515 mâles et 46 individus non sexés.

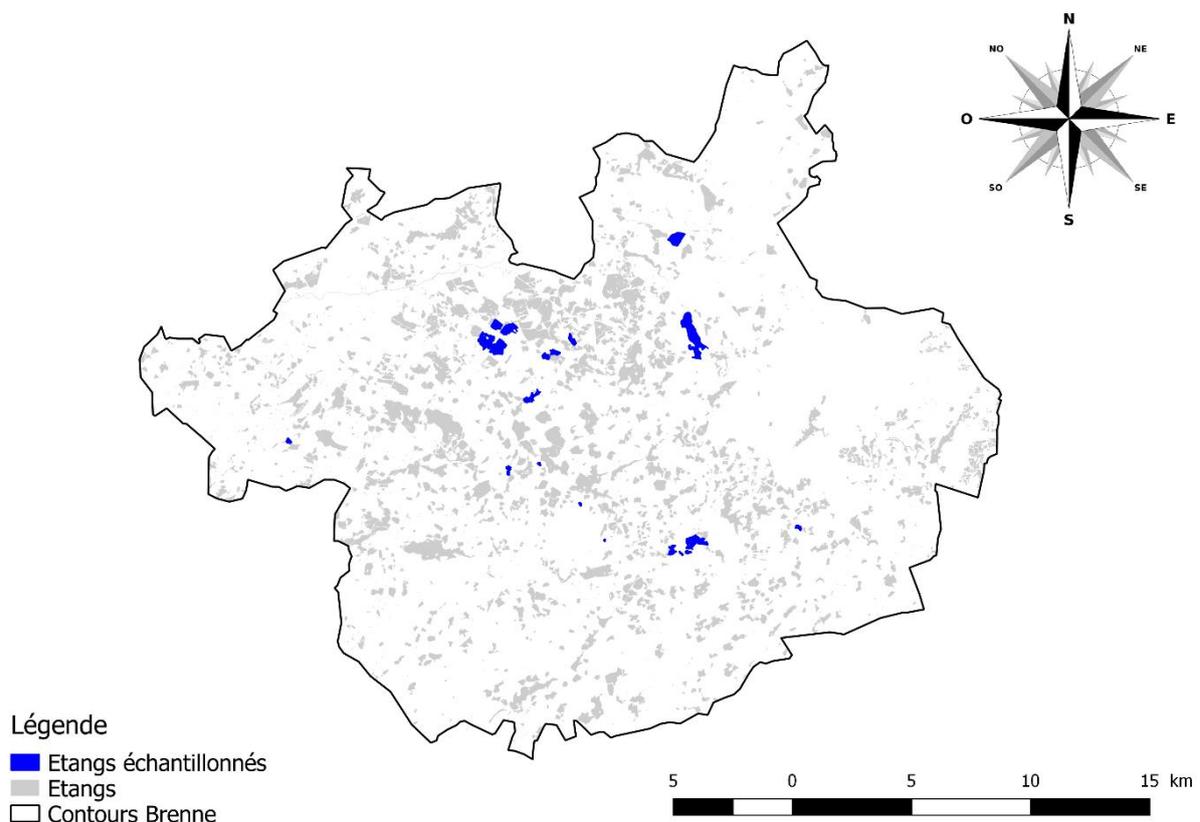


Figure 57 : Localisation des étangs échantillonnés pour l’étude des algues épizoïques

5. 2. 1. Analyses statistiques

Des tests du Khi-deux ont été utilisés pour l'ensemble des analyses sur la présence ou l'absence d'algues (déterminants individuels et environnementaux, condition corporelle, état reproductif...). La condition corporelle utilisée dans ce chapitre est un ajustement de la masse en fonction de la taille, c'est pourquoi le terme de masse ajustée est également employé. Les modèles linéaires généralisés ont été utilisés pour les analyses sur la prévalence afin de noter des différences entre déterminants individuels, avec le recouvrement algal comme variable et les caractéristiques individuelles en facteurs (sexe, classe d'âge), et les étangs en facteurs aléatoire pour prendre en compte les contributions différentes. Nous avons également utilisé des modèles linéaires généralisés pour étudier les déterminants environnementaux, avec le recouvrement algal comme variable et les caractéristiques environnementales, ou d'utilisation des sites, en facteurs. De la même façon, les liens entre la masse ajustée ou la gravidité et la couverture algale ont été analysés.

Toutes les analyses ont été effectuées avec Statistica 12.

5. 3. Résultats

La grande majorité des individus inventoriés héberge des algues visibles sur leur dossière (82%) et, dans une moindre mesure, sur le plastron (10%).

5. 3. 1. Algues et caractéristiques des individus

Sur l'ensemble des individus, la présence des algues sur la dossière diffère entre les classes d'âges, avec 83,1% des adultes concernés contre 67,9% des juvéniles (Pearson's $\chi^2 = 16,77$, $df = 1$, $p < 0,001$). En revanche, sur le plastron nous avons noté un effet inverse, avec des juvéniles plus couverts, 16,1% d'entre eux, contre 8,8% pour les adultes (Pearson's $\chi^2 = 6,62$, $df = 1$, $p = 0,01$). La prévalence des algues sur la dossière varie selon les mois de capture ($F_{4,1873} = 8,39$, $p < 0,001$, figure 58) mais pas selon la classe d'âge ($F_{1,1873} = 3,28$, $p = 0,07$) ou l'interaction des deux facteurs ($F_{4,1873} = 1,14$, $p = 0,33$). Les observations concernant la prévalence sur le plastron nous fournissent les mêmes résultats (figure 59), à savoir une différence selon les mois ($F_{1,1873} = 10,99$, $p < 0,001$), une tendance des juvéniles à être plus couverts ($F_{1,1873} = 3,73$, $p = 0,54$) et pas d'effet de l'interaction de ces deux facteurs ($F_{4,1873} = 1,75$, $p = 0,15$).

Si l'on s'attarde que sur les adultes, les mâles sont plus souvent couverts que les femelles, à la fois pour la dossière ($\chi^2 = 7,98$, $df = 1$, $p = 0,004$; $F = 80,3\%$, $M = 85,3\%$) et pour le plastron ($\chi^2 = 28,9$, $df = 1$, $p < 0,001$; $F = 5,8\%$, $M = 13,1\%$). La prévalence de l'algue sur la dossière (figure 58) varie selon le mois ($F_{4,1760} = 51,44$, $p < 0,001$, figure 58), le sexe ($F_{1,1760} = 11,73$, $p < 0,001$) et leur interaction ($F_{4,1760} = 2,34$, $p = 0,05$). Il en est de même pour la prévalence sur le plastron avec une différence de recouvrement entre mois ($F_{4,1760} = 36,85$, $p < 0,001$, figure 59), entre sexes ($F_{1,1760} = 7,60$, $p = 0,006$) et en interaction des deux facteurs ($F_{4,1760} = 8,66$, $p < 0,001$).

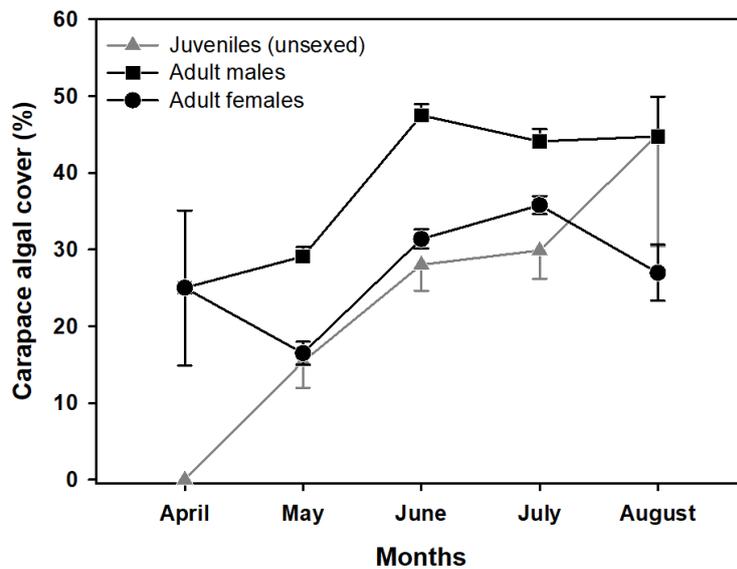


Figure 58 : Couverture algale de la dossière au cours du temps

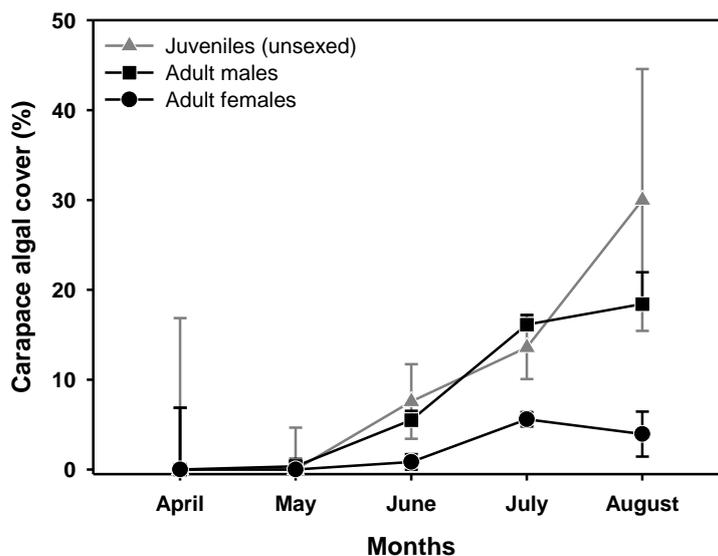


Figure 59 : Couverture algale du plastron au cours du temps

5. 3. 2. Usage des étangs

Une différence est notée entre les sites sur la présence des algues de la dossière ($\chi^2 = 165,79$, $df = 23$, $p < 0,001$; min = 63,63%, max = 100%), ainsi que sur le plastron ($\chi^2 = 229,59$, $df = 23$, $p < 0,001$; min = 0%, max = 41,46%). C'est également le cas pour la prévalence où l'on note des différences entre sites, à la fois sur la dossière ($F_{23,1855} = 22,76$, $p < 0,001$) et sur le plastron ($F_{23,1855} = 11,53$, $p < 0,001$). La présence ou l'absence des algues sur la dossière n'est pas liée à l'usage des étangs car tous les usages montrent une forte fréquence, que ce soit pour le critère intensif ou extensif ($\chi^2 = 1,12$, $df = 1$, $p = 0,29$; extensif = 81,6%, intensif = 83,7%), avec ou sans carpes ($\chi^2 = 0,28$, $df = 1$, $p = 0,59$; avec = 82,6%, sans = 81,6%), avec ou sans nourrissage ($\chi^2 = 0,82$, $df = 1$, $p = 0,36$; avec = 83,6%, sans = 81,1%). En revanche, la présence d'algues sur le plastron est fortement liée au type de pisciculture pratiqué ($\chi^2 = 13,24$, $df = 1$, $p < 0,001$; extensif = 8,3%, intensif = 14,1%).

L'abondance des algues de la dossière est liée, pour sa part, à l'usage des étangs. Les tortues capturées sur des étangs de pisciculture intensive ont plus d'algues ($F_{1,1719} = 18,48$, $p < 0,001$, figure 60). De même, le type de pisciculture, avec ou sans carpes, influence la couverture algale des cistudes, avec des tortues issues d'étangs dédiés à la production de carpes plus abondamment couvertes ($F_{1,1704} = 4,52$, $p = 0,03$). Le nourrissage affecte également la couverture algale, que ce soit pour l'ensemble des sites échantillonnés ($F_{1,1786} = 15,55$, $p < 0,001$) ou pour une analyse restreinte aux sites dédiés à la production de carpes ($F_{1,634} = 21,38$, $p < 0,001$). Les résultats pour le plastron sont identiques ; ils ne sont pas présentés dans les détails pour ne pas alourdir cette partie.

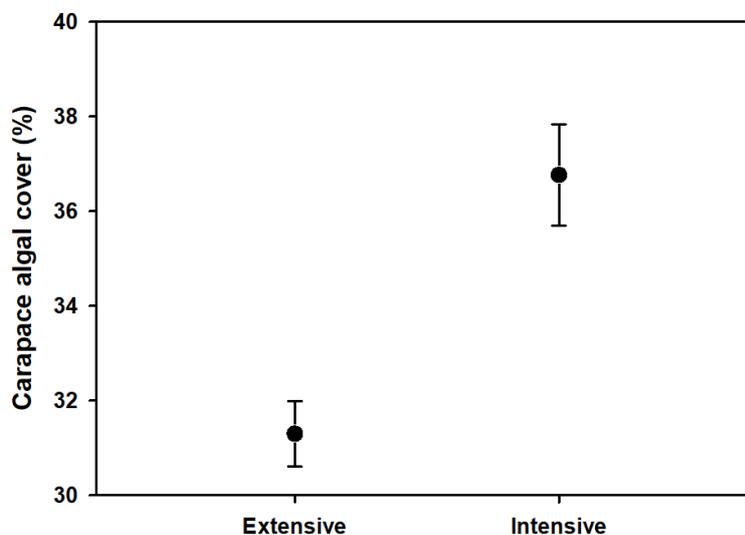


Figure 60 : Couverture algale selon le type de pisciculture

5. 3. 3. Algues, condition corporelle et reproduction

Sur notre échantillon de femelles non gravides, pour exclure le biais lié à la masse des œufs, la condition corporelle des femelles est plus basse pour celles avec algues sur la dossière que sans algues ($F_{1,789} = 9,55$, $p = 0,002$; avec algues = $717,8 \pm 2,3$ g, sans algues = $733,4 \pm 4,5$ g) (figure 61), ce qui n'est pas le cas pour le plastron ($F_{1,789} = 0,04$, $p = 0,84$). Pour les mâles, nous n'avons pas noté de différence concernant la présence des algues sur la dossière ($F_{1,739} = 0,006$, $p = 0,94$), contrairement au plastron ($F_{1,739} = 5,70$, $p = 0,02$, avec algues = $521,1 \pm 4,02$ sans algues = $510,9 \pm 1,47$ g). Tous les tests sur la prévalence n'indiquent pas d'effet, que ce soit pour les mâles, les femelles, la dossière ou le plastron.

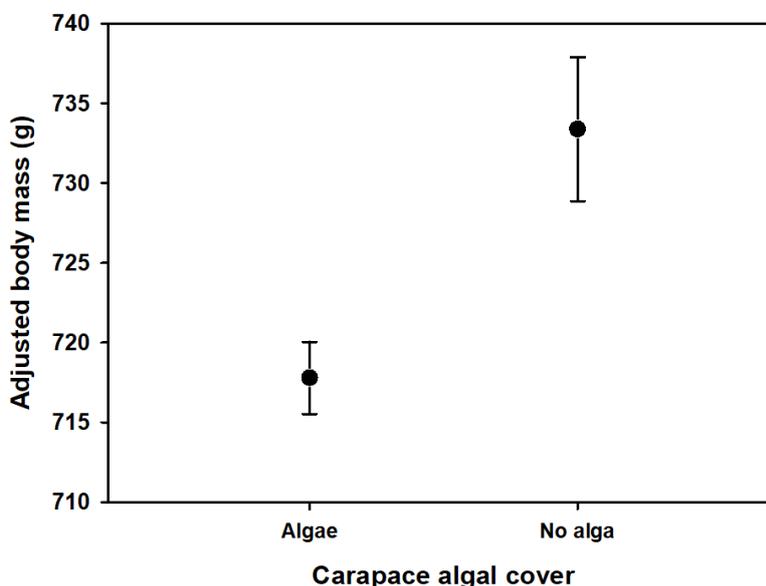


Figure 61 : Masse ajustée moyenne en fonction de la présence ou l'absence d'algues sur la dossière

Les analyses sur la relation entre le recouvrement algal et la gravidité des femelles nous indiquent un lien entre la proportion de femelles gravides et la surface en algues sur la dossière ($\chi^2 = 7,98$, $df = 3$, $p = 0,04$) (figure 62).

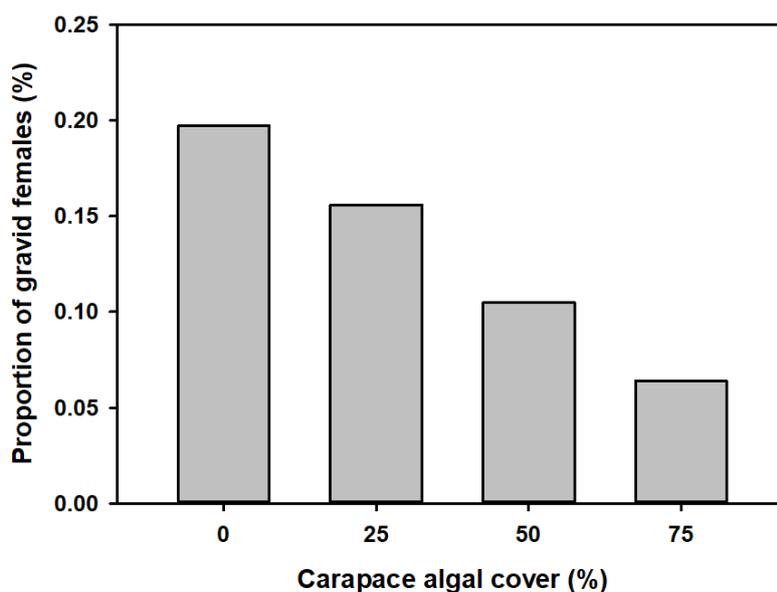


Figure 62 : Lien entre la couverture algale de la dossière et la proportion de femelles gravides

5. 4. Discussion

Nos résultats indiquent qu'une grande partie des populations de Cistude d'Europe *Emys orbicularis* que nous avons étudiées est l'hôte d'algues épizoïques visibles. Ces algues sont présentes chez tous les sexes et tous les âges, bien que nous ayons mis en évidence des différences qui sont probablement liées à une interaction entre les activités quotidiennes des individus et la phénologie des algues. De plus, nos résultats mettent en évidence les impacts importants des activités anthropiques (pisciculture) sur la présence et le développement de ces algues épizoïques. Nous faisons également apparaître des corrélations entre les couvertures algales et la condition physique des cistudes ainsi qu'avec le facteur reproductif des femelles.

5. 4. 1. Recouvrement algal et caractéristiques des individus

La Cistude d'Europe *Emys orbicularis* est connue pour héberger une grande variété de taxons algaux (Akgul *et al.*, 2014; Ersanli & Gonulol, 2015; Fayolle *et al.*, 2016). Dans notre étude, la proportion globale d'individus révélant la présence d'algues sur la dossière (~82%) est similaire à celle trouvée dans d'autres zones géographiques telle que la Turquie, avec 77% (Akgul *et al.*, 2014). Le plastron est, quant à lui, moins fréquemment recouvert, avec seulement 10% des individus échantillonnés hôtes. Cependant, les recherches sur les

déterminants individuels de la couverture algale sur les tortues d'eau douce semblent manquer.

Les différences observées sur les recouvrements algaux entre mâles et femelles, ainsi qu'entre adultes et juvéniles, peuvent trouver leurs explications dans les comportements divergents entre classes et sexes. En effet, les différences liées aux besoins énergétiques pour la reproduction peuvent expliquer le plus faible recouvrement observé chez les femelles. Ainsi, afin de répondre aux exigences énergétiques de la vitellogénèse, les femelles gravides réaliseraient plus fréquemment et plus longtemps des bains de soleil hors de l'eau pour atteindre une température corporelle optimale (Krawchuk & Brooks, 1998; Carrière *et al.*, 2008). Ces périodes fréquentes consacrées à la thermorégulation peuvent alors provoquer l'assèchement de la carapace et limiteraient la prolifération algale (Edgren *et al.*, 1953; Ernst & Norris, 1978). A l'inverse, le coût énergétique lié à la spermatogénèse est probablement inférieur, ce qui engendrerait des temps en bains de soleil, et donc un assèchement des algues, moindre. La figure 58 illustre cette hypothèse avec une différence de recouvrement dès le mois de mai, période de production des œufs. Le même processus permet également d'expliquer la différence sur la dossière entre les âges, déjà observée chez d'autres espèces de tortues d'eau douce (Edgren *et al.*, 1953; Proctor, 1958; Gibbons, 1968).

Les besoins énergétiques, et donc de temps de thermorégulation, sont plus importants chez les individus en croissance (juvéniles). Toutefois, outre cet aspect de limite de prolifération algal par dessèchement lié à la thermorégulation, un facteur supplémentaire de réduction est envisageable. En effet, la mue est connue pour limiter l'expansion des algues chez les tortues d'eau douce en général (Gibbons, 1968; Belusz & Reed, 1969; Ziglar & Anderson, 2005), et chez la Cistude d'Europe également (Ersanli & Gonulol, 2015). En effet, il existe peu de littérature sur la mue des cistudes, mais ce processus, y compris pour les écailles, est connu chez cette espèce (Rollinat, 1934). De plus, selon un vétérinaire spécialisé (réfèrent national sur les tortues comme nouveaux animaux de compagnie), les tortues d'eau douce peuvent perdre des écailles de leur carapace, de différentes manières et à diverses fréquences, sous le contrôle de la thyroïde, les juvéniles plus fréquemment que les adultes (Schilliger, com. Pers.). En outre, des éleveurs de tortues confirment avoir observé ce processus chez la Cistude d'Europe (Morcillo, com. pers.). Par conséquent, en plus de l'assèchement des algues lors des bains de soleil, la mue peut être un facteur de "nettoyage" (Proctor, 1958; Sexton, 1965; Gibbons, 1968) plus fréquent chez les individus en croissance.

Cependant, le plastron est plus fréquemment recouvert chez les juvéniles que chez les adultes. Le dessèchement lié aux bains de soleil et à la mue n'est pas en cause. Il paraît alors probable que l'abrasion lors des déplacements terrestre des adultes (pontes pour les femelles et dispersion pour les mâles), impact d'avantage le développement des algues chez les adultes que les juvéniles.

5. 4. 2. Recouvrement algal et caractéristiques de l'environnement

Des études antérieures ont mis en évidence de fortes différences du recouvrement algal des tortues d'eau douce selon les sites d'études, mais ces différences restaient en grande partie inexplicées (Proctor, 1958; Soylu *et al.*, 2006). Le contexte socio-économique de notre site d'étude permet de proposer des explications. Ainsi, la gestion des étangs à vocation de production piscicole intensive provoque une augmentation de la couverture algale. De même, la production de carpes, ou encore le nourrissage (maïs concassé) favorise la multiplication des algues. Ces résultats indiquent clairement une influence positive importante du mode de pisciculture sur la prolifération algale, et s'accordent remarquablement bien avec les relations attendues entre cette activité anthropique et l'eutrophisation (voir introduction). En effet, la pisciculture intensive est responsable de l'enrichissement en matière organique directement et indirectement. Directement, à travers l'apport d'aliments pour le poisson - essentiellement des céréales concassées telles que le maïs (0,7 tonne par hectare d'eau à titre d'exemple sur une saison) - mais également par l'utilisation d'azote lors d'épisodes de déficit en oxygène dissout (l'azote est répandu à la surface de l'eau afin de stimuler les producteurs primaires : le phytoplancton, et produire de l'oxygène). Ce manque d'oxygène est souvent lié aux fortes chaleurs et aux fortes concentrations en poissons, carpe notamment, espèce qui aggrave la situation car son comportement de fousseur met en suspension la matière organique. A ces apports directs s'ajoutent ceux indirects des déchets produits par les poissons eux-mêmes. Enfin, lors de fortes chaleurs, dans des eaux peu profondes supérieures à 35°C, les tortues thermorégulent dans l'eau, maintenant les algues dans des conditions optimales (Bury *et al.*, 2015). Ce cocktail, de matière organique en suspension et de chaleur crée alors une eutrophisation, voire une dystrophisation : conditions idéales pour une prolifération des algues (Smith *et al.*, 1999), parfois de manière importante (figure 56).

5. 4. 3. Recouvrement en algues, condition corporelle et reproduction

Sur la base de nos observations, des liens entre la couverture algale, l'état corporel et la proportion de femelles reproductrices ont pu être établis. Nous avons trouvé une condition corporelle plus faible chez les femelles couvertes d'algues (en excluant les femelles gravides afin d'éviter les biais liés aux poids des œufs). Deux hypothèses peuvent expliquer ce résultat. Tout d'abord, les femelles de plus faible condition corporelle, et donc avec des réserves moindres, réduiraient leurs temps de thermorégulation pour limiter les pertes liées à un métabolisme élevé. En conséquence, étant donné que ces femelles resteraient plus fréquemment immergées dans l'eau, elles offriraient des conditions optimales pour la croissance continue des algues (c'est-à-dire qu'il n'y a pas de séchage périodique de la carapace comme nous l'avons présenté plus haut). Ou bien, il est possible qu'une couverture algale importante, comme illustrée sur la figure 56, affecterait les capacités de recherche de nourriture, induisant un impact négatif de l'épibionte sur l'hôte (voir ci-après § relation tortue-algue). Des études ultérieures devraient utilement tester ces deux hypothèses divergentes, afin d'évaluer une éventuelle influence négative des algues épizoïques sur la mobilité des tortues, pour la recherche de nourriture par exemple (nage).

On constate également une relation négative entre le recouvrement algal et la proportion de femelles gravides. Deux hypothèses peuvent là aussi être envisagées. La première est que les femelles reproductrices passeraient plus de temps en bain de soleil, comme nous l'avons vu précédemment, et limiteraient ainsi la prolifération algale. La seconde met en cause une influence négative directe de l'épibionte sur la reproduction de l'hôte, la proportion de femelles gravides diminuant avec l'augmentation de la couverture algale. Le mécanisme spécifique qui relierait la prolifération algale à une diminution du succès de la reproduction reste difficile à évaluer, mais peut être lié à une mobilité réduite, et donc à une capacité moindre de se nourrir avec succès afin de soutenir la vitellogénèse. Une relation inverse est observée chez les mâles, pour le plastron et non pour la dossière. Les mâles avec des algues sur le plastron ont une masse ajustée supérieure à ceux sans algues, alors que ce n'est pas le cas pour la dossière. Il s'agit vraisemblablement de l'eau contenue dans l'amas d'algues filandreuses du plastron lors de la pesée (du genre *Vaucheria*) car, avant d'être manipulés, les individus sont placés temporairement dans des caisses, avec un fond d'eau, qui maintient le plastron mouillé alors que la dossière se dessèche.

Suite aux observations sur les femelles, de futures études sont nécessaires pour évaluer l'impact de la couverture algale sur les performances locomotrices des cistudes.

5. 4. 4. Phénologie

La phénologie de l'expansion des algues sur la dossière des Cistudes d'Europe se déroule de la même manière que chez *Chrysemys picta* en Amérique du Nord (Gibbons, 1968) ou *Chelodina longicollis* en Australie (Burgin & Renshaw, 2012), à savoir une colonisation depuis l'arrière de la dossière vers l'avant, en suivant d'abord les espaces inter-écailles, sources d'accroche (Ernst & Norris, 1978). La dernière zone indemne forme alors un cercle sur le sommet de la dossière, qui se referme à mesure de l'expansion. Le plastron est quant à lui colonisé depuis les bords du pont osseux par *Vaucheria* sp., ce phénomène donne lieu à un paragraphe spécifique plus loin dans la discussion. L'apogée de ce recouvrement de la dossière semble se produire en juin-juillet (figure 58), avec une stagnation, voire une décroissance, en août. La réduction des surfaces en algues, en lien avec la diminution de la durée du jour (Gibbons, 1968) n'a pas pu être mise en évidence en raison de l'arrêt des campagnes de piégeage en août. Lors de la période hivernale, la couverture algale de la dossière peut être maintenue, voire s'étendre au cours de l'hivernation sous des eaux stagnantes (Ernst & Norris, 1978; Burgin & Renshaw, 2008; Bury *et al.*, 2015), ce que nous avons pu constater lors de suivis télémétriques, avec des recouvrements importants pour certains individus. A l'inverse, le plastron est systématiquement exempt d'algues à la sortie de l'hiver et au début du printemps. Sa colonisation par *Vaucheria* sp. est très rapide puisqu'elle passe de nulle à totale en un mois (figure 63).



Figure 63 : Phénologie de l'expansion algale
 Individu 2663 le 15/06/2017 à gauche et le 19/07/2017 à droite

5. 4. 5. Relation tortue-algue

Les auteurs s'accordent pour dire que la tortue fournit un substrat et un moyen de dispersion pour les algues (Edgren *et al.*, 1953; Ziglar & Anderson, 2005; Garbary *et al.*, 2007; Burgin & Renshaw, 2008; Fayolle *et al.*, 2016). Les avis divergent quant à la relation concernant l'impact ou non des algues sur ces animaux (commensalisme, amensalisme ou mutualisme). Ainsi, un impact négatif des algues sur les tortues a été publié : la mort d'un individu en captivité, en avançant toutefois l'hypothèse que les algues se soient développées sur une zone dermique défaillante (entrée de pathogènes) mais ne soient pas la cause de la mort (Neil & Allen, 1954). Au contraire, la plupart des études indiquent que la couverture algale est avantageuse, essentiellement pour le camouflage (Hulse, 1976; Soylu *et al.*, 2006; Garbary *et al.*, 2007), ou bien sans aucun avantage (Edgren *et al.*, 1953; Ziglar & Anderson, 2005; Burgin & Renshaw, 2008). Ces variations d'appréciation résultent du comportement alimentaire des tortues. En effet, les espèces avec des stratégies de chasse à l'affût trouveraient un avantage au camouflage donné par les algues (Akgul *et al.*, 2014). Ce camouflage est créé, non par la quantité d'algues, mais par leur position sur les bords de la carapace qui casserait la silhouette

de la tortue (Neil & Allen, 1954). Cependant, la cistude est un prédateur opportuniste et charognard, dont le régime carnivore à omnivore varie en fonction de l'habitat (Ottonello *et al.*, 2005; Çiçek & Ayaz, 2011). Les plantes constituent également un aliment important pour les adultes (Ficetola & De Bernardi, 2006). Le camouflage ne semble donc pas être important pour l'alimentation de cette espèce, ni pour la prédation étant donné qu'ici elle n'a aucun prédateur à l'état adulte. De plus, les sites où la couverture algale est la plus prononcée sont, selon nos résultats, situés sur des étangs à forte tendance eutrophique. Cette eutrophisation entraîne une augmentation de la turbidité et le besoin de camouflage semble donc injustifié (Ziglar & Anderson, 2005). Toutefois, les corrélations mises en évidence entre les recouvrements en algues et la condition corporelle, ou encore la gravidité des femelles, nous amènent à nous interroger sur un éventuel impact de ces algues sur la mobilité et donc sur l'accès aux ressources (cf. § Recouvrement en algues, condition corporelle et reproduction). Les études évoquées nous permettraient de confirmer cet éventuel impact. Toutefois, si impact il y a, il semble temporaire, puisqu'au début du printemps, la majorité des dossières est très faiblement recouverte et les plastrons sont dépourvus d'algues. Mais qu'en serait-il si ces épisodes d'épibiose prononcée devaient se répéter ?

L'ensemble des hypothèses émises sur la relation tortue-hôte (mutualisme, commensalisme, amensalisme) reste plausible, mais nécessite des données complémentaires.

5. 4. 6. Une algue spécifique du plastron : *Vaucheria* sp.

Dans certaines circonstances, les cistudes sont totalement recouvertes d'une algue filamenteuse sur le plastron et sur les membres, la queue et la tête, ne laissant apparaître que les yeux et les narines (figure 56). Cette algue a été déterminée comme *Vaucheria* sp. (Fayolle, 2016; Fayolle *et al.*, 2016). Elle fut déjà observée par le passé en Brenne sur la vase humide d'un étang (Wurtz, 1947). Le plastron et les membres sont recouverts par ce seul xanthophyte, alors qu'il n'est que très peu présent sur la dossière (Fayolle *et al.*, 2016). Il a récemment été aussi identifié sur les cistudes de Camargue (Fayolle *et al.*, 2016), mais pas sur les cistudes de Turquie (Akgul *et al.*, 2014; Ersanli & Gonulol, 2015). La présence spécifique d'une algue sur le plastron d'une tortue d'eau douce a été décrite en Amérique du Nord, où *Arnoldiella* sp. (anciennement *Basycladia* sp.) s'observe sur le plastron de *Sternotherus* sp. (Edgren *et al.*, 1953). La localisation sur le plastron, et donc sous la tortue, suggère que ces algues sont

capables de vivre dans des conditions de très faible intensité lumineuse (Edgren *et al.*, 1953). Nos résultats indiquent une relation positive entre la gestion piscicole intensive (nourrissage...) et la présence, ainsi que la prévalence de cette algue sur le plastron. Il est alors tentant de présenter ce taxon comme un bioindicateur de la qualité de l'eau, même si nous devons faire preuve de prudence. En effet, l'identification de ce xanthophyte ne va pas au-delà du genre *Vaucheria* sp. et l'écologie des différentes espèces semble différer au sein de ce genre (Wehr, 2010). Toutefois, au regard de nos résultats, le taxon présent dans la Brenne semble être un bon bioindicateur de l'eutrophisation, avec une réactivité importante comme vu précédemment. Certaines années, ces tortues totalement couvertes sont observées en grand nombre, tandis que l'année suivante, on retrouve les mêmes tortues sans trace de *Vaucheria* sp. (figure 64). Cette disparition pourrait être due au cycle de *Vaucheria* sp. ou bien au processus de mue que nous avons déjà évoqué (cf. § Recouvrement algal et caractéristiques des individus), comme pour les espèces d'Emydidés d'Amérique du Nord (Ewing, 1939; Gibbons, 1968; Belusz & Reed, 1969; Zigliar & Anderson, 2005).



Figure 64 : Individu 720 entre 2016 et 2018, de gauche à droite

5. 5. Conclusion

Plus de 80 % des Cistudes d'Europe échantillonnées en Brenne hébergent des algues sur leur dossière, et dans une moindre mesure sur le plastron (10%). Des différences existent entre mâles et femelles, ainsi qu'entre adultes et juvéniles. Au-delà de ce simple constat, la pisciculture intensive, avec l'emploi d'intrants (nourrissage et azote), apparaît comme le facteur agissant sur la présence et la colonisation des cistudes par les algues, par suite d'une eutrophisation des étangs. Des conditions climatiques particulières (augmentation des températures aquatiques lors d'épisodes de chaleur et de manque d'eau) peuvent amplifier le phénomène.

L'impact de ces recouvrements sur les cistudes reste en suspens, bien que des corrélations aient été mises en évidence entre la couverture algale et la condition corporelle des femelles ou encore leur capacité de reproduction. Des études complémentaires seraient nécessaires. L'existence d'une algue spécifique au plastron dont la présence est fortement liée à la gestion piscicole peut faire de ce taxon *Vaucheria* sp. un bon indicateur de l'eutrophisation des étangs.



Figure 65 : Il s'agit bien d'une cistude et pas une nouvelle apparition sur le Loch Ness
(photo Laura Beau)

6. Conclusion et perspectives de gestion

Nous proposons de présenter cette conclusion selon la même organisation que la conclusion du premier chapitre.

6. 1. Bilan

Les effets de la gestion piscicole sur les populations sont bien connus depuis longtemps. Le principal d'entre eux est la présence même des cistudes sur ces milieux créés par la pisciculture. La dynamique des populations de cistudes de Brenne est très fortement liée à la gestion hydraulique des étangs, surtout par la mise en assec d'entretien de ces derniers qui engendre des déplacements et des risques de mortalité. Toutefois, l'omniprésence des étangs et leur connexion assurent une population stable, voire en croissance (Casajus *et al.*, 2019). Cependant, le constat de faibles taux de juvéniles nous a amené à chercher de nouvelles pistes hors du champ de la dynamique des populations. Nos résultats indiquent un lien entre la gestion piscicole et les indicateurs que nous avons retenus. Tout d'abord, la condition corporelle des femelles est inférieure dans les étangs à production piscicole intensive. De même, nous notons un lien fort entre ce caractère intensif et la prolifération des algues, par l'eutrophisation du milieu. Cette prolifération qui affecte à son tour la condition corporelle des femelles, mais pas celle des mâles. Un lien négatif avec la reproduction est également noté. Les femelles gravides ont moins d'algues, ce qui équivaut à observer que les femelles les plus couvertes montrent les taux de gravidité les plus faibles. Des hypothèses sont envisagées et nécessiteraient d'être approfondies. Enfin, la gestion piscicole influe également sur la présence de mercure, mais de manière moins directe. En effet, le mercure est présent dans les cistudes de Brenne avec des taux équivalents à ceux que l'on retrouve en Camargue (données non publiées). L'histoire de la Brenne semblerait avoir plutôt préservé ses milieux, comparativement à l'embouchure du Rhône. La pisciculture de Brenne n'est pas, dans la limite de nos informations, responsable d'un transfert du mercure marin en lien avec les méthodes de nourrissage des poissons, comme cela peut l'être sur des piscicultures de salmonidés (truites). Nos résultats suggèrent une présence naturelle du mercure qui entre de façon différentielle dans la chaîne alimentaire selon les étangs. Notre hypothèse s'oriente plutôt vers un phénomène d'accroissement de la méthylation du mercure par des bactéries sulfato-réductrices qui sont favorisées par le dynamisme de la végétation

post-asec. De plus, les taux trouvés sont connus pour être des perturbateurs de la reproduction chez certaines espèces. Nous avons constaté une corrélation négative avec la gravidité des femelles lors des deux années consécutives de notre étude. Ces premiers résultats nécessiteraient des approfondissements pour préciser un éventuel impact sur le cycle reproducteur des cistudes.

6. 2. *Gestion*

Les cistudes d'Europe ont su trouver leur place et profiter des milieux créés par l'homme en Brenne depuis le Moyen Age. C'est ainsi que les plus de 4000 points d'eau (bassins, étangs, mares...) sont occupés de quelques individus à quelques centaines. Par conséquent, la gestion traditionnelle de ces étangs favorise l'espèce. Toutefois, à l'image des changements des pratiques agricoles qui affectent la faune et la flore de ces agro(éco)systèmes, la gestion piscicole locale semble prendre un virage productiviste visant à répondre aux obligations sociétales d'un besoin de rendement pour pouvoir perdurer. Certaines d'entre elles pourront affecter à long terme ces organismes pourtant relativement résistants.

La mise en assec prolongé des étangs favorise l'entrée du mercure dans la chaîne alimentaire (methylmercure). Par conséquent, cette information nouvelle doit être prise en compte dans la fréquence des assecs d'étangs. Toutefois, les étangs étaient autrefois beaucoup plus végétalisés (Rallet, 1936) et offraient donc une surface plus importante aux bactéries responsables de cette méthylation. L'autre élément qui favorise cette biodisponibilité est l'âge de l'étang. Par conséquent, les étangs les plus vieux, avec des assecs plus fréquents auront tendance à avoir plus de mercure organique biodisponible que des étangs récents avec des assecs moins fréquents. De plus, les étangs nécessitent cette gestion spécifique pour éviter leur disparition par un envasement naturel. Ces assecs prolongés, à travers le développement d'une végétation importante, permettent en outre à de très nombreuses espèces de l'utiliser comme support de reproduction. Toutefois, cette profusion végétale post-asec serait-elle aussi nécessaire si la végétation permanente des étangs (hydrophytes) était maintenue ?

L'amendement des étangs semble être un nouveau point dont les effets néfastes commencent à se faire sentir. Le nourrissage, la qualité et la quantité de poissons élevés, ou encore l'introduction d'azote, sont autant d'éléments qui impactent la qualité de l'eau

(turbidité). Malheureusement ces effets peuvent être recherchés dans le cadre d'une intensification de la production piscicole. En effet, à court terme, cette eutrophisation peut être vue comme un moyen de lutter contre la végétation par la diminution de la lumière, mais aussi pour lutter contre les « pertes » par les prédateurs piscivores chassant à vue. Toutefois, une telle méthode peut vite arriver à une catastrophe, par la saturation du milieu et un effondrement de celui-ci lors d'épisodes de chaleur et de sécheresse, car ces deux variables ne sont pas maîtrisées par les gestionnaires. De plus, les effets de cette eutrophisation sont connus, bien qu'ils ne soient, pour le moment, pas alarmants au regard de nos courts suivis sur la Cistude d'Europe. Il convient pourtant de revoir ces pratiques pour l'ensemble de la faune et de la flore des étangs. Nous observons déjà quelques effets sur la cistude, mais cette dernière étant en bout de chaîne alimentaire et très longévive, les effets sur cette espèce pourront être plus importants à moyens termes.

Au regard de ces éléments, il convient donc :

- de garder en mémoire l'impact d'une mise en assec prolongé sur la biodisponibilité de mercure organique lors des prises de décision de la gestion de ces assecs ;
- de bannir la dystrophisation des étangs en évitant des ajustements artificiels et drastiques (amendements).

Il s'agit là de premières pistes liées à des résultats récents. Il serait intéressant et nécessaire de poursuivre certaines études pour affiner nos hypothèses et conclusions.

6. 3. Perspectives de recherche

Les analyses sur le mercure, simples et non invasives telles que nous les avons menées, pourraient être poursuivies parallèlement aux CMR sur le long terme et permettraient d'apporter des réponses à des interrogations nées de cette première analyse.

Ainsi, un échantillonnage sur des étangs avec de fortes densités d'hydrophytes serait intéressant pour comparer les quantités de mercure à nos observations sur des étangs avec des assecs récents. Dans cette hypothèse, les cistudes du début du XX^{ème} siècle devraient être plus « chargées » en mercure que les cistudes actuelles compte tenu de la végétation omniprésente (Rallet, 1936). Il serait intéressant de poursuivre la réflexion sur les possibilités d'analyser le mercure des spécimens conservés, une piste dont le premier examen n'a pas été fructueux. De même, bien que nous n'ayons pas mis en évidence de différence entre mâles et femelles, il serait intéressant d'analyser le mercure chez les émergents (cadavres) et/ou les

coquilles afin de noter si un phénomène de transfert de mercure par les femelles lors de la vitellogénèse a lieu. A ce sujet, des analyses sur les mêmes individus nous permettraient de noter l'évolution des concentrations de mercure et d'explorer d'éventuelles pistes de détoxification de ce mercure par les organismes. Enfin, des indicateurs de reproduction plus précis (physiologiques par exemple) seraient nécessaires pour affiner les recherches de l'impact du mercure sur les capacités de reproduction des cistudes.

Concernant les algues, les poursuites seraient nécessaires, non pas pour rechercher les causes, mais pour juger des effets sur les organismes et les populations. En plus de la condition corporelle, des protocoles simples d'estimation de la vitalité des individus comme des tests de retournement ou des capacités de nage pourraient être envisagés.

Sur le plus long terme, la poursuite des CMR permettra de noter l'évolution des indicateurs de dynamique de population (survie...) en fonction de ce qui apparaît aujourd'hui comme une volonté d'intensifier la production piscicole sur certains étangs.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ce travail aura permis de lever en partie le voile sur certains aspects de la biologie de la Cistude d'Europe et d'ouvrir des pistes de réflexion pour d'autres.

Notre attachement à proposer et évaluer des actions concrètes de gestion nous a amené à réaliser des protocoles simples, voire simplistes, qui ont pourtant leur importance dans la biologie de la conservation. C'est ainsi que la réouverture des milieux est préconisée par les gestionnaires d'espaces naturels pour enrayer la disparition de sites de ponte. Ceci en raison notamment de la déprise agricole et des modifications des pratiques agricoles qu'elle induit, ou par suite du développement des friches à des fins de loisirs cynégétiques. Cependant, nous n'avons pas, à notre connaissance, d'évaluation quantitative de telles actions, nous nous en tenions à l'intérêt présumé. Il apparaît aujourd'hui que certains modes de réouverture favorisent à très court terme la ponte des femelles. En revanche, il ne nous a pas été possible de quantifier l'impact de ces interventions sur les taux de prédation, ou de production de nouveau-nés, grâce à la dispersion des nids dans la matrice paysagère. Avec cette même volonté d'agir simplement et efficacement, l'expérimentation de la protection d'un site de ponte contre certains prédateurs a été testée et a fait ses preuves. Nous avons là deux outils susceptibles d'aider les gestionnaires pour agir sur les sites de ponte.

Nos analyses sur la composition des nids nous indiquent de larges fluctuations dans la production de nouveau-nés. Des étés pluvieux, durant la phase d'incubation, peuvent aboutir à une large mortalité des embryons par la saturation du sol en eau, ce qui causerait la fêlure des oeufs et la mort des embryons par un trop grande absorption d'eau dans l'œuf (Pieau, 1974). L'analyse comparative de nos données avec celles provenant d'autres sites en Europe nous indique qu'en Brenne la production de jeune par nid semble plus faible, tant pour les taux d'émergence que pour le nombre d'émergents produits. Ces constats, couplés à des taux de prédation importants, tendent à expliquer en partie pourquoi nous avons le plus faible taux connu de juvéniles en Europe.

Toujours en vue d'une implication dans la gestion, nous avons donné une place importante à la phénologie des émergences. Au-delà du constat de changement dans le cycle saisonnier des émergences (les émergences automnales sont plus fréquentes ces dernières années), nous notons également un étalement important de l'activité de sortie des nids à partir de la fin de l'hiver et jusqu'au milieu du printemps (de fin février à début mai), y compris

au sein d'un même nid. Une fois sortis du nid, les émergents adoptent un comportement qui est loin de l'idée que nous nous en faisons : une « ruée vers l'eau ». En effet, après une large phase de sédentarité plus ou moins longue en fonction des conditions météorologiques, les émergents se déplacent en « sauts de puce » avec comme, contrainte majeure, d'éviter la prédation et la dessiccation. Ainsi, leur comportement est le résultat d'un compromis entre les deux, puisque lorsqu'ils manquent d'eau ou d'humidité dans le microenvironnement où ils sont cachés, ils sont amenés à se déplacer et s'exposent alors à la prédation. Nos résultats nous indiquent une faible mobilité de la majorité des émergents, ce qui peut considérablement modifier notre perception de la gestion des sites de ponte. En effet, la gestion de ces sites est jusqu'à présent basée sur leur seule utilisation pour la ponte des femelles. Il apparaît désormais qu'il s'agit aussi d'un habitat pour les premiers moments de vie des cistudes. De plus, ces émergents utilisent diverses strates de la végétation pour se protéger de la prédation et de la dessiccation. Par conséquent, cet aspect est à prendre en compte pour favoriser la survie des cistudes durant les premières phases de leur vie. Un milieu optimal pour la ponte, tel qu'une végétation rase de pelouse, ne semble pas approprié pour les émergents, en raison de l'absence de zones refuges. Enfin, d'un point de vue calendaire, les émergences tardives et la faible mobilité des émergents peuvent engendrer la présence de jeunes tortues sur le site de ponte jusqu'en juin.

Compte tenu de tous ces éléments, les finalités et les modes d'intervention mis en oeuvre sur les sites de ponte sont donc à revoir, pour ne plus seulement considérer et favoriser la ponte, mais également voir désormais leur utilisation par les jeunes cistudes. Toutefois, comme nous l'avons régulièrement rappelé, il convient de considérer ces résultats dans le contexte des sites de ponte de la Brenne. En effet, la nature argilo-sableuse et plane de nos sites de ponte favorise la présence de micro-milieus aquatiques temporaires, qui servent alors de sites intermédiaires dans les déplacements des émergents. Au-delà de ces considérations de gestion, une exploitation des données reste à réaliser, notamment en termes de survie des premiers moments du cycle de vie de la cistude, car très peu de données existent pour cette espèce. Ces résultats sur l'utilisation des habitats lors des premiers moments de vie confortent l'hypothèse selon laquelle le faible taux de juvéniles en Brenne ne serait pas nécessairement alarmant, mais résulterait d'un biais de piégeage par la ségrégation spatiale des jeunes individus (< 2 ou 3 ans). Les connaissances acquises restent toutefois parcellaires et basées sur des suivis relativement courts, même si un individu, suivi lors de sa première et de sa

deuxième année, montre des patterns de comportement et d'utilisation de l'espace similaires entre les deux années.

Les cistudes, une fois l'âge adulte atteint, ont des taux de survie importants. Le lien entre la dynamique des populations et le contexte local des étangs piscicoles a été étudié par le passé ; c'est pourquoi nous nous sommes attardés sur des aspects nouveaux. Des analyses sur les taux de mercure présents dans les griffes nous indiquent des concentrations non négligeables, atteignant des valeurs connues pour causer des dysfonctionnements de la reproduction chez d'autres groupes. La Brenne semble exempte de transferts de mercure liés aux activités agricoles ou piscicoles, comme ce peut être le cas sur d'autres territoires. En revanche, nos résultats suggèrent un lien avec le cycle global du mercure et une entrée dans la chaîne alimentaire causée par les assecs réguliers et le développement de végétation qui s'ensuit. Sans avoir démontré un impact sur la reproduction des cistudes, nous avons néanmoins mis en évidence une corrélation qui incite à porter attention à cette présence de mercure dans les organismes vivants des étangs de la Brenne.

D'autres investigations seraient nécessaires avant de tirer des conclusions de gestion. En effet, la végétation qui succède à l'assec est par ailleurs essentielle à de nombreux autres groupes pour leur reproduction, dans le contexte actuel de disparition des massifs de végétation aquatique. L'intensification des pratiques piscicoles à laquelle on assiste aujourd'hui n'est pas sans conséquences sur les habitats des cistudes adultes. Un des effets rapidement observable est l'eutrophisation des milieux, qui engendre une prolifération algale importante. Les cistudes s'en trouvent alors rapidement recouvertes. Comme pour le mercure, nous avons mis en évidence un lien entre ce recouvrement par les algues et la condition corporelle ou encore l'état reproductif des femelles. Ces observations seraient à compléter. Toutefois, ce phénomène semble un indicateur pertinent de dysfonctionnements eutrophiques liés aux amendements dus à la gestion piscicole intensive. Ainsi, les premiers éléments établissant des liens entre les cistudes et la qualité des eaux (écotoxicologie et eutrophisation), nous amènent à alerter sur les risques d'une dérive productiviste d'une filière qui a jusqu'ici permis et favorisé la présence d'une des plus importantes populations de Cistude d'Europe *Emys orbicularis* française.

Les enseignements acquis grâce à ce doctorat nous semblent essentiels par leurs nouveautés et les applications concrètes de gestion qui en résultent. Toutefois, il n'est pour nous que le début d'un important travail à poursuivre, tant sur l'exploitation des données déjà

acquises que sur les pistes désormais ouvertes. Comment se comportent les émergents de populations plus méditerranéennes ? Quel est le devenir des émergents au-delà de 3 mois ? Quelle sera l'évolution des émergences pour notre population dans le cadre du réchauffement climatique ? La technologie et les modélisations vont-elles nous permettre de pouvoir sexer les nouveau-nés dès l'émergence, avec tous les enseignements que cela apportera ? Le mercure observé a-t-il un impact réel et direct sur les capacités de reproduction des cistudes ? La prolifération algale peut-elle porter préjudice sur le long terme aux populations de cistude ? Quel sera alors l'avenir des populations de Brenne dans un contexte de dégradation biologique de leurs milieux de vie ?

BIBLIOGRAPHIE GÉNÉRALE

La bibliographie du manuscrit a été gérée à l'aide du logiciel Zotero

- Abellard, C. (2002). Conservation de la Cistude d'Europe (*Emys orbicularis* ; Linné, 1758) (Reptilia : Testudines : Emydidae) en Isère : Etude du comportement de ponte, caractérisation des sites de ponte et propositions de gestion. ENSA FRenne.
- Adel, M., Saravi, H.N., Dadar, M., Niyazi, L. & Ley-Quinonez, C.P. (2017). Mercury, lead, and cadmium in tissues of the Caspian Pond Turtle (*Mauremys caspica*) from the southern basin of Caspian Sea. *Environmental Science and Pollution Research* **24**, 3244–3250.
- Åkerblom, S., Bignert, A., Meili, M., Sonesten, L. & Sundbom, M. (2014). Half a century of changing mercury levels in Swedish freshwater fish. *AMBIO* **43**, 91–103.
- Akgul, R., Caprazli, T., Turker, N., Erdugan, H. & Tosunoglu, M. (2014). Epizoic algae on *Emys orbicularis* (LINNAEUS, 1758), and *Mauremys rivulata* (VALENCIENNES, 1833), in the Kayak River Delta (Saros Bay, Turkey)(Testudines: Emydidae, Geoemydidae). *Herpetozoa* **27**, 21–28.
- Allen, Y.C., De Stasio, B.T. & Ramcharan, C.W. (1993). Individual and population level consequences of an algal epibiont on *Daphnia*. *Limnology and Oceanography* **38**, 592–601.
- Allender, M.C., Dreslik, M.J., Patel, B., Luber, E.L., Byrd, J., Phillips, C.A. & Scott, J.W. (2015). Select metal and metalloid surveillance of free-ranging Eastern box turtles from Illinois and Tennessee (*Terrapene carolina carolina*). *Ecotoxicology* **24**, 1269–1278.
- Arsovski, D., Olivier, A., Bonnet, X., Drilhollé, S., Tomović, L., Béchet, A., Golubović, A. & Besnard, A. (2018). Covariates streamline age-specific early life survival estimates of two chelonian species. *Journal of Zoology* **306**, 223–234.
- Aubin, J., Papatryphon, E., van der Werf, H.M.G. & Chatzifotis, S. (2009). Assessment of the environmental impact of carnivorous finfish production systems using life cycle assessment. *Journal of Cleaner Production* **17**, 354–361.
- Ayaz, D. & Çiçek, K. (2011). Overwintered Hatchlings of *Emys orbicularis* from Lake Sülüklü (Western Anatolia, Turkey) 5.
- Ayres, C., Calviño-Cancela, M. & Cordero-Rivera, A. (2010). Water Lilies, *Nymphaea alba*, in the Summer Diet of *Emys orbicularis* in Northwestern Spain: Use of Emergent Resources. *Chelonian Conservation and Biology* **9**, 128–131.
- Barea-Arco, J., Pérez-Martínez, C. & Morales-Baquero, R. (2001). Evidence of a mutualistic relationship between an algal epibiont and its host, *Daphnia pulex*. *Limnology and Oceanography* **46**, 871–881.

- Baron, G., Rosoux, R. & Duguy, R. (2001). Approche expérimentale de la prédation des pontes de cistudes d'Europe dans le Marais de Saint Sornin. In Annales de la Société des sciences naturelles de la Charente-Maritime: 103–105. Société des sciences naturelles de la Charente-Maritime.
- Barthe, L. (2012). Guide technique pour la conservation de la Cistude d'Europe en Midi-Pyrénées. CPIE Pays Gersois.
- Bayrakçı, Y., Ayaz, D., Çiçek, K. & İlhan, S. (2017). Population Dynamics of the European Pond Turtle, *Emys orbicularis* (L., 1758) (Testudinata: Emydidae). *Acta Zoologica Bulgarica* **10**, 31–35.
- Beau, F. (2015). Tendances démographiques, fécondité et état sanitaire des populations de Cistudes de la Réserve Naturelle Nationale de Chérine et des propriétés conventionnées. Bilan 2015. Chérine, Saint-Michel-en-Brenne.
- Beau, F. (2016). Suivi des populations de Cistude d'Europe de la Réserve Naturelle Nationale de Chérine et des propriétés conventionnées. Bilan 2016. Chérine, Saint-Michel-en-Brenne.
- Beau, F. (2017). Suivi des populations de Cistude d'Europe de la Réserve Naturelle Nationale de Chérine, des propriétés conventionnées et autres étangs. Bilan 2017. RNN Chérine.
- Beau, F. (2019). Mise en défens d'un site de ponte de Cistude d'Europe *Emys orbicularis*.
- Beau, F. & Brischoux, F. (2017). *EMYS ORBICULARIS* (European Pond Turtle). NEONATE DIET. *Herpetological Review*. Natural history note **48**, 621–622.
- Beau, F. & Morgnieux, J. (2018). Suivi des populations de Cistude d'Europe de la Réserve Naturelle Nationale de Chérine, des propriétés conventionnées et autres étangs. Bilan 2018. RNN Chérine, Saint-Michel-en-Brenne.
- Bédoucha, G. (2011). Les liens de l'eau: en Brenne, une société autour de ses étangs. Quae.
- Behler, J.L. (2018). Turtles in Trouble: The World's 25+ Most Endangered Tortoises and Freshwater Turtles 84.
- Belusz, L.C. & Reed, R.J. (1969). Some Epizooty on Six Turtle Species Collected in Massachusetts and Michigan. *American Midland Naturalist* **81**, 598.
- Benarrou, R. (2009). La Grande Brenne aux périodes préindustrielles (Indre). Contribution à l'histoire des paysages, des étangs et des relations sociétés/milieus dans une zone humide continentale. Approches historique, archéologique et paléo-environnementale. PhD Thesis, Université Panthéon-Sorbonne-Paris I.
- Benarrou, R. (2017). La Grande Brenne. Histoire d'une zone humide continentale et de ses étangs. RACF/PNR de la Brenne.

- Bergeron, C.M., Husak, J.F., Unrine, J.M., Romanek, C.S. & Hopkins, W.A. (2007). Influence of feeding ecology on blood mercury concentrations in four species of turtles. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* **26**, 1733–1741.
- Bertrand, J. (2018). Etude préliminaire des diatomées des Cistudes d'Europe (*Emys orbicularis*) des Etangs de La Brenne, France. Saint-Jean-de-Braye.
- Bezerra, M.F., Lacerda, L.D., Lima, E.H.S.M. & Melo, M.T.D. (2013). Monitoring mercury in green sea turtles using keratinized carapace fragments (scutes). *Marine Pollution Bulletin* **77**, 424–427.
- Biot, L. (2017). Synthèse des connaissances actuelles sur la cistude d'Europe (*Emys orbicularis*) et étude d'une pathologie de sa carapace. PhD Thesis.
- Blondel, J. (1995). Du théorique au concret : la biologie de la conservation. *Nat. Sci. Soc.* **3**, s10–s18.
- Bona, M., Danko, S., Búrešová, A., Novotný, M. & Havaš, P. (2017). Thermal Conditions in Nest Chambers of the European Pond Turtle, *Emys orbicularis* (L., 1758), in Tajba National Nature Reserve, Slovakia. *Acta Zoologica Bulgarica* 43–47.
- Bona, M., Novotný, M., Danko, S. & Burešová, A. (2012). Nest site fidelity in the Slovakian population of the European pond turtle *Emys orbicularis*. *Amphibia-Reptilia* **33**, 207–213.
- Bonnet, X., Naulleau, G., Shine, R. & Lourdais, O. (2001). Short-term versus long-term effects of food intake on reproductive output in a viviparous snake, *Vipera aspis*. *Oikos* **92**, 297–308.
- Bradshaw, C.J.A. & McMahon, C.R. (2008). Fecundity. In *Encyclopedia of Ecology*: 1535–1543. Elsevier.
- Brischoux, F., Dupoué, A., Lourdais, O. & Angelier, F. (2016). Effects of mild wintering conditions on body mass and corticosterone levels in a temperate reptile, the aspic viper (*Vipera aspis*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* **192**, 52–56.
- Buhlmann, K.A., Akre, T.S.B., Iverson, J.B., Karapatakis, D., Mittermeier, R.A., Georges, A., Rhodin, A.G.J., van Dijk, P.P. & Gibbons, J.W. (2009). A Global Analysis of Tortoise and Freshwater Turtle Distributions with Identification of Priority Conservation Areas. *Chelonian Conservation and Biology* **8**, 116–149.
- Burger, J. & Gibbons, J.W. (1998). Trace Elements in Egg Contents and Egg Shells of Slider Turtles (*Trachemys scripta*) from the Savannah River Site. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **34**, 382–386.
- Burger, J. & Gochfeld, M. (1997). Risk, mercury levels, and birds: relating adverse laboratory effects to field biomonitoring. *Environmental Research* **75**, 160–172.

- Burger, J., Jeitner, C., Schneider, L., Vogt, R. & Gochfeld, M. (2009). Arsenic, Cadmium, Chromium, Lead, Mercury, and Selenium Levels in Blood of Four Species of Turtles from the Amazon in Brazil. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* **73**, 33–40.
- Burgin, S. & Renshaw, A. (2008). Epizoochory, Algae and the Australian Eastern Long-Necked Turtle *Chelodina Longicollis* (Shaw). *The American Midland Naturalist* **160**, 61–68.
- Burgin, S. & Renshaw, A. (2012). Epibionts of the Australian Eastern Longnecked Turtle (*Chelodina longicollis* Shaw) from farm dams. *Australian zoologist* **36**.
- Burris, Z.P. & Dam, H.G. (2014). Deleterious effects of the ciliate epibiont *Zoothamnium* sp. on fitness of the copepod *Acartia tonsa*. *Journal of Plankton Research* **36**, 788–799.
- Bury, R.B., Wehr, J.D., Bury, G.W., Baggett, C.L. & Doten, K. (2015). High Incidence of Filamentous Algae on Western Pond Turtles, *Actinemys marmorata*, in the Willamette Valley, Oregon. *Northwestern Naturalist* **96**, 150–153.
- Butler, B.O. & Graham, T.E. (1993). Tracking hatchling Blanding's turtles with fluorescent pigments. *Herpetological Review* **24**, 21–22.
- Butler, B.O. & Graham, T.E. (1995). Early post-emergent behavior and habitat selection in hatchling Blanding's turtles, *Emydoidea blandingii*. Massachusetts. *Chelonian Conserv. Biol* **1**, 187–196.
- Cadi, A. (2003). *Ecologie de la Cistude d'Europe (Emys orbicularis) : Aspects spatiaux et démographiques, application à la conservation.*
- Cadi, A. & Faverot, P. (2004). *La Cistude d'Europe, gestion et restauration des populations et de leur habitat. Guide technique. Conservatoire Rhône-Alpes des espaces naturels.*
- Cadi, A. & Joly, P. (2004). Impact of the introduction of the red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*) on survival rates of the European pond turtle (*Emys orbicularis*). *Biodiversity & Conservation* **13**, 2511–2518.
- Candolin, U., Engström-Öst, J. & Salesto, T. (2008). Human-induced eutrophication enhances reproductive success through effects on parenting ability in sticklebacks. *Oikos* **117**, 459–465.
- Carrière, M.-A., Rollinson, N., Suley, A.N. & Brooks, R.J. (2008). Thermoregulation When The Growing Season Is Short: Sex-Biased Basking Patterns in a Northern Population of Painted Turtles (*Chrysemys Picta*). *hpet* **42**, 206–209.
- Casajus, N., Beau, F., Barbraud, C. & Brischoux, F. (2019). Etude de la démographie et de la dynamique de population de la cistude d'Europe (*Emys orbicularis*) de la réserve naturelle nationale de Chérine.
- Castanet, J. (1988). Les méthodes d'estimation de l'âge chez les chéloniens. *Mésogée* **48**, 21–28.

- Castellano, C.M., Behler, J.L. & Ultsch, G.R. (2008). Terrestrial movements of hatchling Wood Turtles (*Glyptemys insculpta*) in agricultural fields in New Jersey. *Chelonian Conservation and Biology* **7**, 113–118.
- Charnier, M. (1966). Action de la temperature sur la sex-ratio chez l'embryon d'Agama agama (Agamirke, Lacertiliid). *CR. Sot. Biol. Paris* **160**, 620–622.
- Chastel, O., Weimerskirch, H. & Jouventin, P. (1995). Influence of body condition on reproductive decision and reproductive success in the blue petrel. *The Auk* **112**, 964–972.
- Chislock, M.F. (2013). Eutrophication: Causes, Consequences, and Controls in Aquatic Ecosystems. *Nature Education Knowledge* **4**, 8.
- Çiçek, K. & Ayaz, D. (2011). Food composition of the European pond turtle (*Emys orbicularis*) in Lake Sülüklü (Western Anatolia, Turkey). *Journal of Freshwater Ecology* 1–8.
- Collet, L. (2003). Distribution des pontes de Cistude d'Europe (*Emys orbicularis*) au Vigueirat. Rouen.
- Congdon, J.D., Nagle, R.D., Dunham, A.E., Beck, C.W., Kinney, O.M. & Yeomans, S.R. (1999). The relationship of body size to survivorship of hatchling snapping turtles (*Chelydra serpentina*): an evaluation of the “bigger is better” hypothesis. *Oecologia* **121**, 224–235.
- Congdon, J.D., Pappas, M., Brecke, B. & Capps, J. (2011). Conservation implications of initial orientation of naïve hatchling snapping turtles (*Chelydra serpentina*) and painted turtles (*Chrysemys picta bellii*) dispersing from experimental nests. *Chelonian Conservation and Biology* **10**, 42–53.
- Crump, K.L. & Trudeau, V.L. (2009). MERCURY-INDUCED REPRODUCTIVE IMPAIRMENT IN FISH. *Environmental Toxicology and Chemistry* **28**, 895.
- Daniel, T.C., Sharpley, A.N. & Lemunyon, J.L. (1998). Agricultural Phosphorus and Eutrophication: A Symposium Overview. *Journal of Environment Quality* **27**, 251.
- Delmas, V., Prevot-Julliard, A.-C., Pieau, C. & Girondot, M. (2007). A mechanistic model of temperature-dependent sex determination in a chelonian: the European pond turtle. *Functional Ecology* **0**, 071027215958001-???
- Depew, D.C., Basu, N., Burgess, N.M., Campbell, L.M., Devlin, E.W., Drevnick, P.E., Hammerschmidt, C.R., Murphy, C.A., Sandheinrich, M.B. & Wiener, J.G. (2012). Toxicity of dietary methylmercury to fish: Derivation of ecologically meaningful threshold concentrations. *Environmental Toxicology and Chemistry* **31**, 1536–1547.
- Díaz-Paniagua, C., Andreu, A.C., Marco, A., Nuez, M., Hidalgo-Vila, J. & Pérez-Santigosa, N. (2014). Data on nesting, incubation, and hatchling emergence in the two native aquatic turtle species (*Emys orbicularis* and *Mauremys leprosa*) from Doñana National Park. *Basic and Applied Herpetology*.

- Dolbeth, M., Cardoso, P. & Pardal, M.Â. (2010). Impact of Eutrophication on the Seagrass Assemblages of the Mondego Estuary (Portugal). In *Eutrophication: causes, consequences and control*: 225–246. Ansari, A.A., Singh Gill, S., Lanza, G.R. & Rast, W. (Eds.). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Dong, Z., Jim, R.C., Hatley, E.L., Backus, A.S.N., Shine, J.P., Spengler, J.D. & Schaidler, L.A. (2015). A longitudinal study of mercury exposure associated with consumption of freshwater fish from a reservoir in rural south central USA. *Environmental Research* **136**, 155–162.
- Driscoll, C.T., Mason, R.P., Chan, H.M., Jacob, D.J. & Pirrone, N. (2013). Mercury as a Global Pollutant: Sources, Pathways, and Effects. *Environmental Science & Technology* **47**, 4967–4983.
- Duguy, R. & Baron, T.-P. (1998). La Cistude d'Europe, *Emys orbicularis* dans le marais de Brouage (Char.-Mar.): Cycle d'activité, thermorégulation, déplacements, reproduction et croissance. In *Annales de la Société des sciences naturelles de la Charente-Maritime*: 781–803. Société des sciences naturelles de la Charente-Maritime.
- Eagles-Smith, C.A., Ackerman, J.T., Willacker, J.J., Tate, M.T., Lutz, M.A., Fleck, J.A., Stewart, A.R., Wiener, J.G., Evers, D.C., Lepak, J.M., Davis, J.A. & Pritz, C.F. (2016). Spatial and temporal patterns of mercury concentrations in freshwater fish across the Western United States and Canada. *Science of The Total Environment* **568**, 1171–1184.
- Eagles-Smith, C.A., Silbergeld, E.K., Basu, N., Bustamante, P., Diaz-Barriga, F., Hopkins, W.A., Kidd, K.A. & Nyland, J.F. (2018). Modulators of mercury risk to wildlife and humans in the context of rapid global change. *Ambio* **47**, 170–197.
- Edgren, R.A., Edgren, M.K. & Tiffany, L.H. (1953). Some North American Turtles and Their Epizoophytic Algae. *Ecology* **34**, 733–740.
- Eggs, S., Schneider, L., Krikowa, F., Vogt, R.C., Silveira, R.D. & Maher, W. (2015). Mercury concentrations in different tissues of turtle and caiman species from the Rio Purus, Amazonas, Brazil: Mercury concentrations in reptiles from the Rio Purus. *Environmental Toxicology and Chemistry* **34**, 2771–2781.
- Ernst, C.H. & Norris, J.N. (1978). Observations on the Algal Genus *Basycladia* and the Red-Bellied Turtle, *Chrysemys rubriventris*. *Estuaries* **1**, 54.
- Ersanli, E.T. & Gonulol, A. (2015). Epizoophyte composition on spotted turtle *Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758) in Turkey. *Bangladesh Journal of Botany* **43**, 157–161.
- Evers, D.C., Savoy, L.J., DeSorbo, C.R., Yates, D.E., Hanson, W., Taylor, K.M., Siegel, L.S., Cooley, J.H., Bank, M.S. & Major, A. (2008). Adverse effects from environmental mercury loads on breeding common loons. *Ecotoxicology* **17**, 69–81.
- Ewing, H.E. (1939). Growth in the Eastern Box-Turtle, with Special Reference to the Dermal Shields of the Carapace. *Copeia* **1939**, 87.

- Fayolle, S. (2016). Distribution des algues épizoïques sur la carapace de la Cistude d'Europe (*Emys orbicularis*). Brenne.
- Fayolle, S., Moriconi, C., Oursel, B., Koenig, C., Suet, M., Ficheux, S., Logez, M. & Olivier, A. (2016). Epizoic Algae Distribution on the Carapace and Plastron of the European Pond Turtle (*Emys orbicularis*, Linnaeus, 1758): A Study from the Camargue, France. *Cryptogamie, Algologie* **37**, 221–232.
- Ficetola, G.F. & De Bernardi, F. (2006). Is the European “pond” turtle *Emys orbicularis* strictly aquatic and carnivorous? *Amphibia-Reptilia* **27**, 445–447.
- Finkler, M.S. (1999). Influence of water availability during incubation on hatchling size, body composition, desiccation tolerance, and terrestrial locomotor performance in the snapping turtle *Chelydra serpentina*. *Physiological and Biochemical Zoology* **72**, 714–722.
- Finkler, M.S. (2001). Rates of Water Loss and Estimates of Survival Time under Varying Humidity in Juvenile Snapping Turtles (*Chelydra serpentina*). *Copeia* **2001**, 521–525.
- Fitridge, I., Dempster, T., Guenther, J. & de Nys, R. (2012). The impact and control of biofouling in marine aquaculture: a review. *Biofouling* **28**, 649–669.
- Fliedner, A., Lohmann, N., Rüdell, H., Teubner, D., Wellnitz, J. & Koschorreck, J. (2016). Current levels and trends of selected EU Water Framework Directive priority substances in freshwater fish from the German environmental specimen bank. *Environmental Pollution* **216**, 866–876.
- Förstner, U. & Wittmann, G.T. (1983). Metal pollution in the aquatic environment. Second Revised Edition. Springer Science & Business Media.
- Frederick, P. & Jayasena, N. (2011). Altered pairing behaviour and reproductive success in white ibises exposed to environmentally relevant concentrations of methylmercury. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **278**, 1851–1857.
- Fritz, U., Cadi, A., Cheylan, M., Coïc, C., Détaint, M., Olivier, A., Guicking, D., Lenk, P., Joger, U., Wink, M. & Rosecchi, E. (2005). Distribution of mtDNA haplotypes (cyt b) of *Emys orbicularis* in France and implications for postglacial recolonization. *Amphibia-Reptilia* **26**, 231–238.
- Futsaeter, G. & Wilson, S. (2013). The UNEP Global Mercury Assessment: Sources, Emissions and Transport. *E3S Web of Conferences* **1**, 36001.
- Garbary, D.J., Bourque, G., Herman, T.B. & McNeil, J.A. (2007). Epizoic Algae from Freshwater Turtles in Nova Scotia. *Journal of Freshwater Ecology* **22**, 677–685.
- Gentès, S., Monperrus, M., Legeay, A., Maury-Brachet, R., Davail, S., André, J.-M. & Guyoneaud, R. (2013). Incidence of invasive macrophytes on methylmercury budget in temperate lakes: Central role of bacterial periphytic communities. *Environmental Pollution* **172**, 116–123.

- Gentès, S., Taupiac, J., Colin, Y., André, J.-M. & Guyoneaud, R. (2017). Bacterial periphytic communities related to mercury methylation within aquatic plant roots from a temperate freshwater lake (South-Western France). *Environmental Science and Pollution Research* **24**, 19223–19233.
- Gibbons, J.W. (1968). Carapacial Algae in a Population of the Painted Turtle, *Chrysemys picta*. *American Midland Naturalist* **79**, 517.
- Girondot, M. (1999). Statistical description of temperature-dependent sex determination using maximum likelihood. *Evolutionary Ecology Research* **1**, 479–486.
- Girondot, M., Monsinjon, J. & Guillon, J.-M. (2018). Delimitation of the embryonic thermosensitive period for sex determination using an embryo growth model reveals a potential bias for sex ratio prediction in turtles. *Journal of Thermal Biology* **73**, 32–40.
- Girondot, M. & Pieau, C. (1993). Effects of sexual differences of age at maturity and survival on population sex ratio. *Evolutionary Ecology* **7**, 645–650.
- Girondot, M., Servan, J. & Pieau, C. (1994). Détermination du sexe sensible à la température chez une tortue (*Emys orbicularis*): importance du composant génétique. *Bull Soc Ecophysiol* **19**, 5–17.
- Gochfeld, M. (2003). Cases of mercury exposure, bioavailability, and absorption. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **56**, 174–179.
- Goldman, J.C., Porcella, D.B., Joe Middlebrooks, E. & Toerien, D.F. (1972). The effect of carbon on algal growth—Its relationship to eutrophication. *Water Research* **6**, 637–679.
- Goutte, A., Bustamante, P., Barbraud, C., Delord, K., Weimerskirch, H. & Chastel, O. (2014). Demographic responses to mercury exposure in two closely related Antarctic top predators. *Ecology* **95**, 1075–1086.
- Green, A.D., Buhlmann, K.A., Hagen, C., Romanek, C. & Gibbons, J.W. (2010). Mercury Contamination in Turtles and Implications for Human Health **72**, 14–23.
- Guillot, H. (2017). L'herpetofaune, sentinelle de l'accumulation et des effets des contaminants environnementaux? PhD Thesis, Université de La Rochelle.
- Guillot, H., Bonnet, X., Bustamante, P., Churlaud, C., Trotignon, J. & Brischoux, F. (2018). Trace Element Concentrations in European Pond Turtles (*Emys orbicularis*) from Brenne Natural Park, France. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **101**, 300–304.
- Guirlet, E., Das, K. & Girondot, M. (2008). Maternal transfer of trace elements in leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) of French Guiana. *Aquatic Toxicology* **88**, 267–276.
- Haila, Y. & Kouki, J. (1994). The phenomenon of biodiversity in conservation biology. *Annales Zoologici Fennici* 5–18.

- Hallard, V., Cherblanc, M. & Saillard, E. (2017). Projet Tuteuré étangs de la Brenne. PNR Brenne et Université d'Orléans.
- Hansson, S.V., Sonke, J., Galop, D., Bareille, G., Jean, S. & Le Roux, G. (2017). Transfer of marine mercury to mountain lakes. *Scientific Reports* **7**.
- Harper, R.M. (1950). Algae on Animals: A Bibliographical Note. *Ecology* **31**, 303–304.
- Hecky, R.E. & Kilham, P. (1988). Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: a review of recent evidence on the effects of enrichment 1. *Limnology and Oceanography* **33**, 796–822.
- Heppell, S.S. (1998). Application of Life-History Theory and Population Model Analysis to Turtle Conservation. *Copeia* **1998**, 367.
- Hopkins, B.C., Hepner, M.J. & Hopkins, W.A. (2013a). Non-destructive techniques for biomonitoring of spatial, temporal, and demographic patterns of mercury bioaccumulation and maternal transfer in turtles. *Environmental Pollution* **177**, 164–170.
- Hopkins, B.C., Willson, J.D. & Hopkins, W.A. (2013b). Mercury Exposure is Associated with Negative Effects on Turtle Reproduction. *Environmental Science & Technology* **47**, 2416–2422.
- Hsu-Kim, H., Eckley, C.S., Achá, D., Feng, X., Gilmour, C.C., Jonsson, S. & Mitchell, C.P.J. (2018). Challenges and opportunities for managing aquatic mercury pollution in altered landscapes. *Ambio* **47**, 141–169.
- Hulse, A.C. (1976). Carapacial and Plastral Flora and Fauna of the Sonora Mud Turtle, *Kinosternon sonoriense* Le Conte (Reptilia, Testudines, Kinosternidae). *Journal of Herpetology* **10**, 45.
- Iverson, J.B., Prosser, R.L. & Dalton, E.N. (2009). Orientation in juveniles of a semiaquatic turtle, *Kinosternon flavescens*. *Herpetologica* **65**, 237–245.
- Jablonski, A. & Jablonska, S. (1998). Egg-laying in the European pond turtle, *Emys orbicularis* (L.). Leczynsko–Wlodawskie Lake District (east Poland). In : 141–146. Presented at the *Emys symposium Dresden 96*, Dresden: Mertensiella.
- Janzen, F.J., Tucker, J.K. & Paukstis, G.L. (2000). Experimental analysis of an early life-history stage: avian predation selects for larger body size of hatchling turtles. *Journal of Evolutionary Biology* **13**, 947–954.
- Janzen, F.J., Tucker, J.K. & Paukstis, G.L. (2007). Experimental analysis of an early life-history stage: direct or indirect selection on body size of hatchling turtles? *Functional Ecology* **21**, 162–170.
- Khan, F.A. & Ansari, A.A. (2005). Eutrophication: An Ecological Vision. *The Botanical Review* **71**, 449–482.

- Kobayashi, S., Saito, Y., Osawa, A., Katsumata, E., Karaki, I., Nagaoka, K., Taya, K. & Watanabe, G. (2015). Embryonic sex steroid hormones accumulate in the eggshell of loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). *General and comparative endocrinology* **224**, 11–17.
- Kocum, E., Underwood, G.J. & Nedwell, D.B. (2002). Simultaneous measurement of phytoplanktonic primary production, nutrient and light availability along a turbid, eutrophic UK east coast estuary (the Colne Estuary). *Marine ecology progress series* **231**, 1–12.
- Kolbe, J.J. & Janzen, F.J. (2002a). Impact of nest-site selection on nest success and nest temperature in natural and disturbed habitats. *Ecology* **83**, 269–281.
- Kolbe, J.J. & Janzen, F.J. (2002b). Experimental analysis of an early life-history stage: water loss and migrating hatchling turtles. *Copeia* **2002**, 220–226.
- Kotenko, T. (2000). The European pond turtle (*Emys orbicularis*). In *The steppe zone of the Ukraine*: 87–106.
- Krawchuk, M.A. & Brooks, R.J. (1998). Basking Behavior as a Measure of Reproductive Cost and Energy Allocation in the Painted Turtle, *Chrysemys picta*. *Herpetologica* **54**, 112–121.
- Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. *Chemosphere* **75**, 417–434.
- Landoulsi, J., Cooksey, K.E. & Dupres, V. (2011). Review – Interactions between diatoms and stainless steel: focus on biofouling and biocorrosion. *Biofouling* **27**, 1105–1124.
- Lavoie, R.A., Jardine, T.D., Chumchal, M.M., Kidd, K.A. & Campbell, L.M. (2013). Biomagnification of Mercury in Aquatic Food Webs: A Worldwide Meta-Analysis. *Environmental Science & Technology* **47**, 13385–13394.
- Lebbononi, M. & Chelazzi, G. (1999). Habitat use, reproduction and conservation of *Emys orbicularis* in a pond system in Central Italy. *Ponds and pond landscape of Europe*. Liverpool. Pp 169–173.
- Legg, M., Yücel, M.K., Garcia de Carellan, I., Kappatos, V., Selcuk, C. & Gan, T.H. (2015). Acoustic methods for biofouling control: A review. *Ocean Engineering* **103**, 237–247.
- Lemaire, J., Bustamante, P., Olivier, A., Lourdais, O., Michaud, B., Boissinot, A., Galán, P. & Brischoux, F. (2018). Determinants of mercury contamination in viperine snakes, *Natrix maura*, in Western Europe. *Science of The Total Environment* **635**, 20–25.
- Lepak, J.M., Hooten, M.B., Eagles-Smith, C.A., Tate, M.T., Lutz, M.A., Ackerman, J.T., Willacker, J.J., Jackson, A.K., Evers, D.C., Wiener, J.G., Pritz, C.F. & Davis, J. (2016). Assessing potential health risks to fish and humans using mercury concentrations in inland fish from across western Canada and the United States. *Science of The Total Environment* **571**, 342–354.

- Lescure, J. (1982). Le biotope étang à roselière en Brenne. Museum National d'Histoire Naturel, Paris.
- Litzgus, J.D., Bolton, F. & Schulte-Hostedde, A.I. (2008). Reproductive output depends on body condition in spotted turtles (*Clemmys guttata*). *Copeia* **2008**, 86–92.
- Lombardini, K. & Cheylan, M. (2004). Cistude dans la réserve de Biguglia. Bilan des recherches 2001-2003. Réserve Naturelle de Biguglia.
- Lowe, W.H., Likens, G.E. & Cosentino, B.J. (2006). Self-organisation in streams: the relationship between movement behaviour and body condition in a headwater salamander. *Freshwater Biology* **51**, 2052–2062.
- Mansons, J., Pellé, B. & Airault, V. (2012). Document d'objectifs des sites Natura 2000 FR2410003 « Brenne » et FR2400534 « Grande Brenne » 97.
- Maris, V. & Devictor, V. (2014). La biologie de la conservation : de la théorie à la pratique et retour. In *Précis de philosophie de la biologie*: 107–121. Paris.
- Mason, R.P., Choi, A.L., Fitzgerald, W.F., Hammerschmidt, C.R., Lamborg, C.H., Soerensen, A.L. & Sunderland, E.M. (2012). Mercury biogeochemical cycling in the ocean and policy implications. *Environmental Research* **119**, 101–117.
- Mitrus, S. (2005). Headstarting in European pond turtles (*Emys orbicularis*): Does it work? *Amphibia-Reptilia* **26**, 333–341.
- Mitrus, S. (2006). Fidelity to nesting area of the European pond turtle, *Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758). *Belgian journal of zoology* **136**, 25.
- Mitrus, S. (2008). Relocation of the European pond turtle *Emys orbicularis* clutches did not influence the hatching rate. *Acta Biol. Univ. Daugavp* **8**, 63–66.
- Mitrus, S. & Zemanek, M. (2000). Distribution and biology of *Emys orbicularis* (L.) in Poland. na.
- Mitrus, S. & Zemanek, M. (2003). EUROPEAN POND TORTOISE, *EMYS ORBICULARIS*, NEONATES OVERWINTERING IN THE NEST 4.
- Mitrus, S. & Zemanek, M. (2004). Body size and survivorship of the European pond turtle *Emys orbicularis* in Central Poland. *Biologia, Bratislava* **59**, 103–107.
- Monsinjon, J., Guillon, J.-M., Hulin, V. & Girondot, M. (2017). Modelling the Sex Ratio of Natural Clutches of the European Pond Turtle, *Emys orbicularis* (L., 1758), from Air Temperature. *Acta Zoologica Bulgarica* **10**, 105–113.
- Myers, E.M., Tucker, J.K. & Chandler, C.H. (2007). Experimental analysis of body size and shape during critical life-history events of hatchling slider turtles, *Trachemys scripta elegans*. *Functional Ecology* **21**, 1106–1114.

- Nagle, R.D., Rowe, J.W. & Congdon, J.D. (2001). Accumulation and Selective Maternal Transfer of Contaminants in the Turtle *Trachemys scripta* Associated with Coal Ash Deposition. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **40**, 531–536.
- Najbar, B. & Mitrus, S. (2013). Migrations of hatchling European pond turtles (*Emys orbicularis*) after nest emergence. *Amphibia-Reptilia* **34**, 25–30.
- Najbar, B. & Szuszkiewicz, E. (2005). Reproductive ecology of the European pond turtle *Emys orbicularis* (LINNAEUS, 1758) (Testudines: Emydidae) in western Poland. *Acta Zoologica Cracoviensia* **48**, 11–19.
- Najbar, B. & Szuszkiewicz, E. (2007). Nest-site fidelity of the European pond turtle *Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758)(Testudines: Emydidae) in western Poland. *Acta Zoologica Cracoviensia-Series A: Vertebrata* **50**, 1–8.
- Nasri, H., El Herry, S. & Bouaïcha, N. (2008). First reported case of turtle deaths during a toxic *Microcystis* spp. bloom in Lake Oubeira, Algeria. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **71**, 535–544.
- Neil, W.T. & Allen, E.R. (1954). Algae on Turtles: Some Additional Considerations. *Ecology* **35**, 581–584.
- Nguyen, T., Roddick, F. & Fan, L. (2012). Biofouling of Water Treatment Membranes: A Review of the Underlying Causes, Monitoring Techniques and Control Measures. *Membranes* **2**, 804–840.
- Nixon, S.W. (1995). Coastal marine eutrophication: a definition, social causes, and future concerns. *Ophelia* **41**, 199–219.
- Novotný, M., Danko, S. & Havaš, P. (2004). Activity cycle and reproductive characteristics of the European pond turtle (*Emys orbicularis*) in the Tajba National Nature Reserve, Slovakia. *Biologia, Bratislava* **59**, 113–121.
- Oertli, B., Auderset Joye, D., Castella, E., Juge, R. & Lachavanne, J.-B. (2000). Diversité biologique et typologie écologique des étangs et petits lacs de Suisse.
- Olivier, A. (2002). Ecologie, traits d’histoire de vie et conservation d’une population de cistude d’Europe, *Emys orbicularis*, en Camargue. *Ecole Pratique des Hautes Etudes*.
- Olivier, A., Barbraud, C., Rosecchi, E., Germain, C. & Cheylan, M. (2010). Assessing spatial and temporal population dynamics of cryptic species: an example with the European pond turtle. *Ecological Applications* **20**, 993–1004.
- Ollagnon, H. (2006). La gestion de la biodiversité: quelles stratégies patrimoniales? In *Annales des Mines*: 50–57.
- Otto-Bruc, C. (2001). Végétation des étangs de la Brenne (Indre) : influence des pratiques piscicoles à l’échelle des communautés végétales et sur une espèce d’intérêt européen : *Caldesia parnassifolia* (L.) Parl. thesis, Paris, Muséum national d’histoire naturelle.

- Ottonello, D., Salvidio, S. & Rosecchi, E. (2005). Feeding habits of the European pond terrapin *Emys orbicularis* in Camargue (Rhône delta, Southern France). *Amphibia-Reptilia* **26**, 562–565.
- Owen-Jones, Z. (2015). LA CISTUDE D'EUROPE (EMYS ORBICULARIS) EN BRENNE : DEMOGRAPHIE, REPRODUCTION, DEPLACEMENTS ET IMPACTS DES PRATIQUES PISCICOLES. Ecole Pratique des Hautes Etudes.
- Owen-Jones, Z., Priol, P., Thienpont, S., Cheylan, M., Sauret, G., Coïc, C. & Besnard, A. (2016). The contrasting effects of short- and long-term habitat drainage on the population dynamics of freshwater turtles in a human-dominated landscape. *Freshw Biol* **61**, 121–132.
- Owen-Jones, Z. & Thienpont, S. (2011). La Cistude d'Europe sur la Réserve naturelle nationale de Chérine et les propriétés périphériques. Bilan de 4 années d'études. Chérine.
- Pailler, J. (1909). La Tortue de Brenne. *Science et Assimilation* 386–392.
- Pappas, M.J., Congdon, J.D. & Brecke, B.J. (2017). Orientation in Five Species of Hatchling River Turtles Dispersing from Experimental Nests. *Chelonian Conservation and Biology* **16**, 3–11.
- Paterson, J.E., Steinberg, B.D. & Litzgus, J.D. (2012). Revealing a cryptic life-history stage: differences in habitat selection and survivorship between hatchlings of two turtle species at risk (*Glyptemys insculpta* and *Emydoidea blandingii*). *Wildlife Research* **39**, 408.
- Paterson, J.E., Steinberg, B.D. & Litzgus, J.D. (2014). Effects of body size, habitat selection and exposure on hatchling turtle survival: Hatchling turtle survival. *Journal of Zoology* **294**, 278–285.
- Paul, R. (2004). Population viability analysis and effect of conservation measures in *Emys orbicularis* in Northeast Germany using computer simulation. *Biologia, Bratislava* **59**, 191–200.
- Pedroso Dias, R.J., D'ávila, S., Wieloch, A.H. & D'Agosto, M. (2008). Protozoan ciliate epibionts on the freshwater apple snail *Pomacea figulina* (Spix, 1827)(Gastropoda, Ampullariidae) in an urban stream of south-east Brazil. *Journal of Natural History* **42**, 1409–1420.
- Pfaller, J.B., Frick, M.G., Brischoux, F., Sheehy, C.M. & Lillywhite, H.B. (2012). Marine Snake Epibiosis: A Review and First Report of Decapods Associated with *Pelamis platurus*. *Integrative and Comparative Biology* **52**, 296–310.
- Pieau, C. (1971). Sur la proportion sexuelle chez les embryons de deux Chelonians (*Testudo greca* et *Emys orbicularis* L.) issues d'oeufs incubés artificiellement. *CR Acad. Sciences Paris (Ser. D)* **272**, 3071–3074.

- Pieau, C. (1972). Effets de la température sur le développement des glandes génitales chez les embryons de deux Chéloniens, *Emys orbicularis* L. et *Testudo graeca* L. CR Acad. Sciences Paris (Ser. D) **274**, 719–722.
- Pieau, C. (1974). SUR LA DIFFÉRENCIATION SEXUELLE CHEZ DES EMBRYONS D'EMYS ORBICULARIS L. (CHÉLONIEN) ISSUS D'ŒUFS INCUBÉS DANS LE SOL AU COURS DE L'ÉTÉ 1973,. Bulletin de la Société Zoologique de France **99**, 363–376.
- Pieau, C. (2004). Oestrogens and temperature-dependent sex determination in reptiles: all is in the gonads. Journal of Endocrinology **181**, 367–377.
- Pieau, C. (2014). Le déterminisme du sexe dépendant de la température chez les reptiles : des premières observations à la fin d'un dogme. Bulletin de la Société Herpétologique de France 41–64.
- Pieau, C. & Dorizzi, M. (1981). Determination of Temperature Sensitive Stages for Sexual Differentiation of the Gonads in Embryos of The Turtle, *Emys orbicularis*. Journal of Morphology **170**, 373–382.
- Pieau, C. & Mrosovsky, N. (1991). Transitional range of temperature, pivotal temperatures and thermosensitive stages for sex determination in reptiles. Amphibia-Reptilia **12**, 169–179.
- Pike, D.A., Pizzatto, L., Pike, B.A. & Shine, R. (2008). Estimating survival rates of uncatchable animals: the myth of high juvenile mortality in reptiles. Ecology **89**, 607–611.
- Primack, R.B. (2012). Biologie de la conservation: cours et applications. Paris: Dunod.
- Priol, P. (2009). Guide technique pour la conservation de la Cistude d'Europe en Aquitaine. Association Cistude Nature.
- Proctor, V.W. (1958). The Growth of Basicladia on Turtles. Ecology **39**, 634–645.
- Rallet, L. (1936). Étude phytogéographique de la Brenne... : thèses présentées à la Faculté des sciences de l'Université de Poitiers pour obtenir le grade de docteur ès sciences naturelles / par Louis Rallet,...
- Richier, S. & Broyer, J. (2014). Connaissance des facteurs influençant la biodiversité des étangs piscicoles : quelques principes de gestion issus des travaux de l'ONCFS. ONCFS. pôle « étangs continentaux ».
- Riley, J.L., Tattersall, G.J. & Litzgus, J.D. (2014). Potential sources of intra-population variation in the overwintering strategy of painted turtle (*Chrysemys picta*) hatchlings. Journal of Experimental Biology **217**, 4174–4183.
- Rollinat, R. (1934). Raymond Rollinat. La Vie des reptiles de la France centrale Cinquante années d'observations biologiques. (Introduction du docteur G. V. Legros.]. Delagrave 406.

- Rosenberg, R. & Loo, L.-O. (1988). Marine eutrophication induced oxygen deficiency: Effects on soft bottom Fauna, Western Sweden. *Ophelia* **29**, 213–225.
- Rössler, M. (2000). The ecology and reproduction of an *Emys orbicularis* population in Austria. *Chelonii* **2**, 69–72.
- Rovero, F. & Chelazzi, G. (1996). Nesting migrations in a population of the European pond turtle *Emys orbicularis* (L.) (*Chelonia Emydidae*) from central Italy. *Ethology Ecology & Evolution* **8**, 297–304.
- Row, J.R. & Blouin-Demers, G. (2006). Kernels are not accurate estimators of home-range size for herpetofauna. *Copeia* 797–802.
- Rutkiewicz, J., Nam, D.-H., Cooley, T., Neumann, K., Padilla, I.B., Route, W., Strom, S. & Basu, N. (2011). Mercury exposure and neurochemical impacts in bald eagles across several Great Lakes states. *Ecotoxicology* **20**, 1669–1676.
- Scheuhammer, A., Braune, B., Chan, H.M., Frouin, H., Krey, A., Letcher, R., Loseto, L., Noël, M., Ostertag, S. & Ross, P. (2015). Recent progress on our understanding of the biological effects of mercury in fish and wildlife in the Canadian Arctic. *Science of the Total Environment* **509**, 91–103.
- Scheuhammer, A.M., Basu, N., Burgess, N.M., Elliott, J.E., Campbell, G.D., Wayland, M., Champoux, L. & Rodrigue, J. (2008). Relationships among mercury, selenium, and neurochemical parameters in common loons (*Gavia immer*) and bald eagles (*Haliaeetus leucocephalus*). *Ecotoxicology* **17**, 93–101.
- Schindler, M., Frötscher, H., Hille, A., Bruck, M.R., Schmidt, M. & Kornilev, Y.V. (2017). Nest Protection during a Long-term Conservation Project as a Tool to Increase the Autochthonous Population of *Emys orbicularis* (L., 1758) in Austria 8.
- Schneider, L., Belger, L., Burger, J. & Vogt, R. (2009). Mercury bioaccumulation in four tissues of *Podocnemis erythrocephala* (*Podocnemididae*: Testudines) as a function of water parameters. *Science of The Total Environment* **407**, 1048–1054.
- Schneider, L., Belger, L., Burger, J., Vogt, R.C. & Ferrara, C.R. (2010). Mercury Levels in Muscle of Six Species of Turtles Eaten by People Along the Rio Negro of the Amazon Basin. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **58**, 444–450.
- Schneider, L., Belger, L., Burger, J., Vogt, R.C., Jeitner, C. & Peleja, J.R.P. (2011). Assessment of non-invasive techniques for monitoring mercury concentrations in species of Amazon turtles. *Toxicological & Environmental Chemistry* **93**, 238–250.
- Schneider, L., Maher, W., Green, A. & Vogt, R.C. (2013). Mercury contamination in reptiles: an emerging problem with consequences for wild life and human health. *Mercury: Sources, Applications and Health Impacts*. Nova Science Publishers, Inc., Hauppauge, New York, USA 173–232.

- Schulte-Hostedde, A.I., Zinner, B., Millar, J.S. & Hickling, G.J. (2005). Restitution of mass–size residuals: validating body condition indices. *Ecology* **86**, 155–163.
- Servan, J. (1986). Utilisation d'un nouveau piège pour l'étude des populations de cistudes d'Europe *Emys orbicularis* (Reptila, Testirding). *Revue d'écologie (Terre Vie)* **41**, 111–117.
- Servan, J. (1988). La Cistude d'Europe, *Emys orbicularis*, dans les étangs de Brenne. *Mésogée* **48**, 91–95.
- Servan, J. (1989). Usage particulier et traditionnel des étangs : impact de la mise en assec d'un an sur une population de cistude. *Muséum National d'Histoire Naturelle*.
- Servan, J. (1991). Rôle de la végétation aquatique dans l'écologie de la Cistude (*Emys orbicularis*) en Brenne.
- Servan, J. (2001). La Cistude d'Europe *Emys orbicularis* dans la Réserve Naturelle de Chérine et des étangs périphériques.
- Servan, J. (2002). Cistude et pisciculture en Brenne.
- Servan, J. (2003). La Cistude d'Europe *Emys orbicularis* en Brenne. Analyse de la tendance démographique d'une population à long terme.
- Servan, J. & Pieau, C. (1984). La cistude d'Europe (*Emys orbicularis*): mensuration d'oeufs et de jeunes individus. *Bulletin de la Société herpétologique de France* 20–26.
- Servan, J. & Roy, J.-J. (2004). Notes on the reproduction of *Emys orbicularis* in Brenne (Central France). *Biologia* **59**, 139–142.
- Sexton, O.J. (1965). The Annual Cycle of Growth and Shedding in the Midland Painted Turtle, *Chrysemys picta marginata*. *Copeia* **1965**, 314.
- Shine, R., Brischoux, F. & Pile, A.J. (2010). A seasnake's colour affects its susceptibility to algal fouling. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **277**, 2459–2464.
- Sibly, R.M., Hone, J. & Clutton-Brock, T.H. (2003). *Wildlife Population Growth Rates*. Cambridge University Press.
- Skinner, S., FitzSimmons, N. & Entwisle, T.J. (2008). The moss-back alga (Cladophorophyceae, Chlorophyta) on two species of freshwater turtles in the Kimberleys. *Telopea* **12**, 279–284.
- Slimani, T., El Hassani, M.S., El Mouden, E.H., Bonnet, M., Bustamante, P., Brischoux, F., Brault-Favrou, M. & Bonnet, X. (2018). Large-scale geographic patterns of mercury contamination in Morocco revealed by freshwater turtles. *Environmental Science and Pollution Research* **25**, 2350–2360.

- Smith, V.H., Tilman, G.D. & Nekola, J.C. (1999). Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. *Environmental Pollution* **100**, 179–196.
- Sommer, R.S., Persson, A., Wieseke, N. & Fritz, U. (2007). Holocene recolonization and extinction of the pond turtle, *Emys orbicularis* (L., 1758), in Europe. *Quaternary Science Reviews* **26**, 3099–3107.
- Soulé, M.E. (1985). What is conservation biology? *BioScience* **35**, 727–734.
- Soulé, M.E. & Kohm, K.A. (1989). *Research priorities for conservation biology*. Washington, D.C.: Island Press.
- Soylu, E.N., Gönülol, A., Sukatar, A., Ayaz, D. & Tok, C.V. (2006). Epizoic Freshwater Algae on *Emys orbicularis* (Testudinata: Emydidae) from the Central Anatolia Region of Turkey. *Journal of Freshwater Ecology* **21**, 535–538.
- Strain, P.M. (2005). *Eutrophication impacts of marine finfish aquaculture*. Fisheries and Oceans Canada, Science.
- Tan, S.W., Meiller, J.C. & Mahaffey, K.R. (2009). The endocrine effects of mercury in humans and wildlife. *Critical reviews in toxicology* **39**, 228–269.
- Tartu, S., Goutte, A., Bustamante, P., Angelier, F., Moe, B., Clement-Chastel, C., Bech, C., Gabrielsen, G.W., Bustnes, J.O. & Chastel, O. (2013). To breed or not to breed: endocrine response to mercury contamination by an Arctic seabird. *Biology Letters* **9**, 20130317–20130317.
- Thienpont, S. (2005). *Habitats et comportements de ponte et d’hivernation chez la Cistude d’Europe (Emys orbicularis) en Isère*. Ecole Pratique des Hautes Etudes.
- Triplet, P. (2018). *Dictionnaire encyclopédique de la diversité biologique et de la conservation de la nature*. 4ème.
- Trotignon, E. (2006). *Histoire d’un paysage de Brenne (Indre). Le domaine de Chérine et ses environs - (1838-2004).*, Etudes de la Réserve naturelle de Chérine. Réserve naturelle de Chérine.
- Trotignon, E. (2015). *Paysage de Brenne. Histoire comparée des paysages de Saint-Michel-en-Brenne et Lingé 1937-2013*. Chérine.
- Tucker, J.K. (2000). Body Size and Migration of Hatchling Turtles: Inter- and Intraspecific Comparisons. *Journal of Herpetology* **34**, 541.
- Turnquist, M.A., Driscoll, C.T., Schulz, K.L. & Schlaepfer, M.A. (2011). Mercury concentrations in snapping turtles (*Chelydra serpentina*) correlate with environmental and landscape characteristics. *Ecotoxicology* **20**, 1599–1608.
- Tuttle, S.E. & Carroll, D.M. (2005). Movements and Behavior of Hatchling Wood Turtles (*Glyptemys insculpta*). *Northeastern Naturalist* **12**, 331–348.

- UICN France, MNHN & SHF. (2015). La Liste rouge des espèces menacées en France - Chapitre Reptiles et Amphibiens de France métropolitaine.
- Ultsch, G.R., Draud, M. & Wicklow, B. (2007). Post-emergence movements and overwintering of snapping turtle, *Chelydra serpentina*, hatchlings in New York and New Hampshire. *The Canadian field-naturalist* **121**, 178–181.
- Vassal, V., Pauvert, S., Roy, C., Olivier, A. & Fayolle, S. (2017). Etude des diatomées épizoïques de Cistudes d'Europe (*Emys orbicularis*) et comparaison de l'évaluation de la qualité écologique de plans d'eau à partir de trois supports (épilithon, épiphyton et épizoon). Unpublished.
- Vollenweider, R.A. (1968). Scientific fundamentals of lake and stream eutrophication, with particular reference to phosphorus and nitrogen as eutrophication factors. Technical Report DAS/DSI/68.27). OECD, Paris, France.
- Vonlanthen, P., Bittner, D., Hudson, A.G., Young, K.A., Müller, R., Lundsgaard-Hansen, B., Roy, D., Di Piazza, S., Largiader, C.R. & Seehausen, O. (2012). Eutrophication causes speciation reversal in whitefish adaptive radiations. *Nature* **482**, 357–362.
- Wahl, M. (1989). Marine epibiosis. I. Fouling and antifouling: some basic aspects. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **58**, 175–189.
- Wahl, M. & Lafargue, F. (1980). Marine epibiosis. II. Reduced fouling on *Polysyncraton lacazei* (Didemnidae, Tunicata) and Proposal of an antifouling potential index **82**, 275–282.
- Wang, Q., Kim, D., Dionysiou, D.D., Sorial, G.A. & Timberlake, D. (2004). Sources and remediation for mercury contamination in aquatic systems—a literature review. *Environmental Pollution* **131**, 323–336.
- Wehr, J.D. (2010). Xanthophyta and Phaeophyta. In *Algae: source to treatment manual of water supply practices*: 18.
- White, G.C. & Garrott, R.A. (1990). *Analysis of Wildlife Radio-Tracking Data*. Elsevier.
- Wiener, J.G., Krabbenhoft, D.P., Heinz, G.H. & Scheuhammer, A.M. (2003). Ecotoxicology of mercury. *Handbook of ecotoxicology* **2**, 409–463.
- Wilson, D.S. (1998). Nest-site selection: microhabitat variation and its effects on the survival of turtle embryos. *Ecology* **79**, 1884–1892.
- Wilson, E.O. & Peter, F.M. (1988). *National forum on Biodiversity*. Washington, DC: National Academy.
- Wolfe, M.F., Schwarzbach, S. & Sulaiman, R.A. (1998). EFFECTS OF MERCURY ON WILDLIFE: A COMPREHENSIVE REVIEW **17**, 15.
- Wurtz, A. (1947). Algues nouvelles et intéressantes des étangs de la Brenne. *Bulletin de la Société Botanique de France* **94**, 104–114.

- Wyneken, J. & Salmon, M. (1992). Frenzy and postfrenzy swimming activity in loggerhead, green, and leatherback hatchling sea turtles. *Copeia* 478–484.
- Xia, Z.-R., Li, P.-P., Gu, H.-X., Fong, J.J. & Zhao, E.-M. (2011). Evaluating noninvasive methods of sex identification in green sea turtle (*Chelonia mydas*) hatchlings. *Chelonian Conservation and Biology* **10**, 117–123.
- Yu, S., Halbrook, R.S., Sparling, D.W. & Colombo, R. (2011). Metal accumulation and evaluation of effects in a freshwater turtle. *Ecotoxicology* **20**, 1801–1812.
- Zaborski, P., Dorizzi, M. & Pieau, C. (1988). Temperature-dependent gonadal differentiation in the turtle *Emys orbicularis*: concordance between sexual phenotype and serological H-Y antigen expression at threshold temperature. *Differentiation* **38**, 17–20.
- Zhu, X., Kusaka, Y., Sato, K. & Zhang, Q. (2000). The endocrine disruptive effects of mercury. *Environmental Health and Preventive Medicine* **4**, 174–183.
- Ziglar, C.L. & Anderson, R.V. (2005). Epizoic Organisms on Turtles in Pool 20 of the Upper Mississippi River. *Journal of Freshwater Ecology* **20**, 389–396.
- Zinenko, O. (2004). Notes on egg-laying, clutch size and hatchling feeding of *Emys orbicularis* in the Kharkiv region, Ukraine. *Biologia, Bratislava* **59**, 149–151.
- Zuffi, M.A.L. (2017). Stable or plastic body shape? *Emys orbicularis* hatchlings-juveniles growth patterns under different ecological conditions 9.
- Zuffi, M.A.L. & Foschi, E. (2015). Reproductive patterns of European pond turtles differ between sites: a small scale scenario. *Amphibia-Reptilia* **36**, 339–349.

ANNEXES

1. ANNEXE 1 : Liste des publications et documents

Lors de la période de la thèse, entre 2017 et 2019 les travaux sur la cistude ont donné lieu à la production de divers documents : rapports, articles, poster, l'organisation d'événements, l'encadrement et la formation d'étudiants et de collègues. Les éléments avant cette période ne sont pas présentés.

Publication scientifique

Beau, F. et Brischoux, F. (2017). EMYS ORBICULARIS (European Pond Turtle). NEONATE DIET. *Herpetological Review*. Natural history note 48, 621–622.

Beau, F., Bustamante, P., Michaud, B., & Brischoux, F. (2019). Environmental causes and reproductive correlates of mercury contamination in European pond turtles (*Emys orbicularis*). *Environmental research*, 172, 338-344.

Il s'ajoute les publications prévues à court terme sur le recouvrement algal, les émergences et les émergents plus ou moins avancées dans leur rédaction pour le moment.

Littérature grise

Beau, F. (2017). Suivi des populations de Cistude d'Europe de la Réserve Naturelle Nationale de Chérine, des propriétés conventionnées et autres étangs. Bilan 2017. RNN Chérine.

Beau, F. (2018). Que deviennent les jeunes Cistudes d'Europe *Emys orbicularis* après leur sortie du nid. Poster des doctorants de 2^{ème} année. Université de La Rochelle.

Beau, F. (2018). La Cistude d'Europe *Emys orbicularis* et son environnement. Exemple de la Brenne : de la gestion des étangs à la gestion des sites de ponte. Colloque des doctorants de 2^{ème} année. Université de La Rochelle.

Beau, F. et Morgnieux, J. (2018). Suivi des populations de Cistude d'Europe de la Réserve Naturelle Nationale de Chérine, des propriétés conventionnées et autres étangs. Bilan 2018. RNN Chérine, Saint-Michel-en-Brenne.

Beau, F. (2019). Mise en défens d'un site de ponte de Cistude d'Europe *Emys orbicularis*. RNN Chérine.

Communication Orale

Colloque des doctorants de 2^{ème} année (24 mai 2018) :

« Pourquoi la Cistude d'Europe ? ».

(Prix de la meilleure communication orale).

Journées Techniques Nationale Cistude d'Europe (19 et 20 septembre 2019) :

« Cistudes de Brenne et mercure ».

« Phénologie des émergences ».

« Traits de vie des émergents ».

Plus les diverses présentations dans le cadre de la vie de la RNN (partenaires financiers, techniques...) :

Comités consultatif annuel

Conseil scientifique annuel

Restitution annuelle à l'Agence de l'Eau Loire Bretagne

Bilan annuel Plan Régional d'Action

Autres

Participation au comité de rédaction du Plan National d'Action Cistude d'Europe 2020-2029.

Protocole participatif sur la recherche de nids : **Beau F.** (2017). « Protocole de recherche des nids/émergents de Cistude d'Europe *Emys orbicularis* ». RNN Chérine.

Participation à la création de l'exposition sur la Cistude d'Europe à la Maison du Parc (Parc Naturel Régional de la Brenne).

Organisation des Journées Techniques Nationale Cistude 2019.

Membre du Jury de thèse vétérinaire de Lilian : Biot, L. (2017). Synthèse des connaissances actuelles sur la cistude d'Europe (*Emys orbicularis*) et étude d'une pathologie de sa carapace. Ecole Vétérinaire de Toulouse.

Formation et encadrement d'étudiants et de collègues sur le piégeage et la télémétrie : membres de la RNN de Chérine, contractuels et stagiaires : Maria Bernard, Thomas Dagonet, Nathan Delmas, Julia Hegedus, Jérémy Lemaire, Julien Mornieux, Matthieu Normand ; et d'autres structures : Angélique Villéger et Anthony Prévost (Sologne Nature Environnement), Florian Plot (Conservatoire d'Espace Naturel Centre-Val de Loire), Marine Logie et Bruno Cartoux (Fédération Départementale des Chasseurs de l'Indre).

2. ANNEXE 2 : Note dans Herpetological Review

Beau, F., Brischoux, F., 2017. EMYS ORBICULARIS (European Pond Turtle). NEONATE DIET. Herpetological Review. Natural history note 48, 621–622.

EMYS ORBICULARIS (European Pond Turtle). NEONATE DIET. Detailed information on the ecology of neonatal emydine turtles is very scarce (Costanzo et al., 2008. Journal of Experimental Zoology 309A:297-379). Indeed, because of their small body size, and their high susceptibility to predation, field studies on neonatal Emydids are logistically complex. Accordingly, the foraging ecology, and thus the precise composition of the diet of emerging young Emydids is virtually unknown. Despite this lack of detailed information, it is usually assumed that neonatal emydine turtles rely on residual yolk until nest emergence and that; after emergence their diet is composed of gastropods and insects based on information gathered on larger juvenile individuals (Ottonello et al., 2005. Amphibia-Reptilia 26: 562-565).

We study European pond turtles (*Emys orbicularis*), a typical Emydine turtle species, in “Brenne” one of the largest wetland of central France. These field studies include protection of nests, and subsequent monitoring of the emergence of neonates. At the end of the emergence period, nests are excavated in order to assess the emerging success (number of viable young produced) as well as the presence and the number of dead individuals, dead embryos or undeveloped eggs.

At the end of May 2017, 3 weeks after the usual latest emergence date, we excavated a nest that had produced 2 turtles. The nest also contained 1 dead individual, 3 dead embryos and 3 undeveloped eggs. Surprisingly, we found an additional living neonate at the bottom of the nest. Upon capture, this individual defecated, suggesting that it had ingested solid food after birth while still being within the nest. Examination of the fecal pellet revealed that it was composed of the carapace scutes of other neonatal turtles.

This observation indicates that neonatal European pond turtles can feed on solid food sources while still being within the nest. Although we do not know if the turtle consumed was alive, this seems unlikely, and to our knowledge, it is the first reported case of intra-nest necro-cannibalism in an Emydine turtle species. We do not know whether the young had ingested parts of a (dead) sibling because it was unable to leave the nest or if it remained in the nest because it found food resources there. Future examinations of nest content should allow to quantify the frequency of such unusual behavior.

FREDERIC BEAU (rncherine.frederic@orange.fr), RNN de Chérine, Maison de la Nature et de la Réserve, 36290 Saint-Michel-en-Brenne. FRANCOIS BRISCHOUX (francois.brischoux@gmail.com), CEBC UMR7372 CNRS-ULR, 79360 Villiers en Bois, France.

3. ANNEXE 3 : Article paru dans Environnemental Research

Beau, F., Bustamante, P., Michaud, B., & Brischoux, F. (2019). Environmental causes and reproductive correlates of mercury contamination in European pond turtles (*Emys orbicularis*). *Environmental research*, 172, 338-344.

Environmental causes and reproductive correlates of mercury contamination in European pond turtles (*Emys orbicularis*)

Abstract

Assessing Hg contamination in aquatic ecosystems is difficult because wetlands are part of large and complex networks, and potential sources of Hg contamination are highly diverse. To investigate environmental determinants of Hg contamination, we studied one of the largest continental French wetlands structured as a dense network of artificial ponds. Such context allows to investigate the influence of pond characteristics on Hg contamination in an area relatively disconnected from direct sources of pollution. We relied on a bioindicator organism, the European pond turtle (*Emys orbicularis*) to assess Hg contamination in a relatively large number of sites (N>255 turtles from 15 ponds sampled in 2016 and 2017). Non-invasive sampling in the claws of turtles show that Hg concentrations were not related to their sex or size, but we found an effect of age (1.62 ± 0.20 in juveniles and $2.21 \pm 0.06 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw in adults), suggesting that turtles do bioaccumulate Hg through their life. Turtle Hg was different between pond, and we found that pond age and pond usage (draining events linked to pond maintenance) were the main environmental determinants of Hg concentrations in turtles. Finally, and more importantly, our dataset allowed us to highlight potential negative effect of Hg concentration on the proportion of reproductive females, suggesting an influence of Hg on reproductive mechanisms in this species. This result indicates that Hg contamination, even in absence of direct and strong sources of pollution, may have a critical impact on reproduction and thus the persistence of a long-lived vertebrate.

Keywords: aquaculture, bioindicator, Emydidae, freshwater, mercury, reproduction, turtles, wetlands

Introduction

Mercury (Hg) is one of the most (in)famous environmental contaminants (Wiener et al. 2003). Through various transport processes, Hg tends to concentrate in aquatic environments, which are considered as sinks of Hg (Mason et al., 2012; Driscoll et al. 2013). Assessing the sources of Hg contamination in aquatic ecosystems is difficult because wetlands are part of large and complex networks composed of both surface and underground waters. Contaminants can enter aquatic environments through various pathways such as atmospheric deposition, erosion or anthropogenic sources including agricultural drainage, mining, or industrial effluents (Förstner and Wittman; 1981; Wiener et al. 2003; Wang et al. 2004). Cryptic sources can further complicate our understanding of the extent of Hg contamination. For instance, it has recently been shown that fish farming is responsible for the transfer of marine Hg to areas that superficially appear unaffected from other sources of pollution (Hansson et al. 2017; see also Lemaire et al. 2018; Guillot et al. 2018).

Aquatic environments are important sources of methyl-Hg (MeHg) (Ackerman et al.; 2016; Eagles Smith et al. 2018; Gilmour et al. 1992; Hsu-Kim et al. 2013), a form of Hg responsible for toxic effects on humans and wildlife (e.g. Tan et al., 2009; Scheuhammer et al 2008; Crump et al. 2009; Green et al. 2010; Rutkiewicz et al. 2011; Wolfe et al. 1998; Tartu et al. 2013; Schneider et al. 2013). Several processes, relatively specific to wetlands, are known to influence the rates at which inorganic Hg can be biotransformed to MeHg (Eagles Smith et al. 2018; Hsu-Kim et al. 2018). Such factors involve sedimentation and biomethylation by microorganisms, which depends on physical (e.g., anoxia in slow moving water bodies) and biological (e.g., development of periphytic biofilm on algae and macrophytes) processes (see Hsu-Kim et al. 2018 for a review, Gochfeld, 2003). Once methylated, Hg becomes readily bioavailable, is bioaccumulated within organisms and biomagnified through the food chain (Lavoie et al., 2013). In turn, these processes can also be influenced by several ecological factors such as primary productivity, habitat structure, bioenergetics, and food web structure (Eagle-Smith et al. 2018).

In complex aquatic networks, monitoring Hg contamination is logistically complicated. To circumvent these difficulties, the use of biological indicators is often required and allows spatiotemporal biomonitoring of the contaminant. Traditionally, freshwater fish have been intensively investigated for Hg contamination (e.g., Depew et al., 2012; Åkerblom et al., 2014; Scheuhammer et al., 2015; Eagles-Smith et al., 2016), because fish are widely used as a food source by many human populations (Futsaeter and Wilson, 2013; Dong et al., 2015; Lepak et al., 2016; Fliedner et al.; 2016). More recently, aquatic reptiles (mainly turtles and snakes) have been shown to be particularly useful to monitor Hg in freshwater habitats (Bergeron et al. 2007; Burger et al., 2009; Schneider et al. 2009; Schneider et al. 2010; Turnquist et al. 2011; Hopkins et al. 2013a; Schneider et al. 2013; Eggins et al 2015; Adel et al. 2017). Because of their relatively limited dispersal capacity and their high degree of philopatry, Hg concentrations found in their tissues should be closely linked to those of their small home-ranges, thereby allowing a spatially explicit sampling. In addition, reptiles are considered as meso- or apex-predators thereby allowing to integrate information from the underlying levels of the trophic web. Contrarily to endothermic vertebrates, their relatively lower metabolic rates and relatively higher tissue conversion rates allow a greater capacity to integrate long-term Hg contamination in their organism (Slimani et al. 2018; Lemaire et al. 2018). Finally, recent developments of non-invasive techniques to assess individual Hg contamination allow sampling of relatively large sample sizes while respecting important ethical considerations.

For instance, easily accessible tissues such as scales or claws in which Hg bioaccumulates due to its binding to keratins (Schneider et al. 2011; Bezerra et al. 2013; Hopkins et al. 2013) allow the use of such a non-invasive technique to quantify Hg contamination in these models (Hopkins et al. 2013a; Lemaire et al. 2018; Slimani et al. 2018).

Using the European pond turtle *Emys orbicularis* as a bioindicator of Hg, we took advantage of a natural, semi-experimental context in one of the largest continental French wetlands: the Brenne region. In this area, each pond harbours a faithful turtle population and is characterized by a suite of features (age, size, usage; Benarrou, 2017). Based on a relatively large sample size (255 turtles from 15 ponds), the goals of our study were three-fold. First, we investigated the individual determinants of Hg concentrations (i.e., sex, age and body size). Second, we aimed at assessing the environmental determinants of Hg contamination based on each site's unique combination of physical features (i.e., age of the pond, its size and usage). Finally, we investigated the potential deleterious consequences of such contamination in our study species by examining relationships between Hg concentration and body-condition and reproduction.

Material and methods

Study species and study sites

The European pond turtle *Emys orbicularis* is a small European freshwater turtle species. Our study took place in 2016 and 2017 in the Brenne Natural Park (hereafter "Brenne").

Brenne spreads over 1700 km² and is characterized by a matrix of ~4000 large artificial ponds created since the Middle-Age in order to raise fish (Benarrou, 2017).

Sampling (see below) took place on 15 ponds, mainly located in the vicinity of the Réserve Naturelle Nationale de Chérine (46°47'25.23"N, 1°12'3.54"E, Figure 1). Sites were sampled either in 2016 (May to September, N=9 sites and N=148 turtles) or in 2017 (April to June, N=6 sites and N=107 turtles). Because each pond is characterized by a unique suite of features, those were assessed as follow. We measured the size of each pond (ha) using QGIS (QGIS Development Team (2017). QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>). We recorded the age of each pond from local archives (Benarrou, 2007). Because local usage is characterized by a full draining of each pond during a whole year (for pond maintenance) at a variable frequency (typically once every 7-25 years), the elapsed time since the last draining event was also recorded (hereafter latency since last draining "LSLD"). Finally, we created two categories of local management: ponds located in protected areas (or managed by the Natural Reserve staff) were classified as "reserves", while ponds not submitted to any regulations were classified as "not protected". The combination of this detailed information for various sites distributed across a relatively similar environmental context and over a relatively small spatial scale represents a powerful opportunity to investigate of the environmental determinants of Hg contamination in a typical continental wetland.

Field procedures and sampling

Turtles were captured with baited funnel traps from April to July usually during three 4 days-long capture sessions per site. Funnel traps were visited every day in order to avoid long-term disturbance for captured individuals.

Upon capture, each turtle was individually and permanently marked with notches in the marginal dorsal and ventral scutes. The straight carapace length (SCL) was measured with a calliper ($\pm 0.01\text{mm}$) and body mass was measured with a digital scale ($\pm 1\text{g}$). Most individuals were sexed based on the morphology of the plastron (concave in males, Zuffi et al. 1995). Sexing was not possible in a few juvenile individuals and these individuals were kept as “unsexed” in our analyses. Individuals were classified as juveniles when a large growth ring was visible on the ventral scutes, while individuals lacking this growth mark were classified as adults (Olivier, 2002). Gravidity of adult females was systematically assessed using manual pelvic palpation (Duguy & Baron 1998; Olivier 2002).

Finally, the distal extremities of 2 claws from each leg per individual were collected with a nail clipper for further Hg measurements. Such non-invasive technique has been successfully used in several freshwater species (e.g., Hopkins et al. 2013a; Slimani et al. 2018) and validated in *Emys orbicularis* from the Brenne area (Guillot et al. 2018). Importantly, each turtle is relatively faithful to its home-pond (Owen-Jones et al. 2015) thereby allowing for a precise determination of the Hg contamination level for each site. When possible, we aimed at collecting claws from 10 males and 10 females per site. Overall, we collected claw samples from 255 individuals (232 adults and 23 juveniles), representing 126 females, 122 males and 7 unsexed individuals.

Each individual was released at the location of capture, usually within an hour after capture.

Mercury analysis

Prior to chemical analysis, claws were cleaned three times with a mixture of 2:1 chloroform/methanol solution in an ultrasonic cleaner and rinsed in milli-Q quality water, and dried for 48 h (Guillot et al. 2018). Total Hg concentrations were measured using an atomic absorption spectrophotometer (Advanced Mercury Analyser-254, Altec) on dried tissue aliquots (ranging from 0.5 to 3 mg) as described by Chouvelon et al. (2009). The analytical quality (i.e. accuracy and reproducibility) of the Hg measurements was assessed by the analyses of blanks and certified reference material (CRM) TORT-2 Lobster Hepatopancreas (NRC, Canada; certified Hg concentration: $0.27 \pm 0.06 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \text{ dw}$). The CRM were analysed at the beginning and at the end of the analytical cycle, and by running controls for every 10 samples (Bustamante et al. 2006). Mass of the CRM was adjusted to represent an amount of Hg similar to that in turtle samples. Our measured values for the CRM were $0.255 \pm 0.014 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \text{ dw}$ ($N = 38$) showing a recovery of 94%. Blanks were analysed at the beginning of each set of samples and the quantification limit of the method was 0.05 ng. Data for Hg concentrations are presented as $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ relative to the dry weight (dw).

Statistical analyses

We used general linear models to investigate individual determinants of Hg concentration, with Hg concentration as the dependent variable and individual characteristics as the factors (sex [unsexed, female, male], age class [juvenile, adult] and size [SCL]).

We also used general linear models to investigate environmental determinants of Hg concentration, with Hg concentration as the dependent variable, and pond characteristics as the factors (pond size, pond age, LSLD, and management category).

To explore the potential correlates of Hg concentration, we relied on two proxies of turtle state. First, we computed a body-condition index (calculated as the residuals of the

regression of log-transformed body mass against SCL) separately for males and females. The relationship between body-condition index and Hg concentration assessed with linear regressions.

Second, for each site, we assessed the proportion of gravid females. It was calculated as the number of gravid females divided by the total number of females restricted to those captured during the reproductive period solely (defined as period between the date of capture of the first gravid females and the date of capture of the last gravid female). Gravidity can be influenced by environmental conditions (e.g., temperature, precipitation, food availability). Indeed, both years show strong variation of the proportion of gravid females (i.e., 0%-18% for the sites sampled in 2016 versus 0%-53% for the sites sampled in 2017, see results). As a consequence, both years were analyzed separately. Because there was only one value per site (and per year) for the proportion of gravid females (see above for our calculations of this proportion), relationships between this metric and mean Hg concentration (restricted to adult females with SCL > 133 mm) were assessed with Spearman rank correlations. Importantly, both estimates should be relatively independent as the proportion of gravid females was calculated for each site's captured individuals (i.e., including individuals not sampled for Hg) while the mean Hg concentration for adult females was calculated on a sub-sample of the captured population.

All analyses were performed with Statistica 12.

Results

Mean Hg concentrations (\pm SD) for each site and sex are presented in Table 1.

Hg concentration was not linked to turtle size ($F_{1,250}=2.35$, $p=0.13$) nor to turtle sex ($F_{2,250}=1.79$, $p=0.17$) but was influenced by turtle age classes ($F_{1,250}=10.10$, $p=0.001$) with juveniles having lower Hg concentration than adults (mean Hg 1.62 ± 0.20 for juveniles and 2.21 ± 0.06 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw for adults, Figure 2).

Hg concentrations diverged strongly between sites ($F_{14,240}=7.27$, $p<0.0001$; range 1.44 ± 0.18 – 3.17 ± 0.25 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw, Table 1). Hg concentration was not linked to management category ($F_{1,127}=0.02$, $p=0.87$) or pond size ($F_{1,127}=0.06$, $p=0.81$) but it was positively related to pond age ($F_{1,127}=7.17$, $p=0.008$) and negatively related to LSLD ($F_{1,127}=4.43$, $p=0.03$, Figure 3).

We did not find a significant influence of Hg concentrations on the body condition of males ($F_{1,117}=1.31$, $p=0.25$) or females ($F_{1,123}=0.007$, $p=0.93$). Similar results were found when the analyses were restricted to adult individuals (all $p>0.32$).

We found significant negative relationships between the proportion of gravid female per pond and the Hg concentrations of adult females for both 2016 (Spearman rank correlation, $r_s=-0.50$, $p<0.0001$, Figure 4) and 2017 (Spearman rank correlation, $r_s=-0.39$, $p=0.004$, Figure 4.).

Discussion

Overall, the results we found on the individual determinants of Hg concentrations in *E. orbicularis* support the use of freshwater turtles as bioindicators of environmental contamination, as already demonstrated in other studies (Bergeron et al. 2007; Burger et al.,

2009; Schneider et al. 2009; Schneider et al. 2010; Turnquist et al. 2011; Hopkins et al. 2013b; Slimani et al. 2018). Importantly, the semi-experimental context of our field sites allowed to highlight several environmental variables (other than direct anthropogenic contamination) that appear to influence Hg bioavailability to turtles. Finally, the concentrations of Hg we found in *E. orbicularis* from our study site appear related to their propensity to reproduce and thus may bear consequences for the persistence of this population. All of these findings are discussed sequentially below.

Individual determinants of Hg concentrations

The usefulness of freshwater turtles as bioindicators of Hg contamination has already been demonstrated in this species (Guillot et al. 2018) and others (Bergeron et al. 2007; Burger et al., 2009; Schneider et al. 2009; Schneider et al. 2010; Turnquist et al. 2011; Hopkins et al. 2013b; Slimani et al. 2018). Consistent with these studies, our investigations also indicate that analysis of the claws of *E. orbicularis* is a useful non-invasive technique to monitor Hg contamination in a large number of individuals. We found that juvenile individuals had lower Hg concentrations in their claws than older adult turtles indicating that Hg bioaccumulates during the life of *E. orbicularis* (Guillot et al. 2018). Despite this difference between age classes (juveniles *versus* adults), we did not find any relationship between turtle size and Hg concentration, while such correlation has been previously recorded (Guillot et al. 2018; Hopkins et al, 2013a). We suggest two complementary, non-mutually exclusive hypotheses to explain this result. First, the range of size available in our study is restricted to relatively large individuals (e.g. all SCL > 96.5 mm corresponding to large juveniles and adults), while a previous study included neonates and very small individuals (see Guillot et al. 2018). Such restricted range of size inevitably obscured any relationship between Hg concentration and turtle size. Second, *E. orbicularis* has a relatively determinate growth. Indeed, although young adults can continue to grow, most older individuals have nearly ceased growing. As a result, individuals having a similar SCL can differ in age (i.e., mixing young and very old adults). Because Hg bioaccumulates with age, individuals having a similar size can display highly different Hg concentrations. Again, such phenomena would obscure any relationship between Hg concentrations and size among adult individuals. Future studies should investigate such hypotheses, notably by sampling individuals of known age from long-term mark-recapture studies.

As already suggested for this species (Guillot et al. 2018), and for other freshwater turtles (Adel et al. 2005; Bergeron et al. 2007; Schneider et al. 2009; Turnquist et al. 2011; Hopkins et al. 2013a; Slimani et al. 2018) sex did not influence Hg concentrations. This suggests that feeding, metabolism and/or growth rates are presumably fairly similar for both sexes (Allender et al. 2015; Yu et al. 2011), contrarily to what has been found in another species of freshwater turtle (Nagle et al. 2001) and in seaturtles (Guirlet et al. 2008). In addition, this further suggests that reproduction (egg production and laying) does not represent a major excretion pathway in female *E. orbicularis* (but see Burger and Gibbons 1998; Hopkins et al. 2013b). Yet, mechanisms through which female *E. orbicularis* would limit Hg deposition in their eggs remain puzzling, and future studies should usefully investigate this question.

Environmental determinants of Hg concentrations

Our study highlights the role of several environmental factors affecting the concentrations of Hg in the claws of *E. orbicularis*. Importantly, these determinants are not related to direct sources of pollution due to anthropogenic activities (e.g., industrial effluents,

Wang et al. 2004), but instead indicate subtler sources of Hg bioavailability in the wild (Driscoll et al. 2013). First, the management category of each pond does not seem to significantly influence Hg concentrations in turtles. This suggests that, in Brenne, intensive fish farming (in unprotected ponds) may not be responsible for the transfer of marine mercury through fish food as shown in trout farming systems (Hansson et al. 2017; Lemaire et al. 2018). Indeed, in our study area, fish farming is mainly dedicated to omnivorous species (i.e., carps) for which food supplementation is represented by corn, rather than commercial pellets based on proteins from fishery products of marine origin (Hansson et al. 2017). Second, our results show that *E. orbicularis* inhabiting older ponds display relatively higher Hg concentrations. This result suggests that Hg concentrations, and thus its bioavailability, increase with the age of the water body. Because natural sources of Hg include both hydrologic and atmospheric deposition (e.g., Mason et al. 2012), older water body have been subjected to these natural processes for a longer time period, and may thus display naturally higher Hg concentrations (Eagles-Smith et al. 2018). Although it may be complicated to assess such parameter in other geographic areas, we believe that this natural source of variation of Hg concentration is a major issue to take into account. Finally, we found an influence of the latency since the last draining event of the ponds on the Hg concentrations of *E. orbicularis*. Periodic year-long draining of each pond has been ancestrally used in Brenne to maintain pond and associated structures (e.g., pond drain). During such a year-long draining event, the organic matter contained in the mud is mineralized. As a consequence, the years following such draining episode are usually characterised by a significant bloom of aquatic vegetation both in terms of density and species richness (Richier & Broyer, 2014). Such process can influence Hg bioavailability (i.e., the methylation of inorganic Hg) by promoting growth of bacterial biofilm on algae and macrophytes all of which play a role in Hg methylation and thus in the increase of its bioavailability (Gentès et al. 2013; Gentès et al. 2017). Furthermore, the macrophytic rhizosphere is involved in Hg methylation, and may therefore increase Hg bioavailability to local fauna (Gentès et al. 2013). Such process is likely to explain the negative and significant relationship we found between the latency since the last draining event and the Hg concentration in *E. orbicularis*. Although draining events are no doubt favourable to promote aquatic vegetation blooming (Richier & Broyer, 2014), our results suggest that if they are too frequent, they may provoke an increase of Hg bioavailability. Future management policies should take this result into account, and should aim at a finely tuned balance between the required periodical blooms of aquatic vegetation and the associated increased bioavailability of Hg.

Reproductive correlates of Hg concentrations

Finally, our study allowed to highlight potential negative effects of Hg concentrations on the reproduction in *E. orbicularis*. Specifically, we found negative relationships between mean Hg concentrations of adult females and the proportion of reproductive females for a given site. Importantly, this negative trend was repeatedly detectable during the two consecutive years of our study. Although Hg has been shown to negatively influence hatching success in another species of freshwater turtle (Hopkins et al. 2013b), to our knowledge our study is the first to document a negative relationship between Hg concentrations and the propensity of adult females to reproduce. Such negative relationship may be attributable to endocrine disruptive properties of Hg. Indeed, Hg has been shown to affect thyroid hormones in freshwater turtles (Meyer et al. 2014). Our results on body condition (i.e. no effect of Hg on turtles' body condition) do not support an influence of Hg on feeding, growth or indeed,

metabolism. Our results rather suggest an influence of Hg on reproductive mechanisms. For instance, Hg and especially MeHg is known to disrupt reproductive hormones (Frederick & Jayasena 2011; Tan et al. 2009; Zhu et al. 2000) and have been shown to influence reproductive probability in other long-lived vertebrates (Tartu et al. 2013; Goutte et al. 2014). Our dataset does not allow teasing apart causation and our conclusion needs to be taken with caution. Despite the lack of evidences of direct causation, Hg concentrations found in *E. orbicularis* (up to 7 $\mu\text{g.g}^{-1}$ dw) are coherent with those known to provoke reproductive failure in other study systems (e.g., 1 $\mu\text{g.g}^{-1}$ in blood and from 2.4 to 40 $\mu\text{g.g}^{-1}$ in feathers in birds for instance, Burger and Gochfeld 1997, Evers et al. 2008), suggesting the relationships we found may not be trivial for *E. orbicularis*. Future studies should investigate reproductive hormone levels and Hg concentrations in female *E. orbicularis* in order to test for this hypothesis. Interestingly, although the Brenne population of *E. orbicularis* is thought to be one of the largest in France, the proportion of neonates is among the lowest (Beau 2015). Clearly the negative relationship between Hg concentrations and the proportion of reproductive female we detected suggest that Hg contamination, even in absence of direct and strong sources of pollution, may have a critical impact on reproduction and thus the persistence of population in a long-lived vertebrate.

Acknowledgments

We thank all the volunteers and the staff from the Réserve Naturelle Nationale de Chérine for their help during field work and especially J. Lemaire and J. Morgnieux. We thank M. Brault-Favrou and C. Churlaud from the plateforme Analyses Elementaires of the laboratory LIENSs for their assistance in mercury analyses. The drawing for the graphical abstract was made by F. Desbordes. The CPER (Contrat de Projet Etat-Région) and the FEDER (European Regional Development Fund) are acknowledged for funding the AMA. Funding was provided by the CNRS, the Agence de l'Eau Loire-Bretagne, the WWF (World Wide Fund) and the Réserve Naturelle Nationale de Chérine. The IUF (Institut Universitaire de France) is also acknowledged for its support to PB as a Senior Member.

References

Cf. Bibliographie Générale

Number	Name	Management	Age (years)	LSD (years)	Sex	SCL	Hg	N
1	Beaugu	R	NA	3	U	111.53	1.22	1
					F	158.94±12.15	1.69±0.35	11
					M	145.68±8.97	1.99±0.52	9
2	Beauju	NP	NA	NA	U	96.49	2.50	1
					F	157.42±8.42	3.39±2.23	4
					M	135.60±3.82	2.13±0.56	4
3	Bellebouche	NP	618	NA	F	144.15±14.13	3.12±1.39	11
					M	137.19±7.49	2.55±0.71	11
4	Cistude	R	37	4	U	126.66	0.94	1
					F	166.21±6.13	2.10±0.99	8
					M	146.68±8.91	1.64±0.41	7
5	Courlis	NP	NA	NA	F	159.89±4.67	1.67±0.48	10
					M	151.46±4.77	1.80±0.62	7
6	Gorgeat	R	578	10	F	161.09±10.93	2.04±0.37	11
					M	149.88±10.53	2.06±0.44	8
7	Hautes-Rondières	R	800	15	F	157.16±7.71	1.81±0.37	10
					M	145.34±7.12	1.62±0.33	10
8	La Cure	NP	NA	NA	U	98.78	2.60	1
					F	160.6±3.82	2.46±1.00	5
					M	142.65±11.23	3.21±0.66	6
9	La Touche	R	NA	3	F	143.98±18.93	2.52±0.82	4
					M	148.32±9.84	3.53±0.94	7
10	Lion	R	337	6	F	153.83±12.94	1.33±0.29	11
					M	151.28±7.67	1.55±0.99	10
11	Ménetrie	NP	NA	NA	U	124.61±10.04	1.13±0.23	3
					F	154.47±12.66	2.37±0.54	7
					M	148.59±8.56	2.07±0.82	11
12	Monmelier	NP	562	5	F	155.36±9.09	2.83±0.54	8
					M	138.93±2.31	2.11±1.27	3
13	Nuret	NP	549	8	F	160.80±6.87	1.82±0.48	10
					M	152.86±9.80	1.59±0.25	10
14	Petit Ajonc	NP	NA	NA	F	167.70±7.80	1.90±0.56	2
					M	146.97±6.37	1.64±0.41	8
15	Ricot	R	500	1	F	151.81±7.21	3.19±1.04	14
					M	144.25±6.10	2.32±1.09	11

Table 1. Summary of the characteristics of the study sites (15 ponds) and associated sampled turtles. “Number” refers to the number displayed in Fig. 1. “Management” indicates management type (R: reserves, NP: not-protected). “Age” indicates the age of the pond in years. “LSD” stands for “latency since last draining” in years. “Sex” indicates the sex of the sampled turtles (U: unsexed individuals, F: females, M: males). “SCL” stands for straight shell length (mean ±SD, mm). Hg levels are given as the mean ± SD ($\mu\text{g.g}^{-1}$ dw). See text for details.

Captions to figures

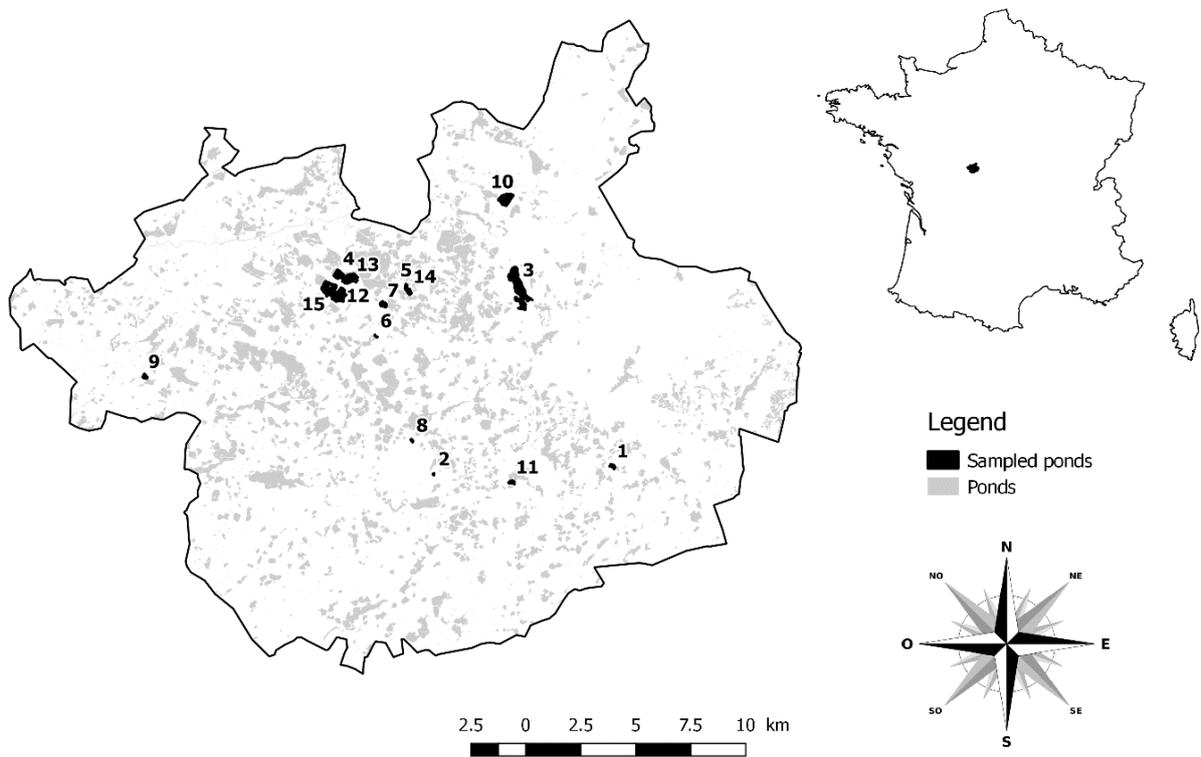


Figure 1. Map of the study sites and general situation of the Brenne area in France. Grey areas represent all the ponds of the area, while black areas represent the ponds sampled for the present study.

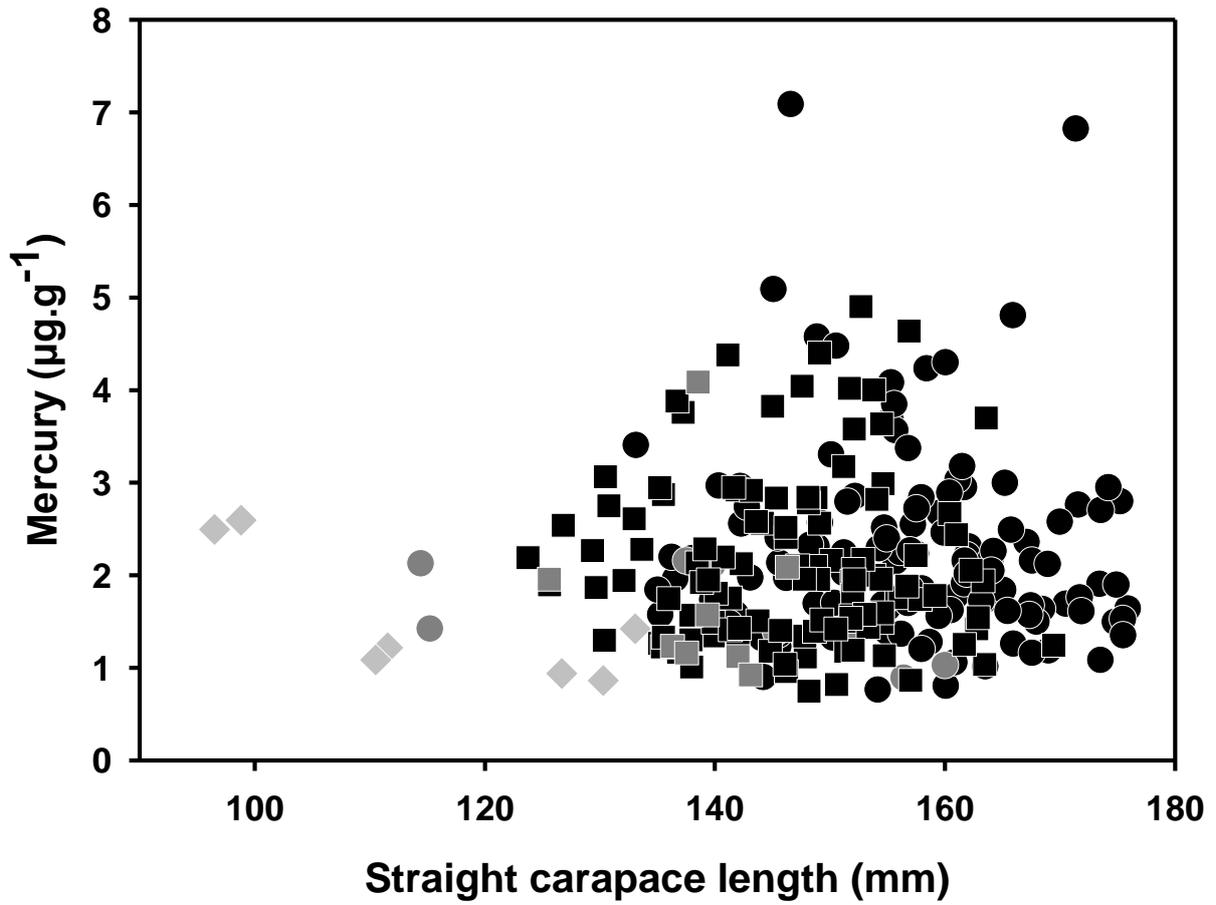


Figure 2. Relationship between turtle straight shell length (SCL) and Hg concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw). Symbols stand as follow: circles represent females, squares represent males, diamond represent unsexed individuals. Black symbols represent adults, while dark grey symbols stand for juveniles.

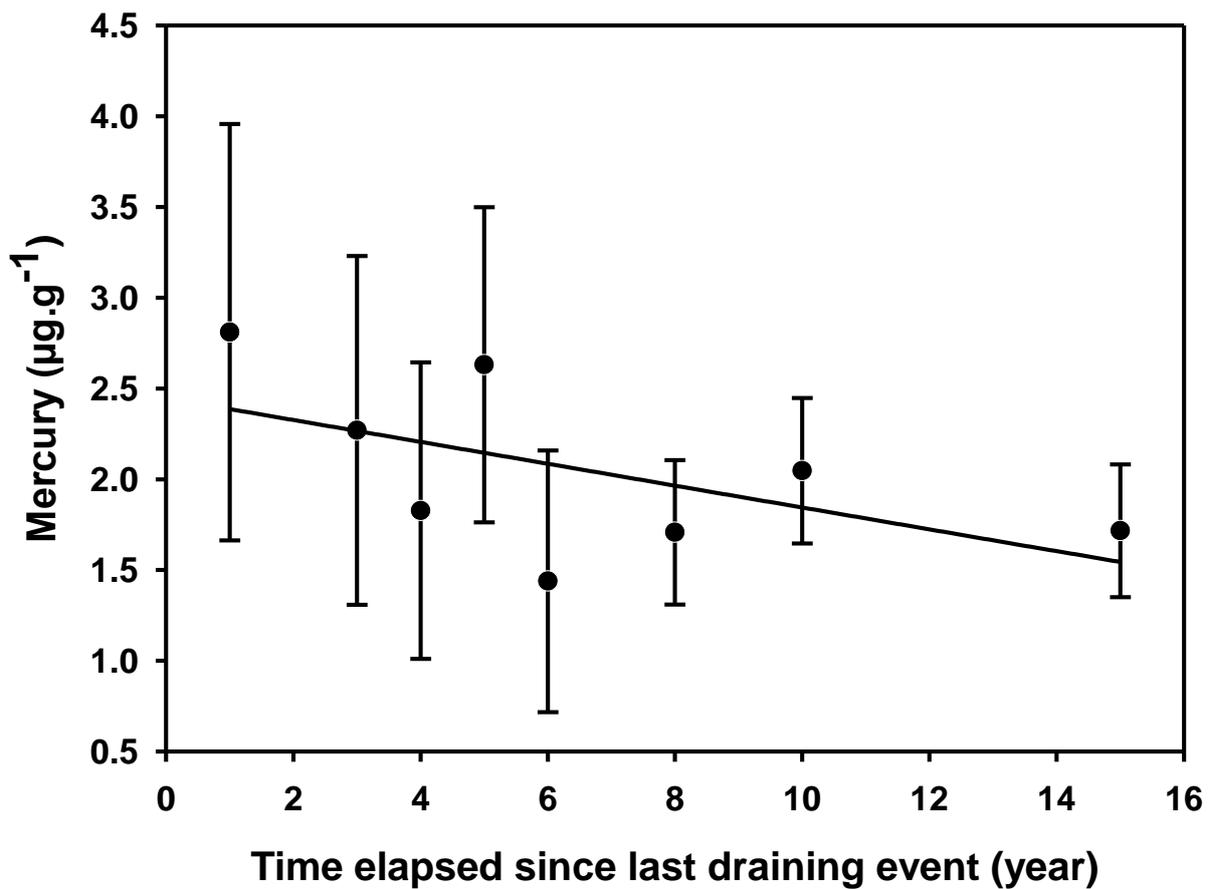


Figure 3. Relationship between the time since last draining event and Hg concentration ($r_s = -0.28$). For each site, Hg levels are given as the mean \pm SE ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw).

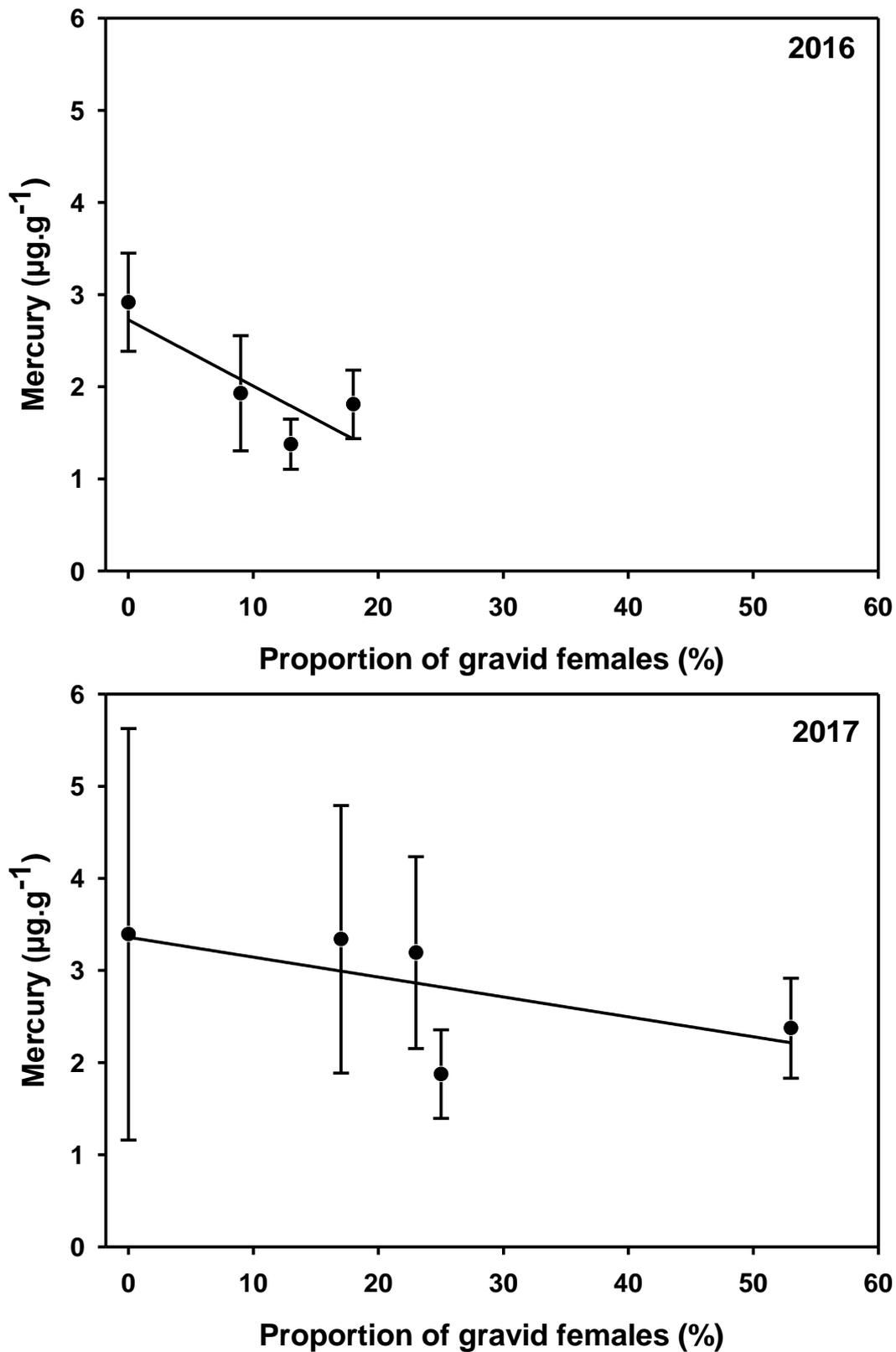


Figure 4. Relationship between the proportion of gravid females and Hg concentrations in adult females (year 2016 upper panel, $r_s=-0.50$, year 2017 lower panel, $r_s=-0.39$). For each site, Hg levels are given as the mean \pm SE ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw).