

Natacha Nikolic¹, Alexis Puech¹, Tiphaine Chauvelon², Catherine Munsch², Nathalie Bodin³, Christophe Brach-Papa², Michel Potier⁴, Wendy West⁵, Joël Knoery², Iker Zudaire^{3,6}, Zahirah Dhurmeea^{3,7}, Maxime Degroote⁴, Maria Cedras⁷, Hugues Evano¹, Jérôme Bourjea¹

- (1) IFREMER, La Réunion
- (2) IFREMER, Nantes
- (3) IRD, Seychelles
- (4) IRD, Sète
- (5) DAFF, Afrique du Sud
- (6) Iker Basque Fundation
- (7) University of Mauritius
- (8) SFA



Juin 2015 – RST/DOI/2015-09

Projet GERMON

Structure génétique et migration du thon Germon

Genetic stRucture and Migration Of albacore tuna
Structure génétique et migration du thon Germon



Rapport Final



PO FEP 2007-2013,
Volet Réunion, Axe 3, Mesure 3.6
Numéro de Convention :
Ref DMSOI : 39704/DMSOI/2013

Projet GERMON

Structure génétique et migration du thon Germon

Genetic structure and Migration Of albacore tuna

Structure génétique et migration du thon Germon

Fiche documentaire

Numéro d'identification du rapport RST/DOI/2015-09 : Diffusion : libre : <input checked="" type="checkbox"/> restreinte : <input type="checkbox"/> interdite : <input type="checkbox"/>		date de publication : Juin 2015 nombre de pages : 215 bibliographie : oui illustration(s) : oui langue du rapport : Fr
Validé par : Magali Duval – magali.duval@ifremer.fr Sophie Arnaud-Haond – s-arnaud@univ-montp2.fr Sylvain Bonhommeau – sylvain.bonhommeau@ifremer.fr		
Projet GERMON - Structure génétique et migration du thon Germon		
Contrat n°13/1210964/FAV1 Rapport intermédiaire <input type="checkbox"/> Rapport définitif <input checked="" type="checkbox"/>		
Responsables du projet: Natacha NIKOLIC (scientifique & administratif) Jérôme BOURJEA (administratif)	Organisme / Direction / Service, laboratoire Ifremer RBE/DOI Ifremer RBE/DOI	
Expertise thématique et scientifique : Natacha NIKOLIC (Génétique/Halieuistique/Biologie) Jérôme BOURJEA (Halieuistique/Biologie) Nathalie BODIN (Biologie/Chimie/Halieuistique) Michel POTIER (Biologie/Halieuistique) Catherine MUNSCHY (Chimie/Biologie) Christophe BRACH-PAPA (Chimie/Biologie) Tiphaine CHOUVELON (Chimie/Biologie) Alexis PUECH (Gestion des échantillons)	Ifremer RBE/DOI Ifremer RBE/DOI IRD/MARBEC – Seychelles IRD/MARBEC – Seychelles Ifremer RBE/BE/LBCO Ifremer RBE/BE/LBCM Ifremer RBE/BE/LBCM Ifremer RBE/DOI	
Rédaction du document : ACTION 1 : Natacha NIKOLIC selon le document 2014–WPTmT5-12 porté par Rui COELHO et Chris HEINEKEN ACTION 2 : Natacha NIKOLIC Alexis PUECH ACTION 3 : Natacha NIKOLIC Alexis PUECH ACTION 4 : Nathalie BODIN Michel POTIER Wendy WEST Degroote MAXIME Iker ZUDAIRE Zahirah DHURMEEA Maria CEDRAS Alexis PUECH Natacha NIKOLIC ACTION 5 : Catherine MUNSCHY Tiphaine CHOUVELON Christophe BRACH-PAPA Joël KNOERY Natacha NIKOLIC Autres chapitres : Natacha NIKOLIC Alexis PUECH Hugues EVANO Jérôme BOURJEA	Ifremer RBE/DOI IPMA – Portugal et CapFish – Afrique du Sud Ifremer RBE/DOI Ifremer RBE/DOI Ifremer RBE/DOI Ifremer RBE/DOI IRD/MARBEC – Seychelles IRD/MARBEC – Sète DAFF – Afrique du Sud IRD/MARBEC – Seychelles IkerBasque Foundation, IRD/MARBEC - Seychelles University of Mauritius; IRD/MARBEC - Seychelles SFA – Seychelles Ifremer RBE/DOI Ifremer RBE/DOI Ifremer RBE/BE/LBCO Ifremer RBE/BE/LBCM Ifremer RBE/BE/LBCM Ifremer RBE/BE/LBCM Ifremer RBE/DOI Ifremer RBE/DOI Ifremer RBE/DOI Ifremer RBE/DOI Ifremer RBE/DOI	

Cadre de la recherche : PO FEP 2007-2013, Volet Réunion, Axe 3, Mesure 3.6, Numéro de Convention : Ref DMSOI : 39704/DMSOI/2013; Ref Ifremer : IFR N°13/1210964/FAV1

Destinataire :

DMSOI, Service instructeur des fonds FEP/Réunion, COREPAM La Réunion.

Citation du document :

Nikolic N, Puech A, Chouvelon T, Munsch C, Bodin N, Brach-Papa C, Potier M, West W, Knoery J, Zudaire I, Dhurmeea Z, Degroote M, Cedras M, Evano H, Bourjea J. 2015. Rapport final du projet GERMON (GENetic stRucture and Migration Of albacore tuNna). DOI-2015-09

Résumé

Le projet GERMON avait plusieurs objectifs celui i) de comprendre la structure des populations du thon germon entre le Sud-ouest de l’océan Indien et Sud-est de l’Atlantique, ii) de déterminer la provenance (Atlantique vs Indien) des juvéniles observés en Afrique du sud, iii) d’améliorer les connaissances sur la biologie de l’espèce (clé Taille-Taille et Taille-Poids ; lieux de reproduction et d’alimentation ; liens trophiques) et iv) d’initier des travaux sur les analyses chimiques et l’adaptation de l’espèce à son environnement. Ces objectifs ont été tenus et les résultats permettent de mieux comprendre l’espèce pour une meilleure gestion. Une synthèse générale des résultats est présentée dans la partie 9.

Abstract

The GERMON project had several aims i) to understand the populations’ structure between albacore tuna southwest of the Indian Ocean and southeast Atlantic, ii) to determine the origin of juveniles observed in South Africa iii) to improve the understanding of the biology field (Size/Size and Size/Weight; reproduction and feeding area; trophic linkages) and iv) to initiate work on chemical analyzes and adaptation of the albacore species to its environment. These aims have been held and the results allow a better understanding of the management albacore. A general summary of results is presented in Part 9.

Mots-clés

Germon, *Thunnus alalunga*, génétique, stock, structure, connectivité, chimie, reproduction, alimentation, habitat

Words keys

Albacore, *Thunnus alalunga*, genetic, stock, structure, connectivity, chemical, reproduction, feeding behavior, habitat

1. OBJECTIFS DE L'ETUDE	7
2. LES PARTENAIRES	9
2.1. PARTENAIRES NATIONAUX	9
2.2. PARTENAIRES INTERNATIONAUX	10
3. ÉCHANTILLONNAGE	11
3.1. PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE	11
3.2. BILAN GENERAL DE L'ÉCHANTILLONNAGE	14
4. ACTION 1 - STANDARDISATION ET ANALYSE DES STATISTIQUES DE PECHE HISTORIQUE DE THON GERMON DE LA FLOTTILLE PALANGRIERE REUNIONNAISE	17
5. ACTION 2 – ACQUISITION DES DONNEES BIOMETRIQUES ET BIOLOGIQUES	21
5.1. CARACTERISTIQUES BIOMETRIQUES DES THONS GERMON ECHANTILLONNES	21
5.2. CLES TAILLE-TAILLE	24
5.2.1. Clés Taille-Taille à partir des captures réunionnaises	24
5.2.2. Clés Taille-Taille à partir des captures en Afrique du Sud	25
5.2.3. Clés Taille-Taille à partir des captures à La Réunion et en Afrique du Sud	26
5.3. CLES TAILLE-POIDS	28
5.3.1. Clés Taille-Poids à partir des captures des 3 zones d'échantillonnages (La Réunion, Seychelles et Afrique du Sud)	28
5.3.1.1. Courbe de tendance régressive en puissance	28
5.3.1.2. Courbe ajustée selon la forme NLS (moindres carrés non linéaires)	29
5.3.1.3. Comparaison des relations Taille-Poids entre zones	30
5.3.2. Clés Taille-Poids en fonction du sexe	32
5.3.2.1. Captures réunionnaises	32
5.3.2.2. Captures seychelloises	34
5.3.2.3. Captures en Afrique du Sud	34
5.3.2.4. Captures de l'ouest de l'océan Indien (La Réunion et les Seychelles)	35
5.3.2.5. Captures sur l'ensemble des zones (Réunion, Seychelles et Afrique du Sud)	36
5.3.3. Clés Taille-Poids en fonction de la saison	37
5.3.3.1. Captures réunionnaises	37
5.3.3.2. Captures seychelloises	37
5.3.3.3. Captures en Afrique du Sud	38
5.4. CONCLUSION	38
6. ACTION 3 – IDENTIFICATION DES LIENS EXISTANTS ENTRE LES STOCKS INDIEN ET ATLANTIQUE SUD ET IMPACT POTENTIEL SUR LA FLOTTILLE PALANGRIERE REUNIONNAISE	39
6.1. ANALYSES PAR LES SEQUENCES MITOCHONDRIALES	42
6.1.1. Descriptif technique	42
6.1.1.1. Acquisition des séquences d'ADN mitochondrial	42
6.1.1.2. Analyses des séquences obtenues	43
6.1.2. Résultats	44
6.1.2.1. Diversité génétique	44
6.1.2.2. Structuration génétique des germons dans le Sud-ouest de l'océan Indien	46
<i>Structuration en fonction des zones d'échantillonnage</i>	46
<i>Structuration en fonction des saisons par zone</i>	47
<i>Structuration en fonction du stade de maturité et du sexe</i>	49
6.2. ANALYSES PAR LES MARQUEURS MICROSATELLITES	51
6.2.1. Développement d'un panel de marqueurs microsatellites	52
6.2.2. Evaluation des liens existants entre océan Indien et Atlantique Sud et identification de l'origine des juvéniles de germon capturées en Afrique du Sud	54
6.2.3. Structure des populations	57
6.2.4. Diversité génétique	62
6.2.5. Biais sexuel	64
6.2.6. Histoire évolutive des populations de thon germon du Sud-ouest de l'océan Indien et le Sud-est de l'Atlantique	66
6.3. CONCLUSION	69

7. ACTION 4 – TESTS DES HYPOTHESES DE LIEUX DE NOURRICERIE ET DE REPRODUCTION	71
7.1. HYPOTHESE DU SITE DE REPRODUCTION	72
7.1.1. <i>Distribution des sex-ratios et des stades de maturité sexuelle macroscopiques</i>	72
7.1.2. <i>Suivi des indices de conditions</i>	74
7.1.2.1. Echantillonnage exploité et méthodologie	74
7.1.2.2. Evolution de la maturation des ovaires et des ovocytes	76
7.1.2.3. Périodes et zones de ponte	79
7.1.2.4. Variabilité des indices gonado- et hépato-somatique	80
7.1.2.5. Fécondité	81
7.1.2.6. Conclusion	82
7.2. HYPOTHESES DE LIEUX D'ALIMENTATION	82
7.2.1. <i>Echantillonnage et méthodologie</i>	83
7.2.1.1. Les contenus stomacaux	83
7.2.1.2. Les traceurs trophiques	84
<i>Contenu lipidiques et isotopes stables du carbone et de l'azote</i>	85
<i>Contenu protéinique</i>	86
7.2.2. <i>Résultats</i>	86
7.2.2.1. Contenus stomacaux	87
<i>Groupes proies</i>	88
<i>Espèces proies</i>	89
<i>Biodiversité</i>	90
<i>Taille des proies</i>	91
7.2.2.2. Les traceurs trophiques	93
<i>Caractéristiques des germes sélectionnés pour les analyses de traceurs trophiques</i>	93
<i>Variabilité des teneurs en lipide chez le germon de l'Ouest de l'océan Indien</i>	95
<i>Variabilité des signatures isotopiques en azote ($\delta^{15}N$) et carbone ($\delta^{13}C$) chez le germon de l'Ouest de l'océan Indien</i>	99
7.3. CONCLUSION	101
8. ACTION 5 – ÉTUDE PRELIMINAIRE DE LA STRUCTURE DU THON GERMON EN FONCTION DE SON HABITAT	103
8.1. NIVEAUX ET PROFILS DES PCBs ET DDTs EN FONCTION DES REGIONS	103
8.1.1. <i>Rappel des objectifs</i>	104
8.1.2. <i>Echantillonnage et méthodes analytiques</i>	104
8.1.2.1. Caractéristiques biologiques des poissons analysés pour les contaminants organiques	104
8.1.2.2. Analyses	106
8.1.3. <i>Assurance Qualité des résultats</i>	107
8.1.4. <i>Niveaux de contamination</i>	108
8.1.4.1. Contamination par les PCB	108
8.1.4.2. Contamination par les DDT	109
8.1.4.3. Normes sanitaires et environnementales	111
8.1.4.4. Comparaison des niveaux de contamination sur les deux zones A et B	112
8.1.4.5. Influence des taux de lipides totaux	114
8.1.4.6. Profils de contamination en PCB et DDT	115
8.1.4.7. Comparaison des deux zones : identification d'empreintes	117
8.1.5. <i>Conclusion</i>	118
8.2. NIVEAUX ET PROFILS DE CONTAMINATION EN ELEMENTS TRACES METALLIQUES (ETM)	119
8.2.1. <i>Rappel des objectifs</i>	121
8.2.2. <i>Echantillonnage et méthodes analytiques</i>	121
8.2.2.1. Procédures et méthodes analytiques	121
8.2.2.2. Assurance qualité des résultats	123
8.2.2.3. Traitement statistique des données	123
8.2.2.4. Caractéristiques biologiques des poissons analysés et traités statistiquement pour leurs teneurs en ETM	124
8.2.3. <i>Interprétation préliminaire des données</i>	126
8.2.3.1. Niveaux de contamination en ETM dans le muscle	126
8.2.3.2. Différence entre sexes, saisons, années et zones de capture	131
8.2.3.3. Normes sanitaires	136
8.2.3.4. Profils globaux de contamination en ETM et potentiel des ETM comme traceurs des populations de thon germon	137

8.2.4. Conclusion	139
8.3. MARQUEURS MICROSATELLITES « NON-NEUTRES »	140
8.3.1. Rappel des objectifs.....	140
8.3.2. Marqueurs microsattellites localisés sur des séquences codantes	140
8.3.2.1. Marqueur ThuAla-Tcell-01	141
8.3.2.2. Marqueur ThuAla-Hki-01	143
8.3.3. Marqueurs de la métallothionéine	143
8.3.3.1. Descriptif technique.....	144
8.3.3.2. Résultats préliminaires et futurs.....	145
8.3.4. Conclusion	145
9. SYNTHESE GENERALE	146
10. INDICATEURS DE PRODUCTION	148
11. BILAN FINANCIER DU PROJET.....	150
12. GLOSSAIRE.....	151
13. REFERENCES.....	156
14. REMERCIEMENTS.....	166
15. ANNEXES	167

1. Objectifs de l'étude

Dans les écosystèmes océaniques, les captures par les pêcheries commerciales industrielles mondiales ont drastiquement augmentées au cours de ces dernières décennies. Le constat de surexploitation de certains stocks de grands pélagiques (ex. le thon germon dans l'Atlantique Sud ; voir la revue Nikolic et al. 2016) pose la question de la viabilité des systèmes d'exploitation et des ressources. La pêche hauturière engendre en effet des prélèvements très importants en biomasse de prédateurs supérieurs. Parmi les espèces de thon les plus commercialisées, le thon germon (*Thunnus alalunga*) se situe au quatrième rang des captures commerciales mondiales. Il est également l'une des espèces la moins exploitée dans l'océan Indien parmi les thons majeurs (ex. *Thunnus obesus*, *Thunnus albacares*). Entre 2008 et 2012, les captures moyennes de thon germon dans cet océan étaient de 37 090 tonnes pour augmenter de 20% en 2013 (IOTC–WPTmT05 2014 ; Matsumoto et al. 2014). Dans la partie Ouest, l'exploitation du germon a débuté dans les années 1950. En 2013, plus de la moitié des prises totales de germon de l'océan Indien ont été débarquées dans cette zone (IOTC 2014). Cependant comme pour la majorité des grands pélagiques, les prises interannuelles de germon fluctuent beaucoup (Figure 1). Les captures de thon germon sont réalisées à 96% par la palangre, la senne représentant seulement 2% des prises et les 2% restant par les autres engins de pêche comme la canne et la traîne.

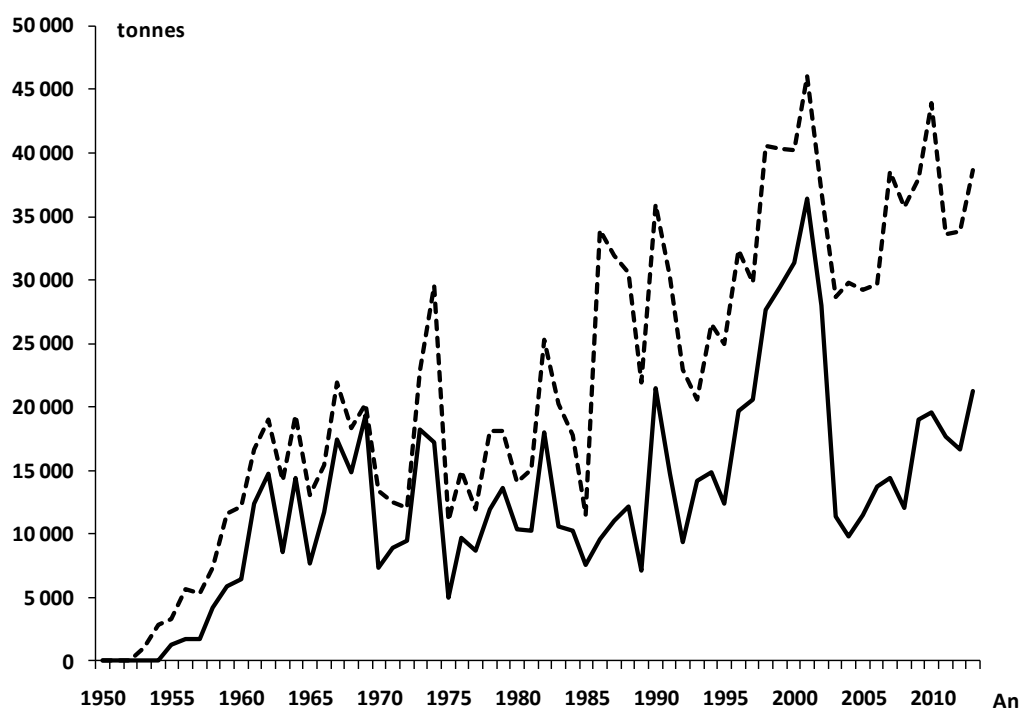


Figure 1. Evolution des prises annuelles de germon dans l'Ouest de l'océan Indien (trait continu) et dans l'ensemble de l'océan Indien (trait pointillé) de 1950 à 2013 (source CTOI via la base de données web, date : 25/06/2014).

Le thon germon est également l'espèce la plus pêchée par les palangriers réunionnais après l'espadon. Il a été estimé par la CTOI (Commission des Thons de l'Océan Indien) que la

mortalité par pêche en 2012 n'était pas soutenable à moyen terme (CTOI 2013), impliquant la nécessité de réfléchir à la mise en place de mesure de gestion pour cette espèce. L'état de son stock dans l'océan Indien a été estimé comme incertain par la CTOI (CTOI 2014). Ces mesures de gestion pourraient avoir des conséquences à court et moyen terme sur la filière palangrière réunionnaise qui n'est pas en capacité d'adapter son rayon d'action du fait de la taille de ses navires. Cependant, d'importantes incertitudes persistent sur ces évaluations, le thon germon étant l'espèce de grands pélagiques la moins étudiée dans l'océan Indien (Nikolic et al. 2016). Dans ce contexte, nous avons proposé de développer un programme de recherche sur le thon germon pour contribuer à améliorer la connaissance sur cette espèce afin de favoriser sa gestion soutenable et durable dans l'océan Indien. Les principaux enjeux de ce projet de recherche se sont déclinés en cinq actions principales :

A) Volet d'étude sur la biologie et les données de captures réunionnaises :

Action 1 – Standardisation et analyse des statistiques de pêche historique de thon germon de la flottille palangrière réunionnaise.

Action 2 – Acquisition de données biométriques et biologiques.

B) Volet d'étude sur la structure spatiale du germon - données génétiques, trophiques, énergétiques et chimiques :


Action 3 – Identification des liens existants entre les stocks Indien et Atlantique Sud et impact potentiel sur les captures réunionnaises.

Action 4 – Tests des hypothèses de lieux de nourricerie et de reproduction.

Action 5 – Étude préliminaire de la structure du germon en fonction de son habitat.


2. Les partenaires

2.1. Partenaires Nationaux

 **Ifremer**, Délégation de l'Océan Indien – DOI est à l'initiative du projet GERMON. La DOI a pour mission de coordonner des programmes de suivis et de surveillance, de développer et soutenir des projets de recherche, et d'élaborer des avis et expertises en matière de gestion durable des espaces maritimes. La DOI est le responsable du projet GERMON. Elle a mené et coordonné le projet dans sa globalité. Ses responsabilités ont été les suivantes :

- L'écriture du projet et de ses objectifs.
- La recherche des partenaires intervenant lors des phases d'échantillonnage et des composantes scientifiques du projet.
- La définition des termes de ces partenariats.
- La coordination des actions des différents partenaires lors des phases d'échantillonnage et d'analyse des échantillons.
- La réalisation des protocoles d'échantillonnage.
- L'échantillonnage de la zone réunionnaise.
- La réalisation des volets génétiques du projet incluant l'analyse des échantillons et le traitement des résultats.
- La réalisation du volet biométrique avec les analyses statistiques.
- La rédaction du rapport final du projet.

Correspondants directs : Natacha NIKOLIC, Jérôme BOURJEA, et Alexis PUECH.

 **Ifremer** Centre Atlantique de Nantes - Unité Biogéochimie et Ecotoxicologie BE (Nantes, France). L'unité BE a pour mission de conduire et de développer la recherche et l'acquisition des connaissances sur les cycles biogéochimiques des contaminants organiques et métalliques en milieu marin. Elle a également pour mission de mener l'observation et la surveillance de cette contamination chimique et de perfectionner ses outils. La finalité de ses activités est d'acquérir les connaissances scientifiques et les outils nécessaires aux évaluations d'impact et de risques écologiques liés à la contamination chimique, afin de promouvoir une gestion durable et intégrée des ressources marines. Dans le cadre de ce projet, les laboratoires de biogéochimie des contaminants organiques (LBCO) et métalliques (LBCM) de cette unité ont été responsables de l'acquisition des données sur la contamination chimique des thonidés et de leur interprétation conjointe avec l'ensemble des partenaires.

Correspondants directs : Catherine MUNSCHY (LBCO), Christophe BRACH-PAPA et Tiphaine CHOUVELON (LBCM).



IRD, UMR MARBEC – Institut de Recherche pour le Développement, Unité Mixte de Recherche MARBEC « Biodiversité marine et ses usages » (sites de Victoria aux Seychelles, et de Sète en France). L'IRD est un établissement public français ayant trois missions fondamentales :

recherche, expertise et formation. Créée en 2015, l'UMR MARBEC est une structure qui associe l'IRD, l'Ifremer, le CNRS et l'université de Montpellier II. L'objectif général de cette UMR concerne l'étude (i) de la biodiversité marine des écosystèmes lagunaires, côtiers et hauturiers à différents niveaux d'intégration, depuis les aspects moléculaires, individuels, populationnels et communautaires, et (ii) des usages de cette biodiversité par l'Homme. Son rôle dans le projet GERMON a été de réaliser l'analyse des traceurs trophiques et énergétiques. L'analyse des contenus stomacaux collectés dans le projet GERMON a été assurée par Michel Potier (agent IRD basé en France). Le suivi des autres traceurs a été réalisé par Nathalie Bodin (agent IRD basée aux Seychelles). Nathalie Bodin a également assuré, en collaboration avec la Seychelles Fishing Authority (SFA), l'échantillonnage des germes capturés dans la zone des Seychelles ainsi que l'analyse histologique pour l'étude de l'état de reproduction.

Correspondants directs : Nathalie BODIN et Michel POTIER.

2.2. Partenaires Internationaux



DAFF – Ministère de l'Agriculture, de la forêt et de la pêche, Département des pêches (Afrique du Sud). L'objectif de ce département du ministère est de maintenir, voire restaurer, la capacité de production de l'environnement marin dans la Zone Economique Exclusive (ZEE) Sud-africaine, tout en permettant une

optimisation de l'exploitation de ses ressources vivantes. Dans le cadre du projet GERMON, le DAFF a eu pour rôle de coordonner la collecte des échantillons dans les eaux Sud-africaines et en Atlantique Sud-est. Le DAFF a également assuré à ses frais la collecte à la débarque des échantillons de germes. Une convention de recherche a été signée entre la DAFF et l'IFREMER dans le cadre du projet GERMON.

Correspondants directs : Wendy WEST et Sven KERWATH.



CAPFISH (Afrique du Sud). CAPFISH est une entreprise privée qui gère entre autres le réseau d'observateurs de l'Afrique du Sud. Ses observateurs sont en activité sur toutes les flottilles semi industrielles ou industrielles évoluant dans les ZEE de l'Afrique du Sud. Son rôle dans le projet GERMON a été d'assurer la collecte d'échantillons de germes via des observateurs embarqués sur les palangriers Sud-africain et taïwanais. CAPFISH a assuré, en association avec le DAFF, l'échantillonnage de la zone Sud-est Atlantique, Sud-ouest océan Indien et Sud-est Atlantique.

Correspondant direct : Chris HEINEKEN.



SFA – Seychelles Fishing Authority (Seychelles). La SFA est l'établissement public Seychellois en charge du suivi et contrôle des pêches. Son rôle dans le projet GERMON a été d'assurer, en collaboration avec l'IRD aux Seychelles, l'échantillonnage des germes capturés dans la zone des Seychelles. La SFA a assuré également l'analyse histologique des germes dans le but de déterminer l'état de reproduction des individus.

Correspondant direct : Calvin GERRY.

3. Échantillonnage

3.1. Plan d'échantillonnage

Quatre zones d'échantillonnage ont été définies et attribuées à chacun des partenaires. L'Ifremer DOI a été en charge de la zone A, l'IRD/SFA de la zone B et le DAFF de la zone C et D (Figure 2).

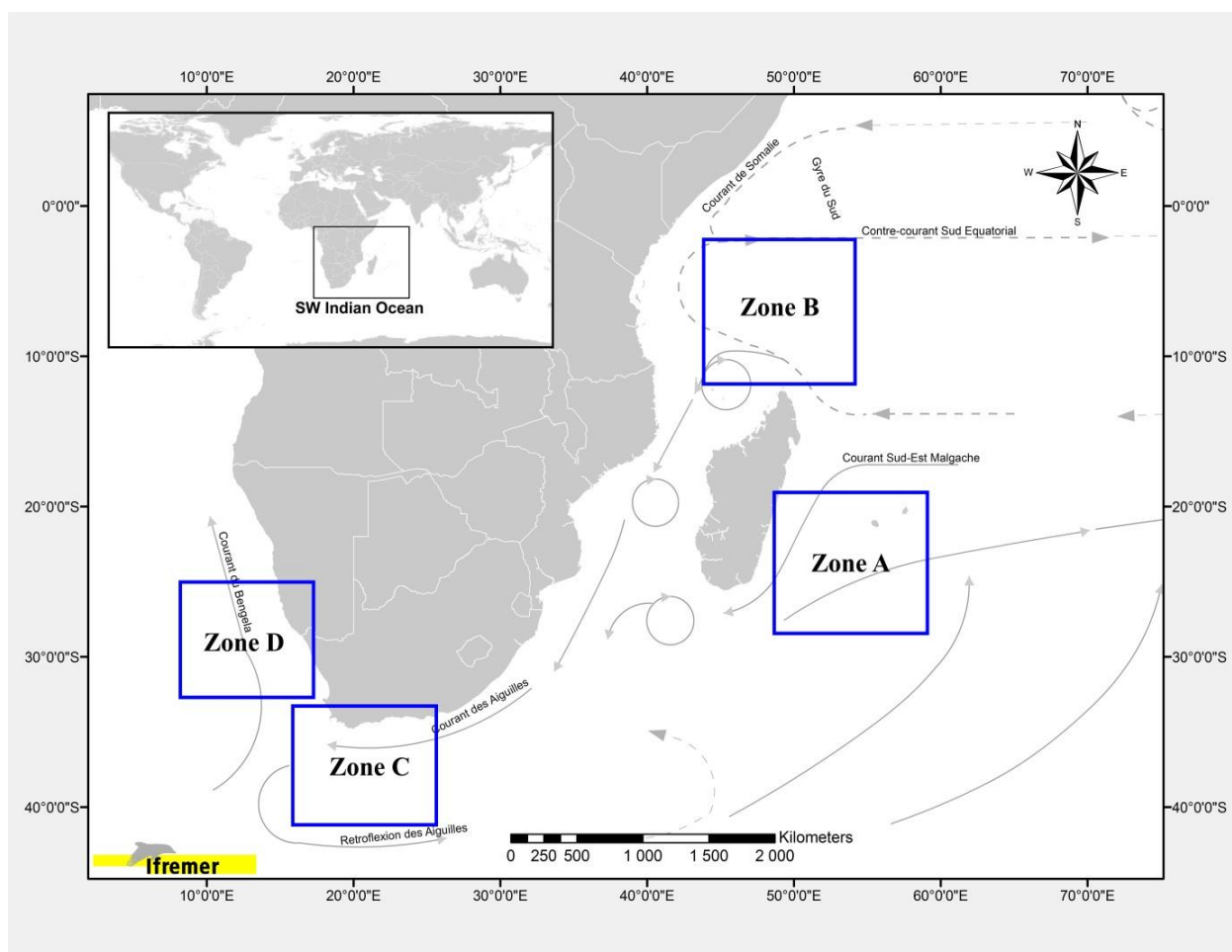


Figure 2. Localisation des 4 zones ciblées pour l'échantillonnage du projet GERMON. Les flèches représentent les principaux courants océaniques présents dans cette zone (courants d'après Schott et al. 2009).

Deux saisons d'échantillonnage ont été identifiées sur la base de la bibliographie existante sur la biologie du thon germon, et les saisons de reproduction et d'alimentation. La première saison, correspondant au pic supposé d'activité de reproduction, s'est étendue de novembre 2013 à janvier 2014. La seconde saison, correspondant à la période supposée d'alimentation, s'est étendue de mai à juillet 2014. En fonction des moyens en place, trois types de stratégies d'échantillonnage ont été utilisés :

- Dans les usines de transformation (IRD/SFA, DOI).

- Lors de campagnes professionnelles (DAFF), par le biais d'observateurs embarqués à bord de navires de pêche professionnels qui ont collecté les données et les échantillons.
- Lors d'une campagne scientifique dédiée au projet GERMON (DOI), durant laquelle deux personnes de la DOI ont embarqué sur un palangrier réunionnais. La zone de pêche était localisée au Sud de La Réunion (Figure 3 ; Annexe A = Résultats principaux de la campagne).

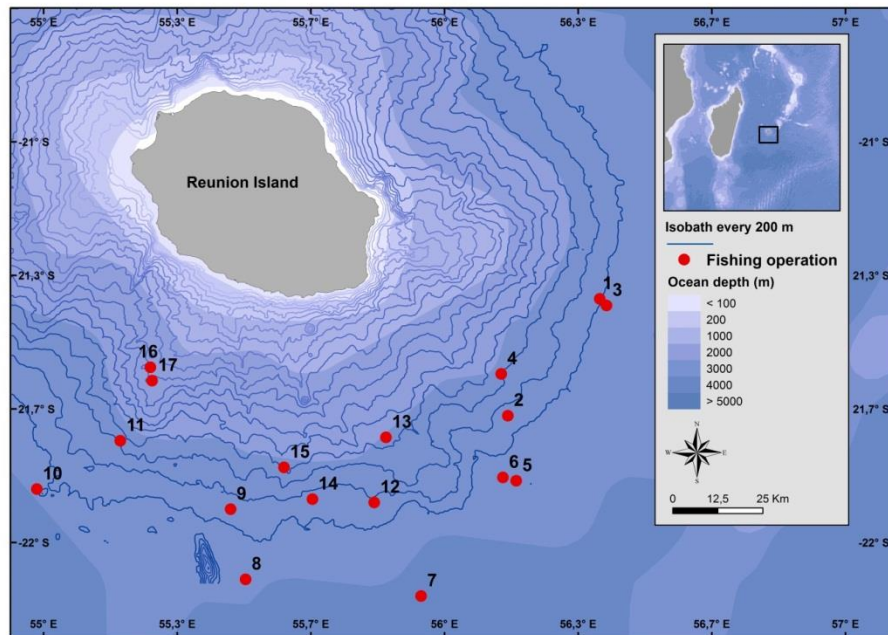


Figure 3. Localisation géographique (point rouge) des débuts de filages effectués pour capturer du thon germon lors de la campagne scientifique 2013 (Annexe A).

L'objectif global de l'échantillonnage sur le thon germon pour chacune des saisons et chacun des sites était de prélever 240 individus par zone avec des différences de prélèvements en fonction des actions (Tableau 1). Pour chacun des individus un panel de mesures et de prélèvements a été identifié suivant l'ordre de priorité suivant : (1) mesure biométrique du thon germon (Longueur Fourche – LF et Pectorale Fourche – LPF et poids) ; puis prélèvements (2) des tissus musculaires (génétique, isotope, traceur chimique, protéine/lipide), (3) des gonades (sexage, maturité), (4) du foie (protéine/lipide), (5) de l'estomac, (6) et des otolithes (Figure 4).

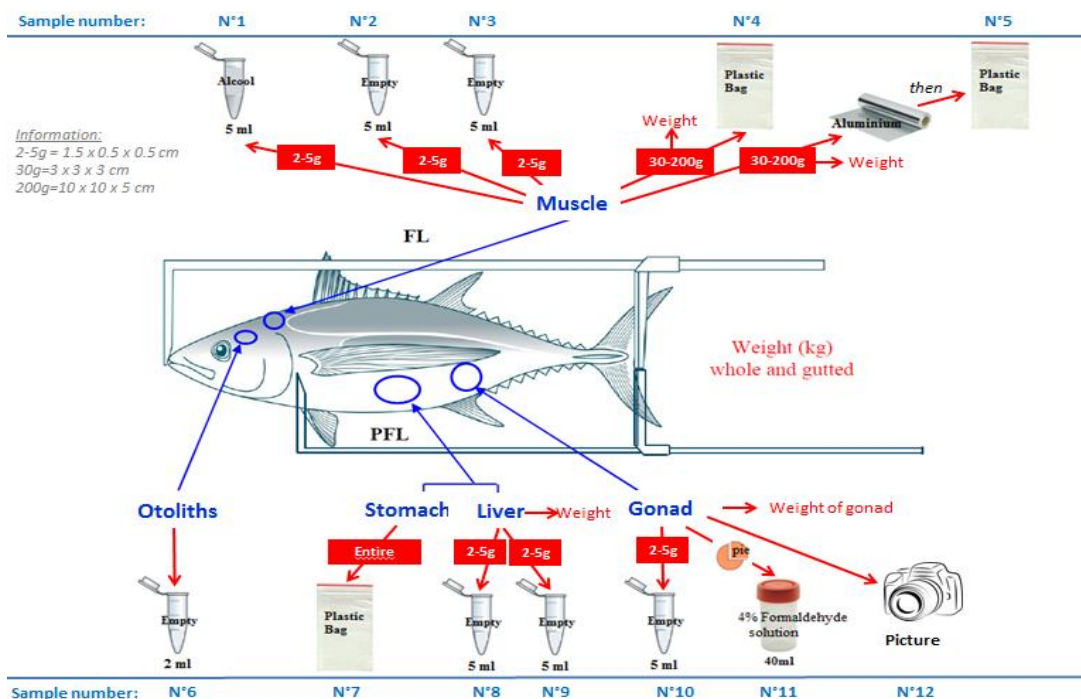


Figure 4. Mesures et prélèvements réalisés sur l'ensemble des poissons échantillonnés.

Suite à des réunions de préparation du projet GERMON, les besoins en échantillons par poisson pour les différents types d'approches scientifiques du projet ont été quantifiés et sont résumés dans le Tableau 1.

Tableau 1. Résumé du nombre prévisionnel de germons à échantillonner par type d'approche et par type de traceurs.

Mesures/traceurs	Saison	Zone	Nombre d'individus à échantillonner par saison et par zone	Tissu échantillonné	Nombre total de mesures/analyses
Biométrie & condition	1,2	A,B,C,D	240		1920
Histologie/Sexage	1,2	A,B,C,D	240	Gonades (N°10)	1920
Génétique					
- Marqueurs neutres	1,2	A,B,C,D	240	Muscle (N°1)	1920
- Marqueurs codants	1,2	A,B,C,D	240	Muscle (N°1)	1920
Trophique & Energétique :					
- Contenus stomacaux	1,2	A,B,C,D	50	Estomac (N°7)	400
- Isotopes stables	1,2	A,B,C,D	50	Muscle (N°2), foie (N°8)	800
- Protéines, lipides	1,2	A,B,C,D	50	Muscle (N°3), foie (N°9)	800
Chimique :					
- Traceurs métalliques	1,2	A,B,C,D	50	Muscle (N°4)	400
- Traceurs organiques	1	A,B,C,D	22	Muscle (N°5)	88

3.2. Bilan général de l'échantillonnage

Un total de 1902 thons germon a été échantillonné au sein des quatre zones d'études (Figure 5). Parmi ces échantillons, 1879 ont été destinés aux analyses génétiques afin d'atteindre l'objectif d'échantillonnage du projet GERMON (Tableau 2 ; Tableau 3).

Tableau 2. Bilan par zone et par saison des mesures effectuées sur chacun des thons germon échantillonnés (LF = Longueur à la fourche ; LPF = Longueur Pectorale Fourche).

Zone	Pêcherie	Saison	Nombre d'individus	Nombre de mesures				
				LF	LPF	Poids		
						Total	Gonade	Foie
La Réunion (A)	Palangrier de surface	1	236	233	236	20	234	227
	Palangrier de surface	2	230	228	228	216	187	188
			466	461	464	236	421	415
Seychelles (B)	Senneur	2 (2013)	240	240	0	240	117	124
	Senneur	2 (2014)	245	245	0	245	237	238
			485	485	0	485	354	362
Afrique du Sud (C)	Canne et traîne	1	327	327	131	131	129	129
	Canne et traîne	2	276	276	172	172	170	172
			603	603	303	303	299	301
Sud-est Atlantique (D)	Palangrier de surface	1	157	157	0	0	0	0
	Canne et traîne	2	191	191	0	0	0	0
			348	348	0	0	0	0
	Total		1902	1897	767	1024	1074	1078

Tableau 3. Bilan par zone du nombre de prélèvements effectués sur chacun des thons germon échantillonnés. Les pêcheries sont les mêmes que dans la Table 1.

Zone	Saison	Génétique	Isotope		Traceur		Otolithe	Estomac	Lipide/Protéine		Gonade	
			Muscle	Foie	Organique	Métallique			Muscle	Foie	Histologie	Photo
La Réunion (A)	1	236	226	234	224	224	224	221	226	234	223	236
	2	230	230	188	230	230	224	223	230	188	229	229
			466	456	422	454	454	448	444	456	422	452
Seychelles (B)	2 (2013)	233	113	113	52	29	0	113	113	113	118	0
	2 (2014)	233	207	202	100	100	34	236	207	202	203	120
			466	320	315	152	129	34	349	320	315	321
Afrique du Sud (C)	1	323	130	130	124	126	129	130	130	130	38	131
	2	276	172	172	172	172	171	172	172	172	47	151
			599	302	302	296	298	300	302	302	302	85
Sud-est Atlantique (D)	1	157	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	191	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			348	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	1879	1078	1039	902	881	782	1095	1078	1039	858	867

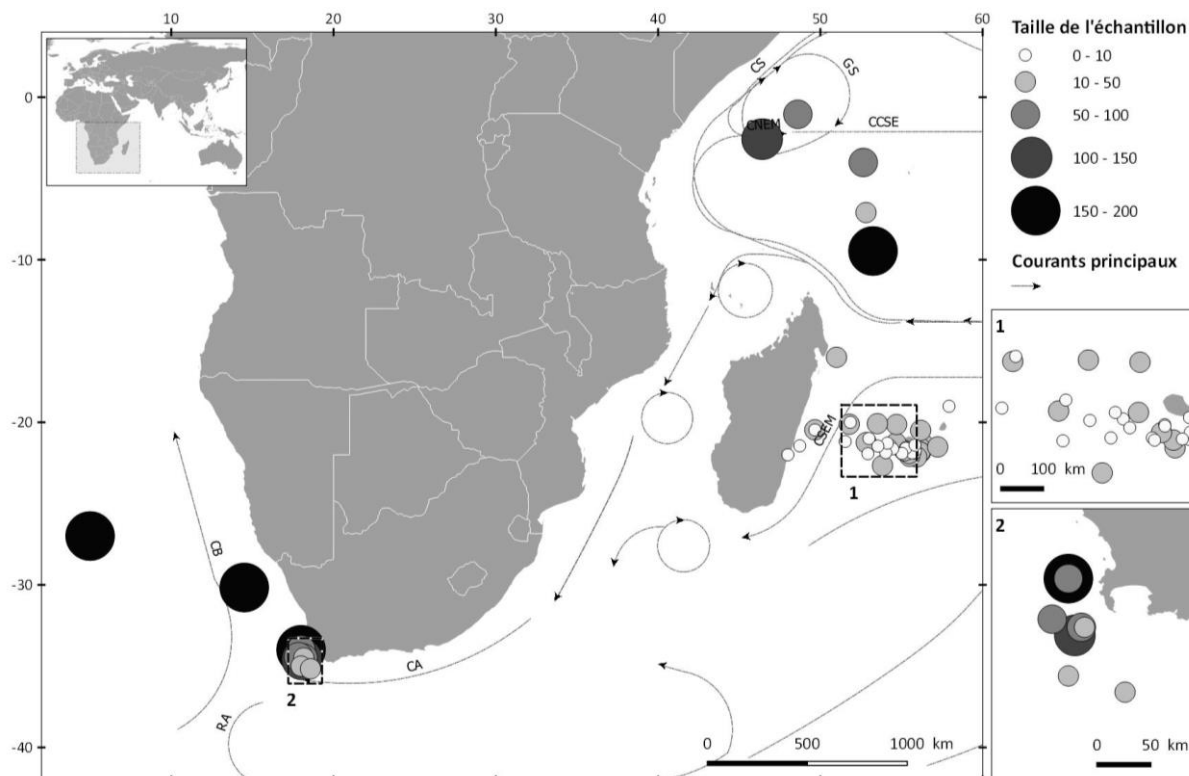


Figure 5. Localisation géographique des thons germons capturés (en nombre d'individus) au cours du projet GERMON. Plus le diamètre du cercle est grand et la teinte est foncée, plus le nombre de germons capturés est élevé (courants d'après Schott et al. 2009 : CB = Courant du Bengale ; RA= Rétroflexion des Aiguilles ; CA = Courant des Aiguilles ; CCSE = Contre-courant Sud Equatorial ; CSEM = Courant Sud-Est Malgache ; CS = Courant de Somalie ; GS = Gyre de Somalie).

En bilan, le nombre d'échantillons collectés prévisionnel est présenté dans la Tableau 1 et celui collecté dans la Tableau 2. Nous pouvons ainsi conclure que l'échantillonnage et les analyses ont été très satisfaisants pour répondre aux questions posées. Nos partenaires ont été confrontés à des problèmes d'échantillonnage qui peuvent se résumer en 2 points :

- **La zone D (Sud-est Atlantique) est la seule zone dans laquelle les prélèvements n'ont pas pu être réalisés dans leur totalité** (Tableau 2 ; Tableau 3). **Seules les mensurations (LF) et la collecte d'échantillons génétiques ont pu être réalisées.** En effet, si le DAFF a pu acheter les poissons entiers pour la zone C afin d'assurer l'ensemble des échantillonnages individuels, elle n'a pu le faire pour les poissons capturés en zone D car ces derniers n'ont pas été vendus au partenaire industriel avec qui elle avait un accord. Néanmoins, il est important de prendre en considération que pour la bonne réalisation du volet génétique et biométrique au sein de ce projet, le DAAF a réussi à prélever aux débarquements des palangriers des échantillons de nageoires et à réaliser les mesures de longueur des poissons. Lors de la saison 1, 85 germons identifiés au départ comme ayant été capturés dans la zone D, ont été en réalité pêchés dans une zone de pêche trop proche de la zone C pour pouvoir être maintenu en zone D. Ainsi, 157 individus, et non 244, ont été retenus pour la zone D en saison 1.

- **L'échantillonnage par saison pour la zone B (Seychelles) a été problématique du fait de l'accessibilité des germes en saison 1.** En effet, les partenaires (IRD/SFA) sur place avaient accès seulement aux germes capturés par la pêcherie à la senne de thons tropicaux. Les captures de germe par cette pêcherie sont occasionnelles et fortement dépendantes d'une part des zones de pêche ciblées par les senneurs (s'étendant du nord-ouest de l'océan Indien dans les eaux somaliennes, au sud-ouest dans le Canal du Mozambique, selon le cycle de migration des thons tropicaux), et d'autre part des conditions environnementales qui influent sur la présence des germes dans les eaux tropicales Seychelloises. Nous n'avons donc malheureusement pas eu accès à des individus de la saison 1 aux Seychelles (zone B) du fait de l'absence de débarquement de cette espèce par les senneurs. Cependant, il a été possible pour l'IRD/SFA de réaliser deux échantillonnages à la même saison (Mai/Juillet **saison 2**) sur deux années différentes : **B2₂₀₁₃** et **B2₂₀₁₄**.

Du fait de ces 2 principaux biais, nous avons dû procéder à certains ajustements « d'échantillonnage ». Ainsi, concernant le prévisionnel pour les analyses des traceurs organiques qui se focalisent sur la saison 1, il manquait les échantillons de la zone B (n = 22) et D (n = 22), soit 44 échantillons. Nous avons donc augmenté le nombre d'échantillons de la zone A et C à 44 au lieu de 22 pour chacune des zones.

De même, comme seuls les prélèvements pour la génétique ont pu être récupérés dans la zone D, 15 échantillons supplémentaires par zone (A, B, C) et par saison (1,2) ont été collectés pour les analyses organiques/inorganiques, isotopiques et lipidiques.

4. Action 1 - Standardisation et analyse des statistiques de pêche historique de thon germon de la flottille palangrière réunionnaise

Le thon germon a été classé par mesure de précaution comme espèce vulnérable (orange) en 2013 et non surexploité (en vert) en 2014 dans l’océan Indien par la CTOI (IOTC–WPTmT05 2014). Cependant, les estimations sur l’état du stock restent encore trop imprécises pour valider ou non le statut réel de ce stock dans l’océan Indien. A ce jour, les évaluations de ce stock sont principalement réalisées à partir des séries de données historiques de captures et d’efforts Taïwanaises et Japonaises. Ces données sont ensuite standardisées en un indice, les captures par unité d’effort (CPUE) standardisée. Compte tenu du fait que le germon est la seconde espèce capturée par les palangriers réunionnais, que ceux-ci opèrent dans le Sud-ouest de l’océan Indien (zone de forte capture de cette espèce) et qu’il existe une série historique de capture pour cette flottille (1992-2014), il était important que les données réunionnaises soient standardisées pour :

- estimer la réalité de l’évolution des rendements des palangriers réunionnais, notamment ces 5 dernières années,
- compléter la série de données actuellement exploitées par la CTOI pour les évaluations de ce stock.

La standardisation des données réunionnaises a consisté à prendre en compte l’influence d’un certain nombre de facteurs (l’effet année, mois, zone de pêche et caractéristique de navires) sur la variabilité des captures de thon germon sur ces années. Cependant, les données en 1992 et 1993 n’étant pas suffisamment nombreuses (18 et 80 opérations de pêche respectivement contre 542 en 1994 et plus de 1000 les autres années), elles n’ont pas été intégrées au modèle. De plus, les données manquantes de 2001 à 2004 n’ont pas permis d’analyser la série de données en continue. Les données de 2014 ont seulement été utilisées pour les analyses sur la taille des individus car l’ensemble de l’information nécessaire au modèle n’était pas disponible.

Ce travail a permis dans un premier temps de caractériser la pêcherie palangrière réunionnaise sur la base de ces CPUE standardisées sur la période de 1994-2013 (Figure 6) et de 2001 à 2014 selon la composition en taille (Figure 7). On constate globalement que les captures de thons germon sont les plus importantes d’octobre à décembre et qu’elles sont constituées d’individus adultes de grande taille.

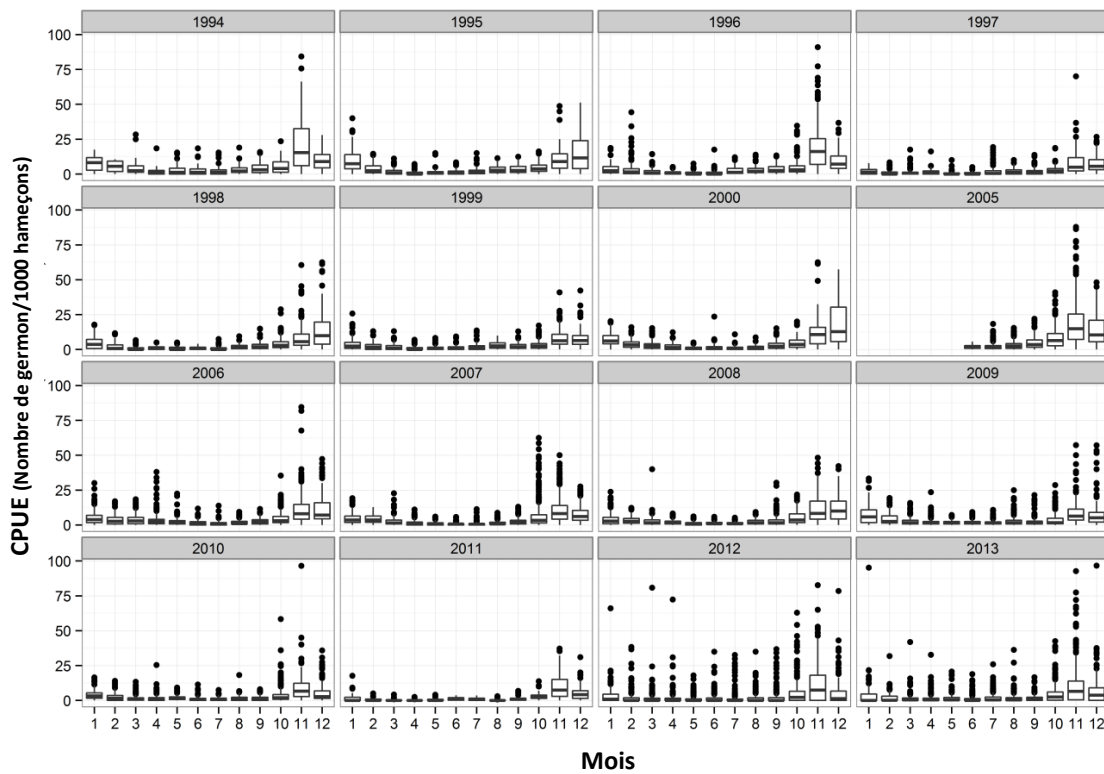


Figure 6. CPUE nominale mensuelle du thon germon capturé par la flottille palangrière réunionnaise de 1994 à 2013.

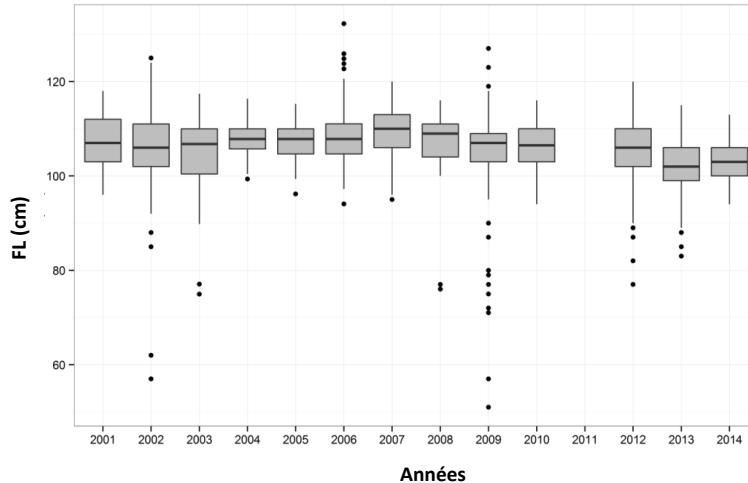


Figure 7. Captures par taille (longueur à la fourche, FL (cm)) de thon germon par année.

Les analyses spatiales ont également permis d'avoir une vision globale des principaux secteurs d'exploitation historique de la pêche palangrière réunionnaise. Elles ont ainsi confirmé que la principale région d'activité historique de cette flottille était autour de La Réunion où se concentrent la majorité de l'effort de pêche (nombre d'hameçons par set) (Figure 8). Le détail des analyses est présenté dans l'Annexe B.

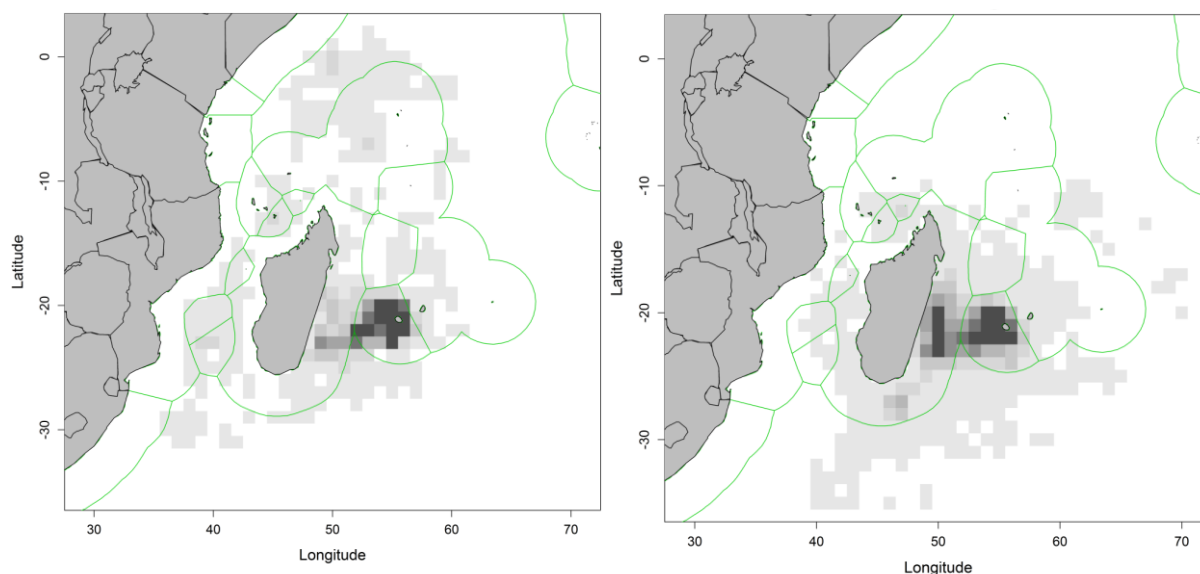


Figure 8. Distribution de l'effort de pêche (nombre d'hameçons par set) de la flottille palangrière réunionnaise de 1992-2001 (gauche) et 2005-2013 (droite) par carré statistique de 1 degré de latitude et longitude. Plus la couleur est foncée et plus les captures de germon sont importantes.

Les CPUE standardisées (normalisées) ont été calculées par nombre d'individus pour 1000 hameçons en utilisant des modèles linéaires généralisés (GLM). Ces modèles ont ensuite été comparés par analyse de sensibilité. Les résultats présentés dans l'Annexe B sont ceux du meilleur modèle (Tweedie) sur les données de 1994-2000 et 2005-2013 sur la région nommée « REU core region » (zone foncée ; Figure 8). Les facteurs utilisés dans ce modèle ont été : Années + Mois + Localisation + Bateau + Mois:Localisation. Ce modèle a permis de reconstruire les CPUE standardisées (Figure 9).

Les résultats indiquent des fluctuations et une baisse récente des CPUE (de 1,8 à 0,8 kg/1000 hameçons) sur la seconde période (2005-2007). Cette diminution est un des indicateurs de la baisse de biomasse en germon mais n'est probablement pas causée par la pêche réunionnaise. En effet, la contribution de la pêche réunionnaise à l'effort total dans le Sud-ouest de l'océan Indien reste modérée par rapport à celle des autres flottilles en activités dans la région (Espagne, Taiwan, Japon ; IOTC-WPTmT05 2014). Ce travail a abouti à la production d'un article de Rang B (cf. Annexe B).

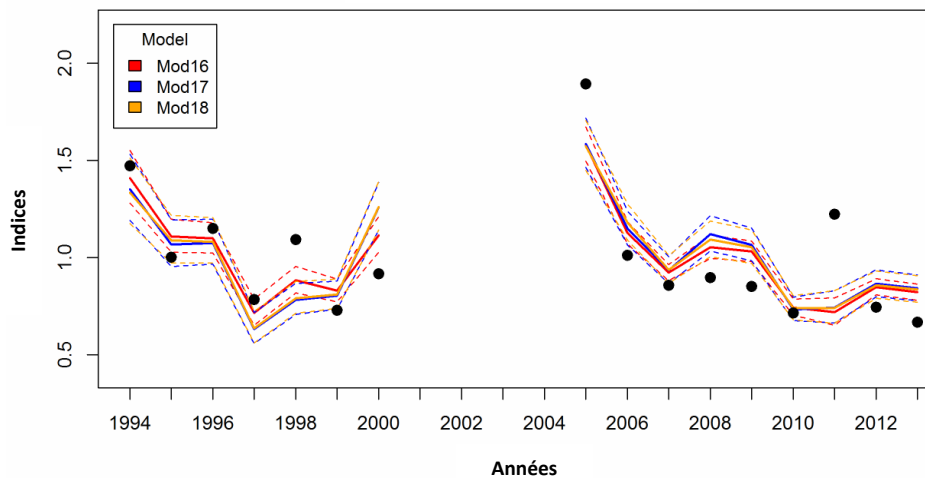


Figure 9. CPUE standardisées sur la période de 1994 à 2000 et 2005 à 2013. Les points noirs sont les CPUE nominales. Les lignes pleines sont les indices annuels mis à l'échelle de l'abondance selon les différents modèles, le meilleur modèle étant en orange (pour plus de détails, cf. Annexe B). Les lignes en pointillées sont les intervalles de confiance à 95%.

5. Action 2 – Acquisition des données biométriques et biologiques

Les campagnes scientifiques, les embarquements à bord de navires de pêche, les débarquements à terre et les partenariats avec les Seychelles et l’Afrique du Sud, ont permis de récolter des données biométriques et biologiques sur cette espèce. Cette acquisition des données a permis d’éclaircir un certain nombre de points sur la biologie de cette espèce notamment les relations Taille-Taille, Taille-Poids, et la répartition spatiale du sex-ratio et de la maturité sexuelle. Cependant les relations Taille-Taille ont pu être établies seulement pour la zone A (La Réunion) et C (Afrique du Sud) car les données de la longueur totale à la fourche (LF) n’ont pu être collectées pour la zone B (Seychelles) et D (Sud-est Atlantique) (voir paragraphe 3.2). L’ensemble des analyses statistiques ont été réalisées à partir du logiciel R 3.0.2.

5.1. Caractéristiques biométriques des thons germon échantillonnés

Un modèle linéaire généralisé a été utilisé pour analyser les données, qui au regard de la distribution des résidus montre sa robustesse (Annexe C). Les points aberrants en faible nombre (pas plus d’une dizaine en fonction des analyses) ont été retirés.

Ainsi, l’analyse spatiotemporelle de la structure en taille (analyses sur les moyennes Fréquentiste et en modèle linéaire) a permis de confirmer que les germons sont significativement (test Anova sur un modèle GLM) plus grands autour de La Réunion (zone A) et des Seychelles (zone B) qu’en Afrique du Sud (zone C) et au Sud-est Atlantique (zone D) (Figure 10 a et b). En outre, si on considère que les germons sont matures dès qu’ils atteignent une LF de 90 cm (Bard 1981), les germons autour de l’Afrique du Sud (zone C) peuvent être considérés en majorité comme des juvéniles, et ceux autour de La Réunion (zone A) et des Seychelles (zone B) comme des individus matures (adultes). Ces résultats ont été confirmés par les analyses des gonades (Voir paragraphe 7.1.2 ci-dessous).

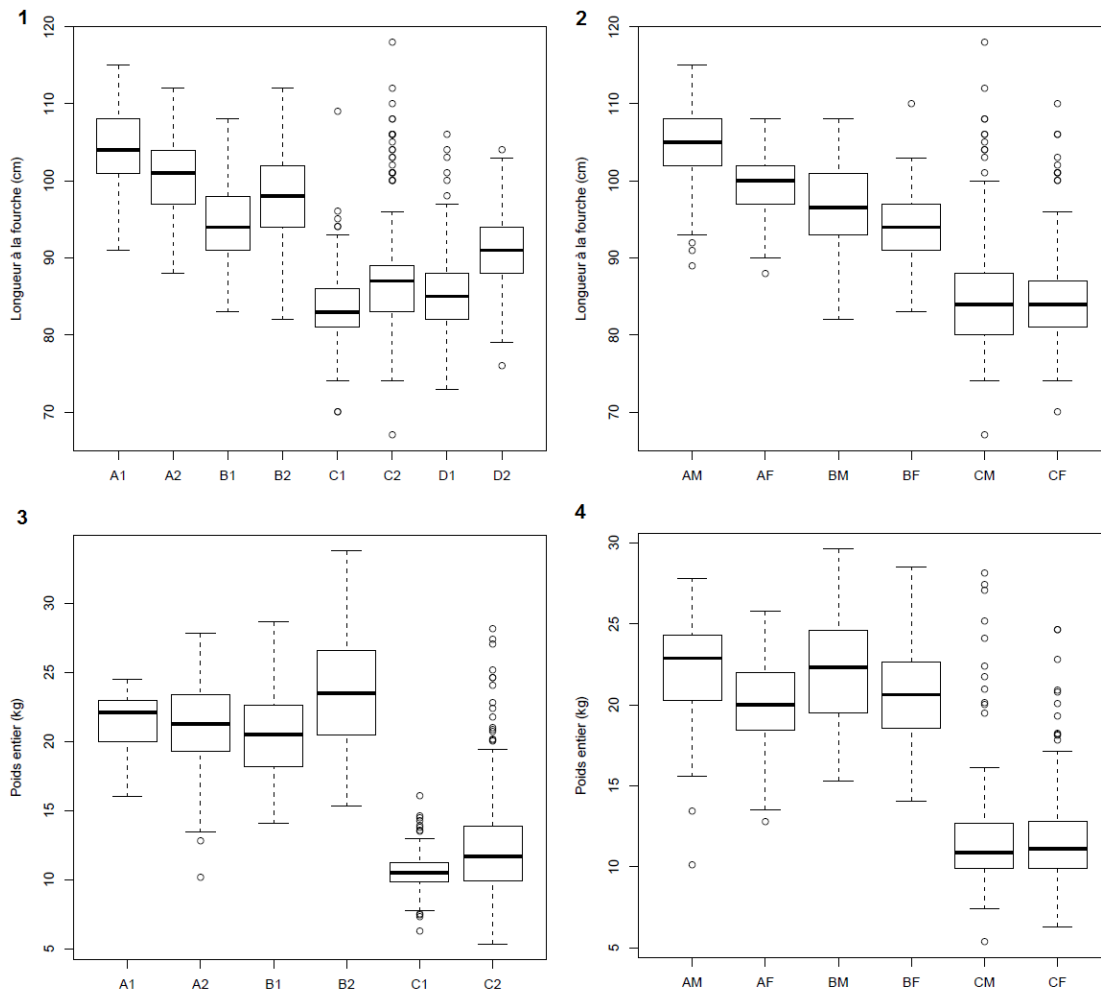


Figure 10. Boîtes à moustache des longueurs à la fourche (cm) (1 et 2) et des poids entiers (kg) des thons germons (3 et 4) en fonction des zones (A, B, C, D), des saisons (1, 2) et du sexe (M = mâle ; F = femelle).

Tableau 4. Moyennes et écart-types des longueurs à la fourche (cm) et les poids entiers (kg) des thons germon en fonction des zones (A, B, C, D), des saisons (1, 2) et du sexe (M = mâle ; F = femelle).

Zone	Saison	Longueur à la fourche			Poids entier		
		N	Moyenne (cm)	Ecart-type (cm)	N	Moyenne (kg)	Ecart-type (kg)
A	1	233	104,1	4,4	20	21,5	2,2
A	2	228	100,5	4,6	216	21,2	3,2
B	1	245	94,2	4,6	245	20,6	2,9
B	2	240	98,3	5,7	245	23,7	3,8
C	1	327	83,6	4,5	131	10,6	1,6
C	2	276	86,9	6,9	172	12,7	4,2
D	1	157	85,5	5,7			
D	2	191	91,1	5,1			

Zone	Saison	Longueur à la fourche			Poids entier		
		N	Moyenne (cm)	Ecart-type (cm)	N	Moyenne (cm)	Ecart-type (cm)
A	M	274	104,5	4,4	129	22,3	3,1
A	F	187	99,1	3,6	107	20	2,5
B	M	176	96,5	4,9	176	22,3	3,3
B	F	182	93,8	4,5	182	20,6	2,9
C	M	146	85,5	7,9	146	10,9	3,8
C	F	154	84,9	6,9	154	11,1	3,2

Tableau 5. Résultats de la significativité des comparaisons (test ANOVA) deux à deux pour les quatre modèles linéaires généralisés réalisés. **1** = taille en fonction de la zone et de la saison ; **2** = taille en fonction de la zone et du sexe ; **3** = poids en fonction de la zone et de la saison ; **4** = poids en fonction de la zone et du sexe. Le seuil de significativité choisi est $\alpha = 0,05$.

1	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1
A2	<0,001	-	-	-	-	-	-
B1	<0,001	<0,001	-	-	-	-	-
B2	<0,001	0,019	<0,001	-	-	-	-
C1	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	-	-	-
C2	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,011	-	-
D1	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,134	0,513	-
D2	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

2	AM	AF	BM	BF	CM
AF	<0,001	-	-	-	-
BM	<0,001	0,011	-	-	-
BF	<0,001	0,019	0,007	-	-
CM	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	-
CF	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,879

3	A1	A2	B1	B2	C1	C2
A2	<0,001	-	-	-	-	-
B1	<0,001	0,082	-	-	-	-
B2	<0,001	<0,001	<0,001	-	-	-
C1	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	-	-
C2	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,003	-

4	AM	AF	BM	BF	CM
AF	<0,001	-	-	-	-
BM	<0,001	<0,001	-	-	-
BF	<0,001	0,324	0,002	-	-
CM	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	-
CF	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,928

Concernant les différences à l'intérieur même des zones d'échantillonnage entre les saisons (Figure 10 ; Tableau 4 ; Tableau 5), les germons pêchés en hiver austral sont plus grands que ceux pêchés en été austral (de novembre à janvier), excepté pour La Réunion (zone A) où la tendance est inversée. Les résultats indiquent que les germons de La Réunion (zone A) sont significativement plus grands que ceux des Seychelles (zone B). Ce résultat pourrait aussi provenir des pêcheries différentes entre les deux zones. Enfin concernant les germons d'Afrique du Sud (zone C) et du Sud-est Atlantique (zone D), on note qu'il n'y a aucune différence de taille entre les individus du Sud-est Atlantique (zone D) de la saison 1 et ceux d'Afrique du Sud (zone C) pour les deux saisons.

Au regard des tailles en fonction du sexe des individus, on observe que les mâles sont systématiquement plus grands que les femelles (Figure 10 ; Tableau 4), sauf en Afrique du Sud (zone C) où les tailles sont identiques. Le fait que les mâles soient plus grands que les femelles à La Réunion (zone A) et aux Seychelles (zone B) n'est pas un résultat surprenant. En effet, plusieurs études ont déjà montrées que peu de femelles de thon germon dépassent une longueur à la fourche de 100cm (Postel 1964; Bard 1981). Ceci serait dû à une croissance asymptotique et une mortalité naturelle différentes des mâles. D'ailleurs, au regard de l'étude de Bard (1981) et de Liorzou (1989), il semblerait que cette plus forte mortalité surviendrait juste après leur première reproduction.

Concernant les analyses des poids entiers des thons germon (Figure 10 ; Tableau 4 ; Tableau 5), on observe des résultats très similaires aux analyses sur les tailles. En effet, tout comme pour les tailles, c'est autour de La Réunion (zone A) et des Seychelles (zone B) que les germons les plus lourds sont retrouvés. De même, ce sont les mâles de thon germon qui sont plus lourds que les femelles. Par contre, un résultat étonnant est observé, notamment au niveau des germons des Seychelles (zone B). En effet au regard des tailles, ceux-ci sont plus petits que les germons de La Réunion (zone A), cependant au vu de leurs poids ils sont dans l'ensemble plus lourds que les germons de La Réunion (zone A). Ce résultat indiquerait une prise de poids des germons plus importante aux Seychelles (zone B) et au vu de nos connaissances actuelles, la région seychelloise serait une zone d'alimentation importante des germons. Les tests statistiques sur les analyses des différences sur les moyennes ont montré que la différence entre la taille des mâles est plus importante entre les Seychelles (zone B) et l'Afrique du Sud (zone C), qu'entre La Réunion (zone A) et l'Afrique du Sud (zone C). Ce résultat supposerait des individus plus âgés aux Seychelles (zone B) qu'à La Réunion (zone A).

5.2. Clés Taille-Taille

5.2.1. Clés Taille-Taille à partir des captures réunionnaises

Nous avons utilisé les données réunionnaises de 2001 à 2013 issues du SIH (Système d'Informations Halieutiques) (n = 421 individus) et du projet GERMON en zone A (n = 461 individus).

La relation entre la longueur totale à la fourche (LF) et la longueur pectorale fourche (LPF) (cm) a été estimée selon une courbe de tendance régressive linéaire (Figure 11) décrite par l'équation $LF = a + b * LPF$ (a = ordonnée à l'origine et b = pente de la droite de régression):

$$LF \text{ (cm)} = 20,621 + 1,1403 * LPF \text{ (n = 882, } R^2 = 0,76).$$

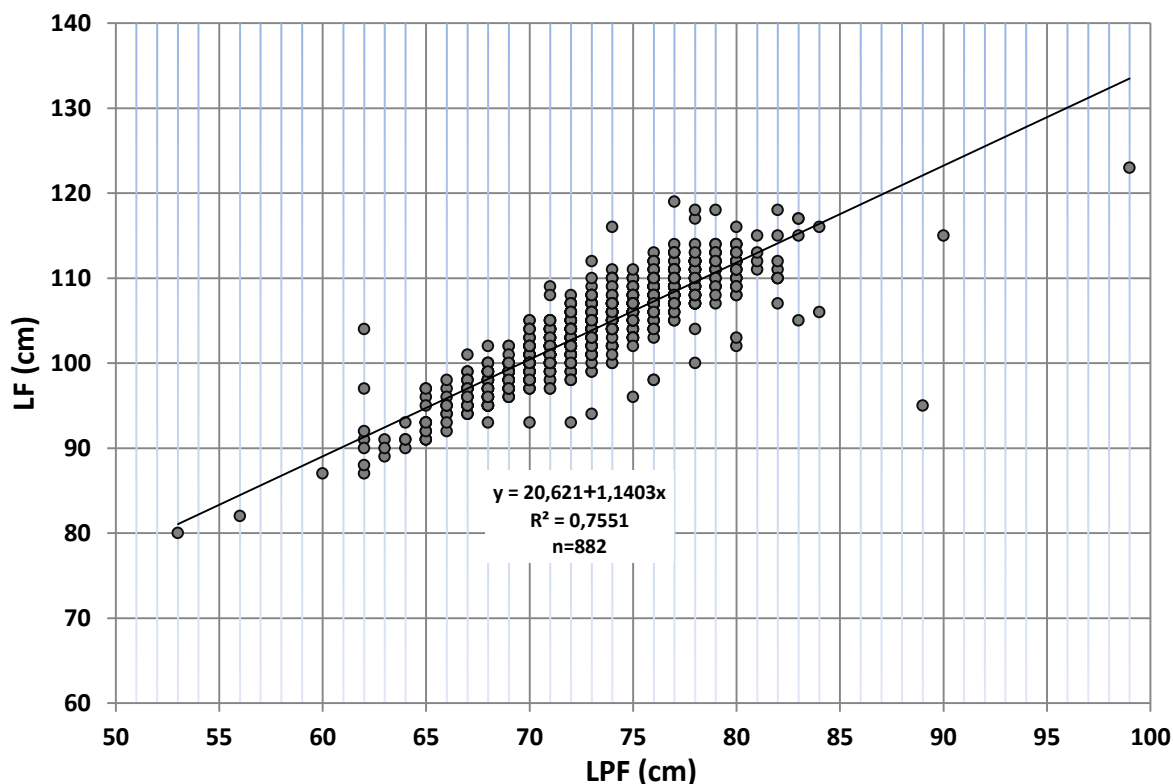


Figure 11. Relation longueur pectorale fourche (LFP) et longueur totale à la fourche (LF) (cm) obtenue par les données de captures provenant de la pêcherie réunionnaise (zone A).

5.2.2. Clés Taille-Taille à partir des captures en Afrique du Sud

Nous avons utilisé les données échantillonnées en Afrique du Sud (zone C) sur les deux saisons du projet (2013-2014) ($n = 303$ individus).

La relation entre la longueur totale à la fourche (LF) et la longueur pectorale fourche (LFP) (cm) a été estimée selon une courbe de tendance régressive linéaire (Figure 12) décrite par l'équation $LF = a + b \cdot LFP$:

$$LF \text{ (cm)} = 10,9444 + 1,2311 \cdot LFP \text{ (} n = 303, R^2 = 0,90 \text{)}.$$

Les tailles les plus importantes des thons germons (LF : 100-118) proviennent des échantillons de la saison 2. Aucune différence entre sexe n'a été observée.

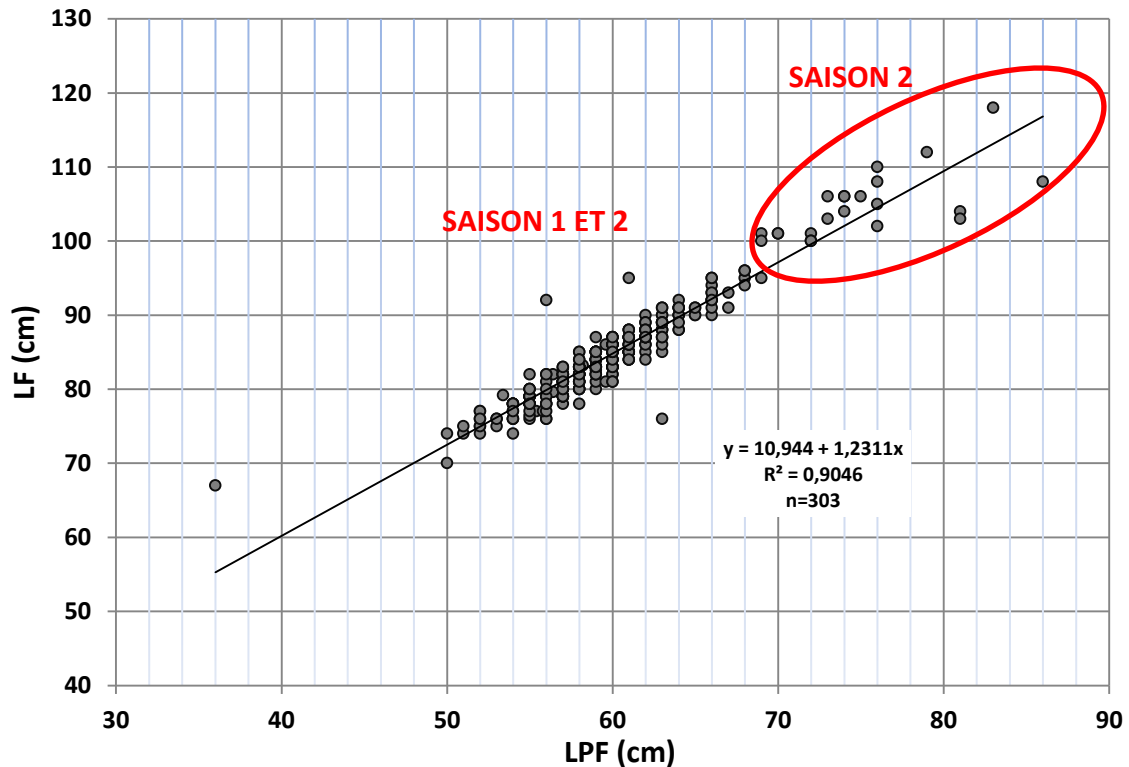


Figure 12. Relation longueur pectorale fourche (LPF) et longueur totale à la fourche (LF) (cm) obtenue par les données de captures provenant de la pêcherie en Afrique du Sud (zone C).

5.2.3. Clés Taille-Taille à partir des captures à La Réunion et en Afrique du Sud

Nous avons utilisé les données réunionnaises de 2001 à 2013 issues du SIH (Système d'Informations Halieutiques) (n = 421 individus) et du projet GERMON en zone A (n = 461 individus), ainsi que les données provenant d'Afrique du Sud (zone C) sur les deux saisons du projet GERMON (2013-2014) (n = 303 individus).

La relation entre la longueur totale à la fourche (LF) et la longueur pectorale fourche (LPF) (cm) a été estimée selon une courbe de tendance régressive linéaire (Figure 13) décrite par l'équation $LF = a + b \cdot LPF$:

$$LF \text{ (cm)} = 4,9734 + 1,3487 * LPF \text{ (n = 1185, } R^2 = 0,92).$$

Les tests statistiques par transformation logarithmique confirment que les relations Taille-Taille entre La Réunion (zone A) et l'Afrique du Sud (zone C) suivent un modèle linéaire dont les pentes sont significativement identiques (Figure 14).

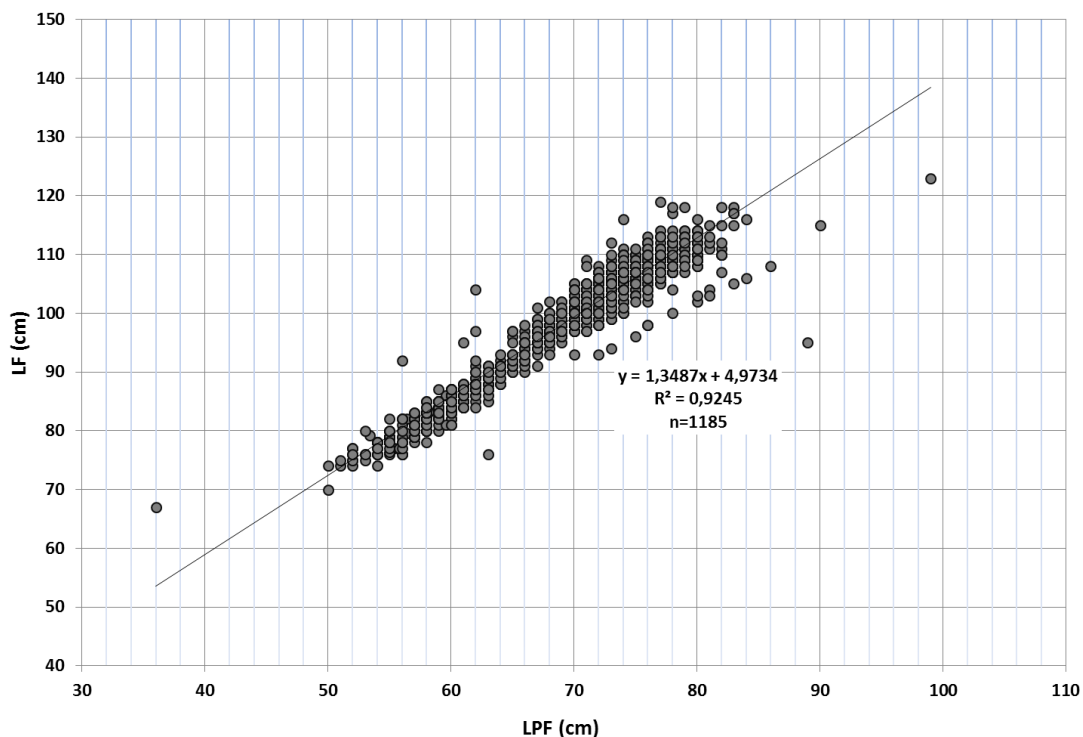


Figure 13. Relation longueur pectorale fourche (LFP) et longueur totale à la fourche (LF) (cm) obtenue par les données de captures provenant de la pêcherie à La Réunion (zone A) et en Afrique du Sud (zone C).

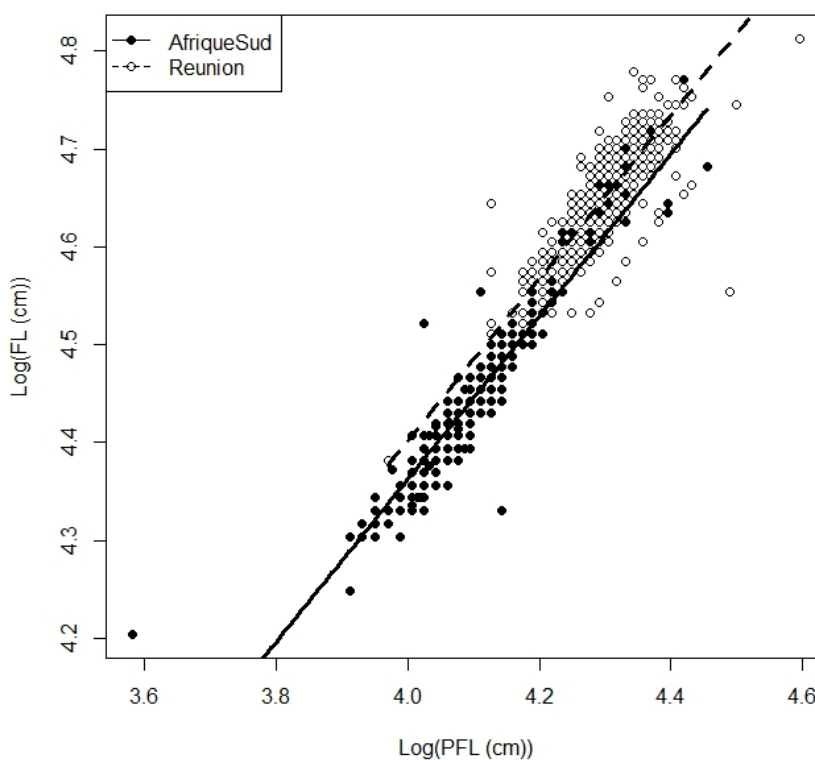


Figure 14. Transformée logarithmique de la relation Taille-Taille (longueur total à la fourche – FL (cm) et pectoral à la fourche – PFL (cm)) des captures de germon dans la zone A (La Réunion) et C (Afrique du Sud). Zone A (noir), zone C (pointillé).

5.3. Clés Taille-Poids

Ce chapitre a fait l'objet d'une publication (Nikolic et al.) qui est en cours de finalisation.

5.3.1. Clés Taille-Poids à partir des captures des 3 zones d'échantillonnages (La Réunion, Seychelles et Afrique du Sud)

Nous avons utilisé les données réunionnaises de 2014 du SIH (seule année durant laquelle les poids ont été relevés) (n = 35 individus) et du projet GERMON (Figure 2) (zone A, n = 236 individus ; zone B, n = 485 ; zone C, n = 303). Seul le poids des individus provenant de la zone D (Sud-est Atlantique) n'a pas été mesuré au cours de ce projet (voir paragraphe 3.2).

La relation entre la longueur totale à la fourche (LF) (cm) et le poids (Kg) est en général de type exponentiel. Elle est représentée par la relation (Le Cren 1951) :

$$\text{Poids (Kg)} = a * FL^b,$$

dans laquelle a est la constante et b le coefficient allométrique.

Cette relation a été estimée selon une courbe de tendance régressive en puissance (Figure 15) et une courbe ajustée par la méthode des moindres carrés non-linéaires (NLS) (Figure 16). La deuxième forme fournit des relations plus précises. Ce dernier point se vérifie notamment avec des coefficients de déterminations plus élevés avec la forme NLS. Ce travail va se poursuivre en intégrant les informations génétiques (liens parentés et potentiels migrants) pour encore améliorer les courbes de relation Taille-Poids.

5.3.1.1. Courbe de tendance régressive en puissance

La Figure 15 et le Tableau 6 présentent les relations Taille-Poids pour chacune des zones selon la courbe de tendance régressive en puissance.

Tableau 6. Relations Taille-Poids du thon germon pour chacune des zones géographiques échantillonnées selon l'équation Poids (Kg) = $a * FL^b$ sous la forme de courbe de tendance régressive en puissance. n est le nombre d'individus, a est la constante, b le coefficient allométrique, R^2 le coefficient de détermination.

Zone	Lieu	n	a	b	R ²	Information
A	Réunion	271	2,5731.10 ⁻⁵	2,9548	0,8245	Toutes les données
		269	3,5965.10 ⁻⁵	2,8823	0,8538	Sans points aberrants
B	Seychelles	485	7,7010.10 ⁻⁵	2,7502	0,8938	Toutes les données
C	Afrique du Sud	303	3,6649.10 ⁻⁵	2,8481	0,8711	Toutes les données
		302	2,3458.10 ⁻⁵	2,9493	0,9089	Sans points aberrants

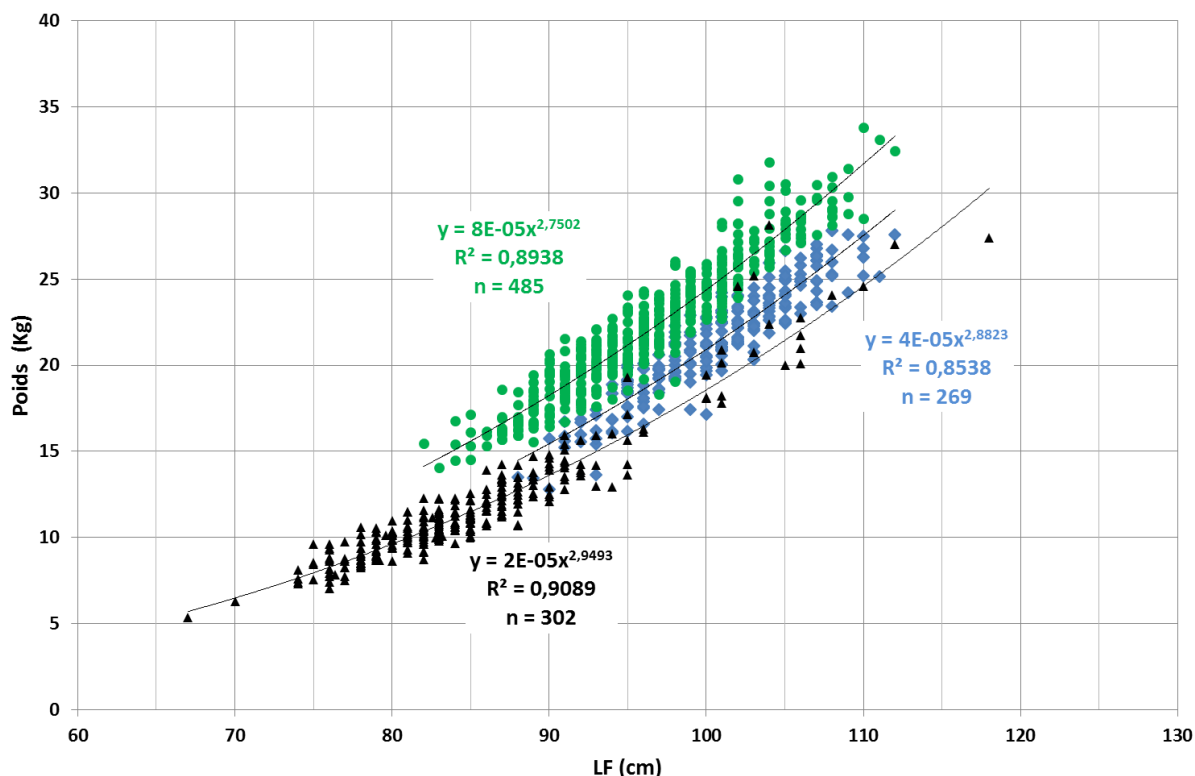


Figure 15. Relations longueur totale à la fourche (LF) (cm) et poids (Kg) obtenues par les données de captures provenant de la pêcherie réunionnaise (palangrier de surface – bleu ; zone A), seychelloise (senne océanique – vert ; Zone B), et d’Afrique du Sud (canne et traine – noir ; zone C) sans les points aberrants.

5.3.1.2. Courbe ajustée selon la forme NLS (moindres carrés non linéaires)

La Figure 16 et le Tableau 7 présentent les relations Taille-Poids pour chacune des zones selon un ajustement d’équations non linéaires par la méthode des moindres carrés non-linéaires. Les points aberrants ont été supprimés pour effectuer les analyses.

Tableau 7. Relations Taille-Poids du thon germon pour chacune des zones géographiques échantillonnées selon l’équation Poids (Kg) = $a \cdot FL^b$ sous la forme des moindres carrés non-linéaires. n est le nombre d’individus, a est la constante, b le coefficient allométrique, R² le coefficient de détermination.

Zone	Lieu	n	a	Ecart-type	b	Ecart-type	R ²
A	Réunion	269	$5,9206 \cdot 10^{-5}$	$1,987 \cdot 10^{-5}$	2,7747	$7,259 \cdot 10^{-2}$	0,8520
B	Seychelles	485	$8,4869 \cdot 10^{-5}$	$1,648 \cdot 10^{-5}$	2,7293	$4,236 \cdot 10^{-2}$	0,8950
C	Afrique du Sud	302	$2,0103 \cdot 10^{-5}$	$4,172 \cdot 10^{-6}$	2,9846	$4,619 \cdot 10^{-2}$	0,9127
A-B	Réunion-Seychelles	754	$5,7418 \cdot 10^{-4}$	$1,474 \cdot 10^{-4}$	2,3007	$5,583 \cdot 10^{-2}$	0,6983
A-C	Réunion-Afrique du Sud	571	$5,1527 \cdot 10^{-6}$	$8,293 \cdot 10^{-7}$	3,2983	$3,507 \cdot 10^{-2}$	0,9502
C-B	Seychelles-Afrique du Sud	787	$2,6044 \cdot 10^{-6}$	$6,102 \cdot 10^{-7}$	3,4786	$5,127 \cdot 10^{-2}$	0,8719
A-B-C	Toutes les zones	1056	$1,2819 \cdot 10^{-5}$	$2,758 \cdot 10^{-6}$	3,1212	$4,691 \cdot 10^{-2}$	0,8390

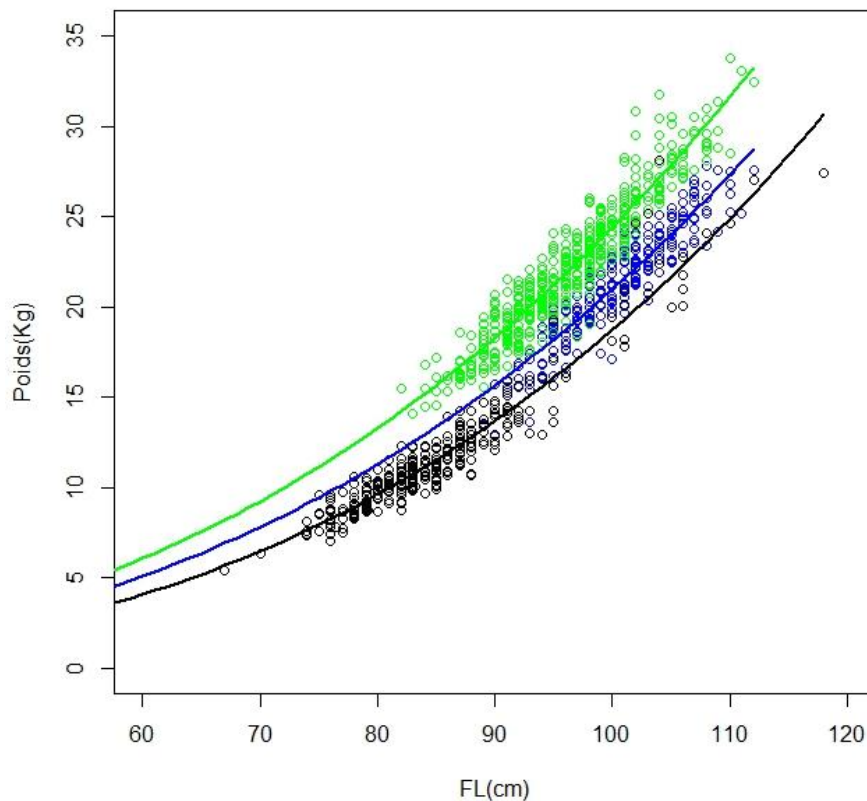


Figure 16. Relations longueur totale à la fourche (LF) (cm) et poids (Kg) obtenues par les données de captures provenant de la pêcherie réunionnaise (bleu ; zone A), seychelloise (vert ; Zone B), et d’Afrique du Sud (noir ; zone C). Les courbes représentent les relations Taille-Poids selon la forme NLS. Seychelles (vert), La Réunion (bleu), l’Afrique du Sud (noir).

5.3.1.3. Comparaison des relations Taille-Poids entre zones

a) Observations classiques

Pour chacune des zones, le coefficient allométrique est proche de 3 ce qui laisse supposer une croissance isométrique avec la forme corporelle et la densité qui ne varient pas avec l’âge (le poids croît proportionnellement à la longueur).

Une nette différence est observée entre les relations Taille-Poids de la zone B et les deux autres zones (A et C) avec des poids plus importants. La relation Taille-Poids provenant de la zone B est proche de la relation Taille-Poids établie par Setyadji et al. (2012):

$$\text{Poids (Kg)} = 0,00008 * \text{LF}^{2,7271} \quad (n = 497, R^2 = 0,64).$$

Cette relation Taille-Poids, de Setyadji et al. (2012), a été calculée à partir d’échantillons collectés entre l’Indonésie et l’Australie. On peut supposer que les individus de la zone B soient proches des individus de l’Est de l’océan Indien.

Concernant la zone A (Sud-ouest océan Indien), les relations Taille-Poids sont proches de celle de Huang et al. (1990):

$$\text{Poids (Kg)} = 0,00003505 * \text{LF}^{2,857} \quad (n = 446, R^2 = 0,97),$$

et de Lee and Liu (1992):

$$\text{Poids (Kg)} = 0,000032411 * \text{LF}^{2,8758} \quad (n = 340, R^2 = \text{non renseigné}).$$

Huang et al. (1990) et Lee and Liu (1992) ont obtenu leur relation grâce aux captures par différentes pêcheries (senne, palangre dérivante et filet maillant dérivant) opérant en océan Indien.

b) Transformation logarithmique

Un problème courant dans les études halieutiques est de déterminer si les paramètres, à partir d'une simple régression linéaire ajustée, sont statistiquement différents entre les populations. Pour cela, nous devons tout d'abord transformer la forme de la relation Taille-Poids non-linéaire en relation de type linéaire. Nous obtenons cette linéarisation par une transformation logarithmique de type :

$$\text{Log}(W_t) = \text{Log}(a) + b * \log(\text{FL}_t).$$

Avec cette linéarisation et stabilisation, les méthodes linéaires habituelles de régression peuvent être utilisées pour comparer les relations Taille-Poids entre les zones. Dans notre cas, nous avons voulu déterminer si $\text{Log}(a)$ ou b est différent entre zones et entre sexes (partie 5.3.2). Le test (analyses de variances, Ancova) d'homogénéité des pentes (ou test de parallélisme) contenu dans les modèles linéaires a été utilisé pour comparer les pentes des droites de régression ainsi que les ordonnées à l'origine lorsque celles-ci ont les mêmes pentes.

Ces tests indiquent que les termes d'interaction (relation Taille-Poids et zone) sont significatifs ($p < 0,05$) entre les Seychelles (zone B) et l'Afrique du Sud (zone C). Nous pouvons conclure qu'il existe une différence dans les pentes de la relation Taille-Poids entre ces deux zones B et C. De plus, la p-valeur de la variable d'indicateur indique qu'il existe une différence dans les ordonnées à l'origine entre les zones ($p < 0,05$).

Concernant, la différence entre La Réunion (zone A) et les Seychelles ainsi que La Réunion et l'Afrique du Sud, il n'y a pas de différence entre les pentes des relations Taille-Poids. Mais il y a des différences dans l'ordonnée à l'origine ($p < 0,05$ pour la variable de l'indicateur zone). Par conséquent, les intervalles de confiance, construits avec le modèle sans le terme d'interaction (comme il n'a pas été significatif) montrent que les germons capturés en Afrique du Sud sont entre -0,137 et -0,099 plus petit, sur l'échelle logarithmique, que les germons capturés à La Réunion quelle que soit la longueur du germon. Ils montrent également que les germons de La Réunion sont entre -0,163 and -0,145 plus petit, sur l'échelle logarithmique, que les germons capturés aux Seychelles.

5.3.2. Clés Taille-Poids en fonction du sexe

Les mêmes tests statistiques (classiques et Ancova) que la partie précédente ont été appliqués pour distinguer les différences entre sexes. La Table ci-dessous résume la courbe ajustée NLS selon chaque zone ainsi que les tests contenus dans les modèles linéaires. Nous pouvons voir qu'il n'est pas justifié de distinguer les sexes dans la représentation de la relation Taille-Poids mis à part pour la zone A (La Réunion) ou lorsque les 3 zones sont regroupées. Des détails sur les analyses statistiques sont présentées ci-dessous (Tableau 8).

Tableau 8. Relations Taille-Poids du thon germon en fonction du sexe pour chacune des zones géographiques échantillonnées selon l'équation Poids (Kg) = $a \cdot FL^b$ sous la forme des moindres carrés non-linéaires. n est le nombre d'individus, a est la constante, b le coefficient allométrique, R^2 le coefficient de détermination. La significativité des tests contenus dans les modèles linéaires sont résumés dans la dernière colonne.

Zone	Lieu	Sexe	n	a	b	R ²	Différence entre sexe selon le modèle linéaire logarithmique
A	Réunion	F	107	$1,7415 \cdot 10^{-5}$	3,0437	0,8304	Ordonnées à l'origine significative
		M	127	$3,2139 \cdot 10^{-5}$	2,9044	0,8221	
B	Seychelles	F	182	$1,1214 \cdot 10^{-4}$	2,6681	0,8364	Non significative (pentes et ordonnées à l'origine)
		M	176	$6,5699 \cdot 10^{-5}$	2,7835	0,8893	
C	Afrique du Sud	F	154	$2,1916 \cdot 10^{-5}$	2,9656	0,9157	Non significative (pentes et ordonnées à l'origine)
		M	145	$1,9431 \cdot 10^{-5}$	2,9921	0,9100	
3 zones	Réunion-Seychelles-Afrique du Sud	F	443	$5,9820 \cdot 10^{-6}$	3,2888	0,8139	Significative (pentes et ordonnées à l'origine)
		M	448	$1,6173 \cdot 10^{-5}$	3,0651	0,8463	

5.3.2.1. Captures réunionnaises

Nous avons utilisé les données réunionnaises de 2014 du SIH ($n = 35$ individus) et du projet GERMON issues de la zone A sans les points aberrants ($n = 234$ individus).

La relation entre la longueur totale à la fourche (LF ; cm) et le poids (Kg) entre les sexes a été estimée selon une courbe ajustée NLS (Figure 17, Tableau 8):

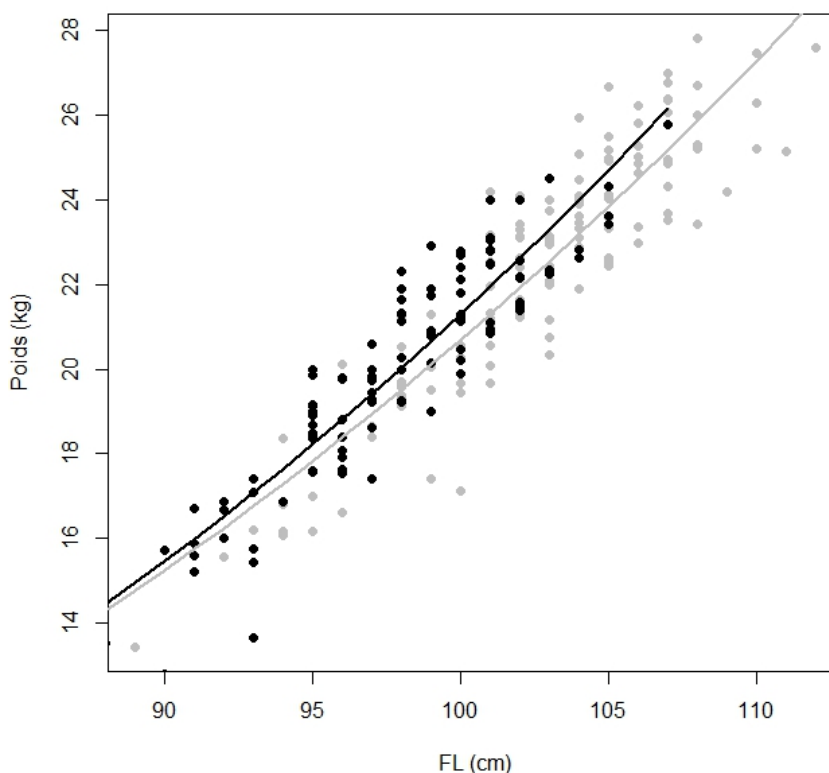


Figure 17. Relations longueur totale à la fourche (LF) (cm) et poids (Kg) obtenues par les données de captures provenant de la pêcherie réunionnaise (zone A) et seulement du projet GERMON dont le sexe des individus était connu ($n = 236$ avec 107 femelles et 129 mâles). Femelle en noir et mâle en gris.

Les résultats montrent des courbes différentes entre les sexes mais nous avons voulu savoir si ces différences étaient significatives en appliquant des tests classiques et des tests de parallélisme contenus dans les modèles linéaires. Lorsque nous appliquons un test d'homoscédasticité de Levene (homogénéité des variances), nous pouvons détecter une valeur- p significative ($p < 0,05$) entre la FL et le sexe et non significative entre le poids et le sexe. Il y a donc homoscédasticité en considérant le poids et le sexe. Afin de déterminer s'il y a une différence de poids ou de taille entre les deux sexes, nous avons d'abord appliqué un test de Kruskal-Wallis. L'hypothèse nulle (il n'y a pas de différence entre les sexes) est rejetée ($p < 0,05$) pour les deux tests. Les deux tests confirment qu'il y a des différences entre les poids et le sexe, ainsi que la taille et le sexe. Le poids est plus important chez les femelles que chez les mâles pour la même taille à La Réunion (zone A) (Figure 17 - gauche). Ce dernier point va dans le sens d'une zone importante de reproduction à La Réunion (zone A, voir paragraphe 7.1.2) augmentant le poids des femelles. Ce résultat semble cohérent avec les affirmations de Nishikawa et al. (1985) sur une zone de reproduction entre 10°S et 25°S dans l'océan Indien. Néanmoins, lorsque nous appliquons un test de parallélisme contenu dans les modèles linéaires, la valeur- p est non significative ($p > 0,05$) entre la relation Taille-Poids et le sexe. Cependant comme les ordonnées à l'origine sont significativement différentes entre les sexes, nous sommes en accord avec les tests classiques établis précédemment. Par conséquent, les intervalles de confiance, construits avec le modèle sans le terme d'interaction (comme il n'a pas été significatif), montrent que les femelles sont plus grosses que les mâles.

5.3.2.2. Captures seychelloises

Nous avons utilisé les données du projet GERMON issues de la zone B sans les points aberrants (n = 258 individus).

La relation entre la longueur totale à la fourche (LF ; cm) et le poids (Kg) entre les sexes a été estimée selon une courbe ajustée NLS (Figure 18, Tableau 8):

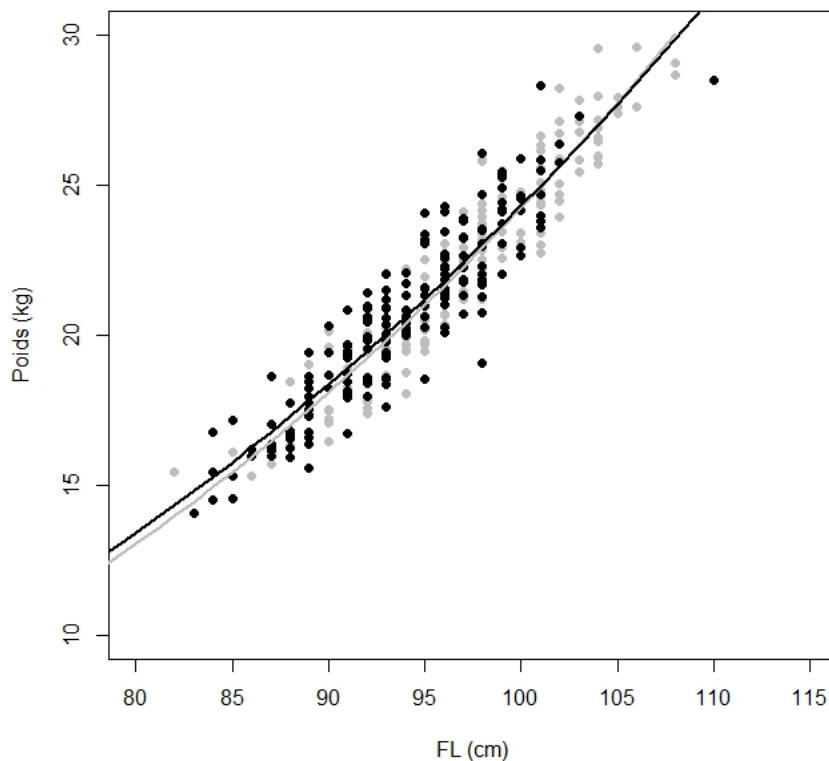


Figure 18. Relation longueur totale à la fourche (LF) (cm) et poids (Kg) obtenues par les données de captures provenant de la pêcherie seychelloise en fonction du sexe. Femelle (points et courbe noires) ; mâle (points et courbe grises).

Les résultats montrent des différences entre les sexes qui sont confirmés par le test classique de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) mais ils ne sont pas confirmés par le test parallélisme contenu dans le modèle linéaire entre la relation Taille-Poids et le sexe. Les femelles semblent plus grosses, pour la même taille donnée, que les mâles dans le cas des tailles (FL) en dessous de 99 cm. Cette tendance s'inverse au-dessus de 99 cm (FL). Cependant ces différences de la relation Taille-Poids entre les sexes sur les données des Seychelles (zone B) sont moins importantes que celles de La Réunion (zone A) et n'ont également pas été confirmé par l'analyse de variance entre les ordonnées à l'origine des deux courbes (mâle et femelle). Nous pouvons donc conclure qu'il n'existe pas de différence significative entre les femelles et les mâles pour la relation Taille-Poids aux Seychelles.

5.3.2.3. Captures en Afrique du Sud

Nous avons utilisé les données du projet GERMON issues de la zone C sans le point aberrant (n = 302 individus). L'ensemble des tests statistiques montrent qu'il n'y a pas de différence entre les sexes ($p > 0.05$).

La relation entre la longueur totale à la fourche (LF ; cm) et le poids (Kg) entre les sexes a été estimée selon une courbe ajustée NLS (Figure 19, Tableau 8) :

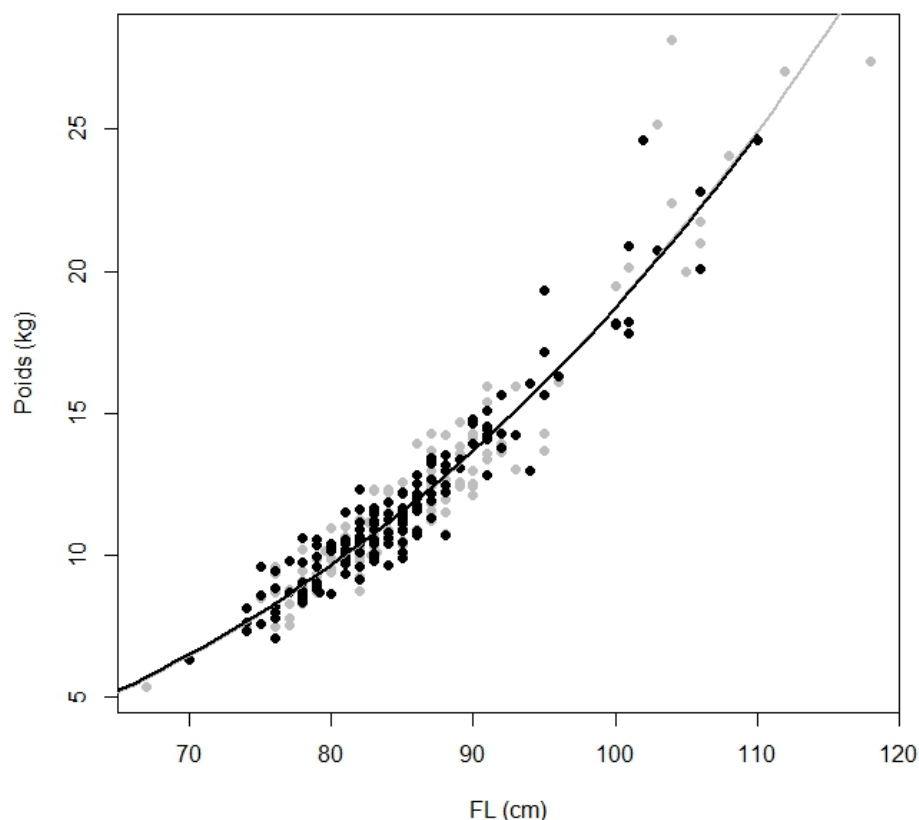


Figure 19. Relation longueur totale à la fourche (LF) (cm) et poids (Kg) obtenues par les données de captures provenant de la pêcherie d’Afrique du Sud en fonction du sexe. Femelle (points et courbe noires) ; mâle (points et courbe grises).

5.3.2.4. Captures de l’ouest de l’océan Indien (La Réunion et les Seychelles)

Nous avons utilisé les données réunionnaises de 2014 du SIH (n = 35 individus), du projet GERMON issues de la zone A (n = 234 individus) et zone B (n = 258).

Afin de déterminer les tests statistiques à appliquer sur l’ensemble des données de la zone A et B et d’observer les différences entre sexe en fonction de la longueur et du poids, nous avons testé l’homoscédasticité de Levene (homogénéité des variances) et la normalité (test de Kolmogorov-Smirnov). La significativité de ces tests suppose des différences entre sexe et nous amène à travailler à partir de tests non-paramétriques. Nous avons ainsi appliqué un test de Kruskal-Wallis (qui est une forme non-paramétrique de l’ANOVA). L’hypothèse nulle (il n’y a pas de différence entre les sexes) est rejetée ($p < 0,05$) pour les deux tests. Les deux tests confirment que lorsque l’on considère l’ensemble des données A et B, il y a des différences entre les poids et le sexe, ainsi que la taille et le sexe. Les mâles ont une longueur et un poids plus importants (moyennes respectives $101,4 \pm 6,0$ cm et $22,2 \pm 3,2$ kg) que les femelles (moyennes respectives $96,5 \pm 4,9$ cm et $20,4 \pm 2,8$ km). Néanmoins lorsque l’on établit les équations Taille-Poids en rassemblant les deux zones (A et B) en séparant les sexes, les

différences ne sont pas significatives ($p > 0,05$). La différence entre le poids pour la même taille entre les sexes est principalement observée dans la zone de La Réunion (zone A).

5.3.2.5. Captures sur l'ensemble des zones (Réunion, Seychelles et Afrique du Sud)

Nous avons utilisé les données du projet GERMON issues de la zone A ($n = 234$ individus), B ($n = 258$ individus), C ($n = 302$ individus) sans les points aberrants. L'ensemble des tests statistiques montrent il y a des différences de la relation taille-poids entre les sexes ($p < 0.05$). Les femelles après une taille correspondant probablement au moment de leur maturité sexuelle (83-87 cm, selon l'intervalle de l'intersection des courbes graphiques) ont un poids plus important que les mâles.

La relation entre la longueur totale à la fourche (LF ; cm) et le poids (Kg) entre les sexes a été estimée selon une courbe ajustée NLS (Figure 20, Tableau 8) :

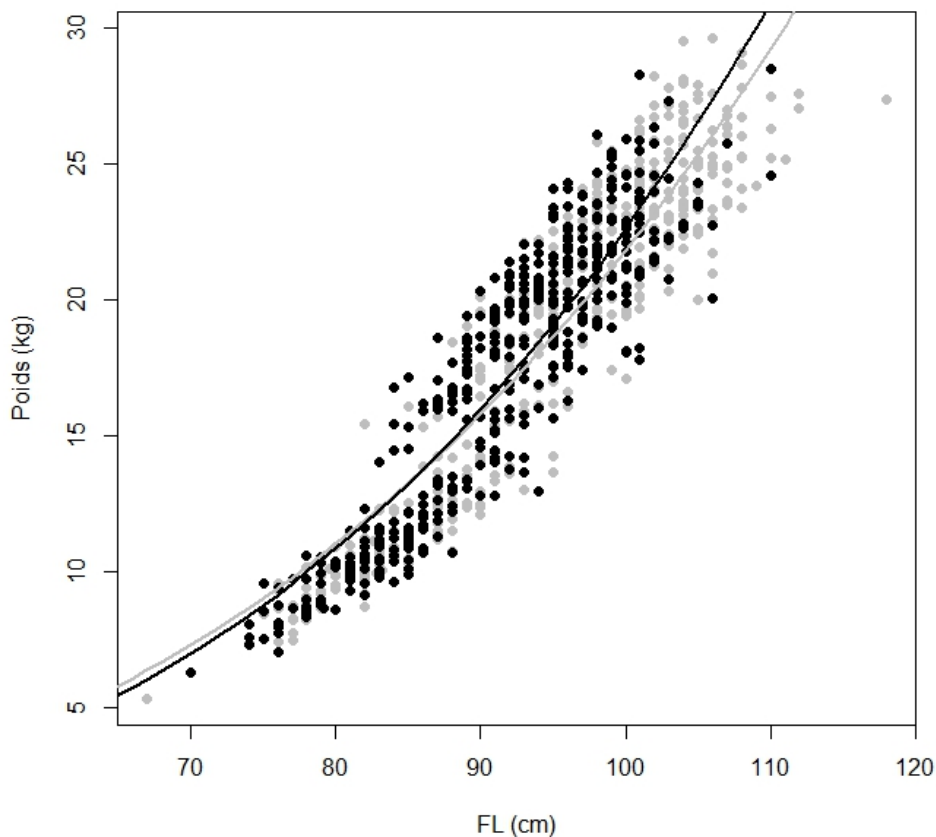


Figure 20. Relation longueur totale à la fourche (LF) (cm) et poids (Kg) obtenues par les données de captures provenant de l'ensemble des zones d'études (Réunion, Seychelles et Afrique du Sud) en fonction du sexe. Femelle (points et courbe noires) ; mâle (points et courbe grises).

5.3.3. Clés Taille-Poids en fonction de la saison

Dans cette partie nous présentons les différences entre la relation Taille-Poids et les deux saisons d'échantillonnage selon les analyses de covariance (Ancova) utilisé dans le modèle linéaire logarithmique présenté à la section b du chapitre 5.3.1.3 en testant l'interaction avec la saison.

5.3.3.1. Captures réunionnaises

Nous avons utilisé les données du projet GERMON issues de la zone A sans les points aberrants (n = 234 individus).

La différence entre la relation Taille-Poids et les saisons n'est pas significative ($p = 0.7464$) mais l'ordonnée à l'origine est significative ($p < 0,05$) (Figure 21). Néanmoins le faible nombre de données pour la saison 1 (n = 20), par rapport à la saison 2 (n = 214), ne permet pas de confirmer une différence entre les saisons à La Réunion.

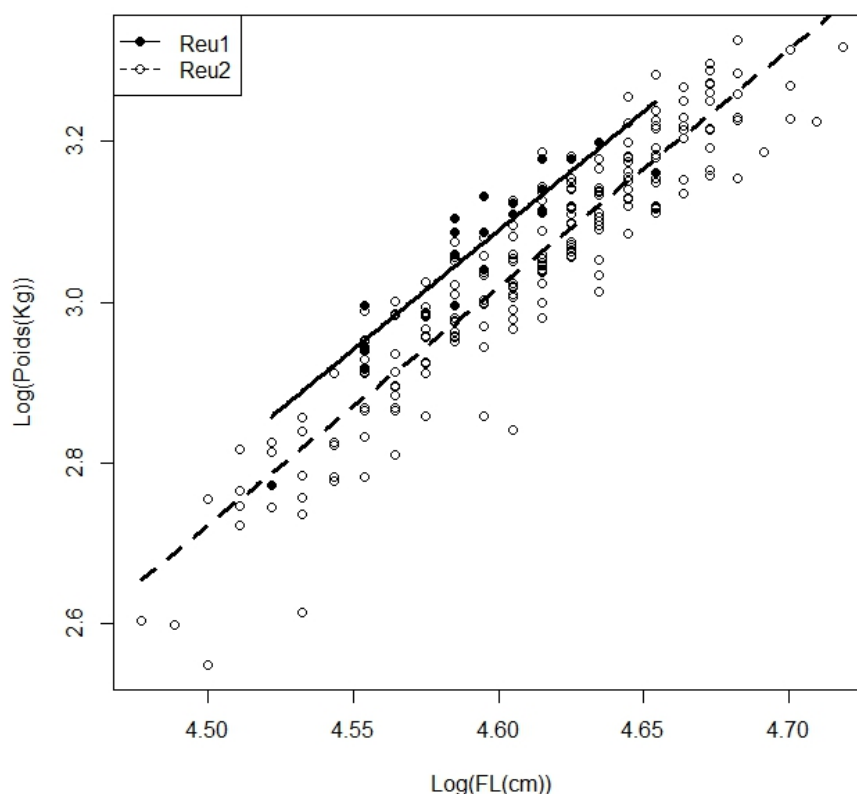


Figure 21. Transformée logarithmique de la relation Taille-Poids des captures de germon dans la zone A (La Réunion) entre les deux saisons. Saison 1 (noir), saison 2 (pointillé).

5.3.3.2. Captures seychelloises

Nous avons utilisé les données du projet GERMON issues de la zone B sans les points aberrants (n = 258 individus).

La différence entre la relation Taille-Poids et les saisons n'est pas significative ($p = 0,395$) et il en est de même pour l'ordonnée à l'origine. Nous pouvons conclure qu'il n'y a pas de différence entre les saisons pour la relation Taille-Poids.

5.3.3.3. Captures en Afrique du Sud

Nous avons utilisé les données du projet GERMON issues de la zone C sans le point aberrant (n = 302).

La différence entre la relation Taille-Poids et les saisons est significative ($p < 0,05$). Ces résultats montrent des individus plus grands et plus gros en deuxième période d'échantillonnage, c'est-à-dire pendant la deuxième saison (Figure 22).

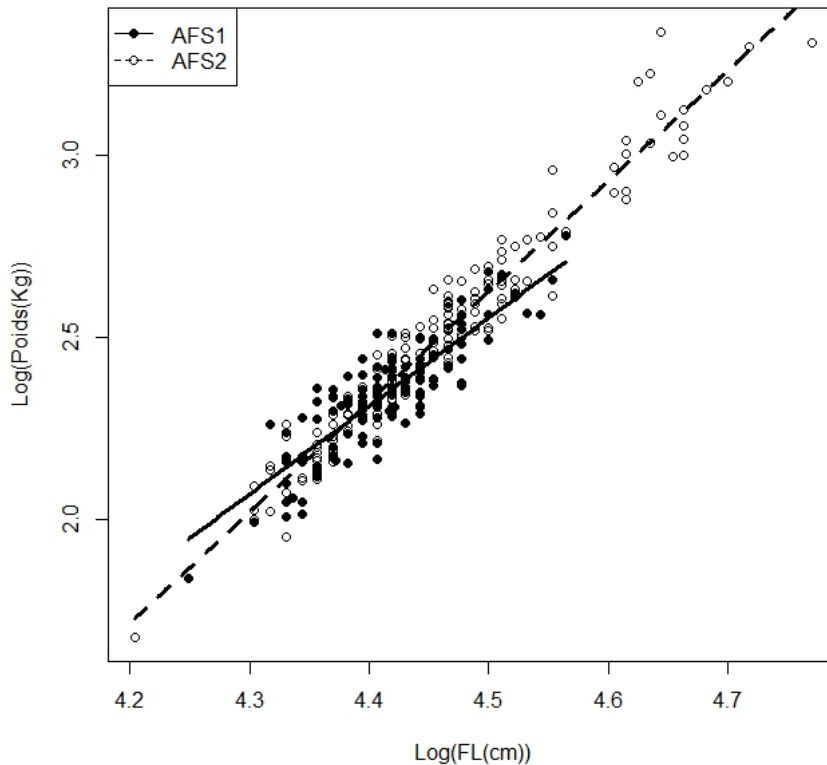


Figure 22. Transformée logarithmique de la relation Taille-Poids des captures de germon dans la zone C (Afrique du Sud) entre les deux saisons. Saison 1 (noir plein), saison 2 (pointillé).

5.4. Conclusion

Les courbes de relation (Taille-Taille et Taille-Poids) ont été établies pour l'ensemble des zones, exceptées la relation Taille-Taille en zone B et D à cause du manque de données. Des différences entre les saisons et les sexes ont été mises en évidence. De manière générale, le poids ainsi que la taille sont plus importants chez les mâles que les femelles. Mais lorsque l'on regarde le poids en fonction de la taille, il est plus important chez les femelles que chez les mâles à La Réunion (zone A). Nous verrons par la suite que le poids plus important trouvé chez les femelles provenant de la zone réunionnaise, a contrario de la zone des Seychelles (zone B), est probablement la résultante d'une reproduction très active des thons germon autour de La Réunion avec des poids de gonades importants (voir paragraphe 7.1.2). Concernant les différences entre zone, la différence est marquée entre les Seychelles et l'Afrique du Sud alors qu'elle n'est pas significative entre La Réunion et l'Afrique du Sud ainsi que les Seychelles et La Réunion.

6. Action 3 – Identification des liens existants entre les stocks Indien et Atlantique Sud et impact potentiel sur la flottille palangrière réunionnaise

Le thon germon est une ressource peu connue à cause de sa grande mobilité rendant l'estimation des stocks difficile. En effet, cette espèce est connue pour entreprendre de longues migrations à travers les océans. Elle est considérée également comme hautement migratrice dans la Convention du droit de la mer (1982). De ce fait, ce comportement migratoire pose la question de la mise en place d'une gestion partagée entre plusieurs stocks. À ce jour, six stocks génétiquement distincts de germon sont considérés dans les 3 océans : dans le Nord et le Sud de l'océan Pacifique, le Nord et le Sud de l'océan Atlantique, l'océan Indien et en mer Méditerranée (Arrizabalaga et al. 2004; Takagi et al. 2001 ; Davies et al. 2011 ; Viñas et al. 2004 ; Wu et al. 2009). La pointe sud de l'Afrique est souvent mentionnée comme une barrière infranchissable pour les animaux marins (Briggs 1974). Cependant, un nombre grandissant de publications indiquent qu'il existe des flux de gènes entre les océans Atlantique et Indien via le Cap de Bonne Espérance, et notamment chez les grands vertébrés comme les tortues marines (Bourjea et al. 2007), les poissons trompettes (Bowen et al. 2001), les grands pélagiques comme le requin marteau (Duncan et al. 2006), ou encore le thon obèse (Durand et al. 2005). Compte tenu de la courantologie dans cette région (Figure 23) et du fait que le thon germon soit une espèce migratrice très tempérée, il n'est pas impossible que le thon germon migre entre les deux océans (voir les hypothèses Figure 23).

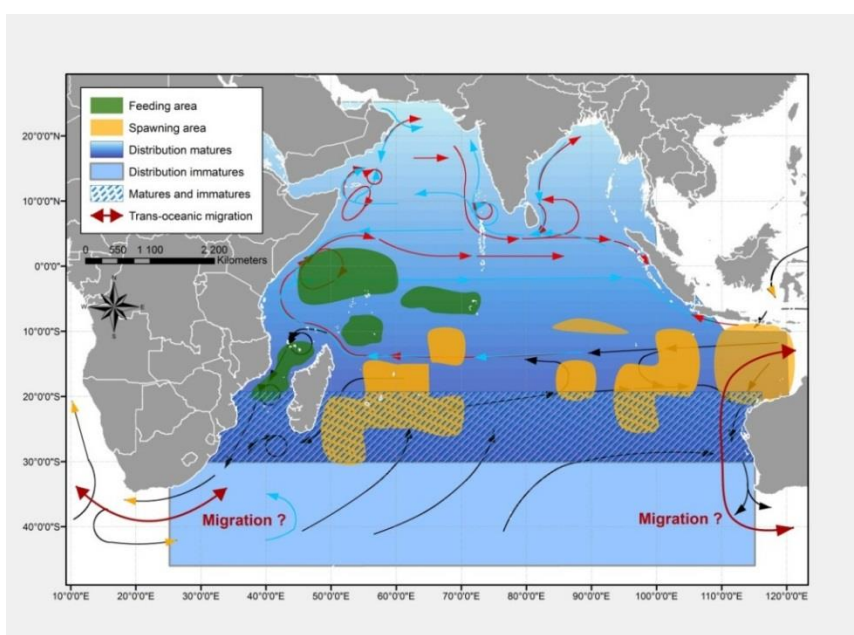


Figure 23. Carte synthétique de la distribution des adultes et immatures de thon germon dans l'océan Indien, de la représentation des hypothèses de migration interocéanique (flèche rouge, « Migration ? »), et des zones de reproduction (jaune) et d'alimentation (vert) (figure Nikolic et al. 2014c). Représentation schématique des principaux courants de l'océan Indien de Schott et al. (2009).

Or, une quantité importante de juvéniles de germon est capturée (i) dans le Sud de l’océan Indien entre 30°S et 40°S (Chen et al. 2005; Nikolic et al. 2014c ; Figure 24), c’est-à-dire à la frontière entre un groupe « adulte » au nord et un groupe « juvénile » au sud (30°S) (Suda 1974 ; Figure 24 ; Figure 25), (ii) ainsi que tous les ans dans les eaux Sud-africaines, mais uniquement en deçà de 30°E (Figure 24 ; Figure 25). La question de l’origine et du devenir des juvéniles de germon capturés en masse entre novembre et mai dans les eaux Sud-africaines, et de manière générale la question des liens existants entre les stocks de ces deux océans, sont ainsi des questions fondamentales pour l’exploitation des thons germon par la flottille réunionnaise dans l’océan Indien : d’où viennent ces juvéniles d’Afrique du Sud et contribuent-ils à la biomasse exploitée par la flottille réunionnaise ? D’où viennent les germes capturés par la flottille réunionnaise ? Si ces individus sont pêchés par les palangriers réunionnais, mais qu’effectivement ils proviennent tous ou en partie du stock de l’Atlantique Sud clairement surexploité aujourd’hui (CICTA 2013), la gestion de cette espèce en Atlantique aura donc un impact direct sur les niveaux de capture de cette espèce par la flottille palangrière réunionnaise.

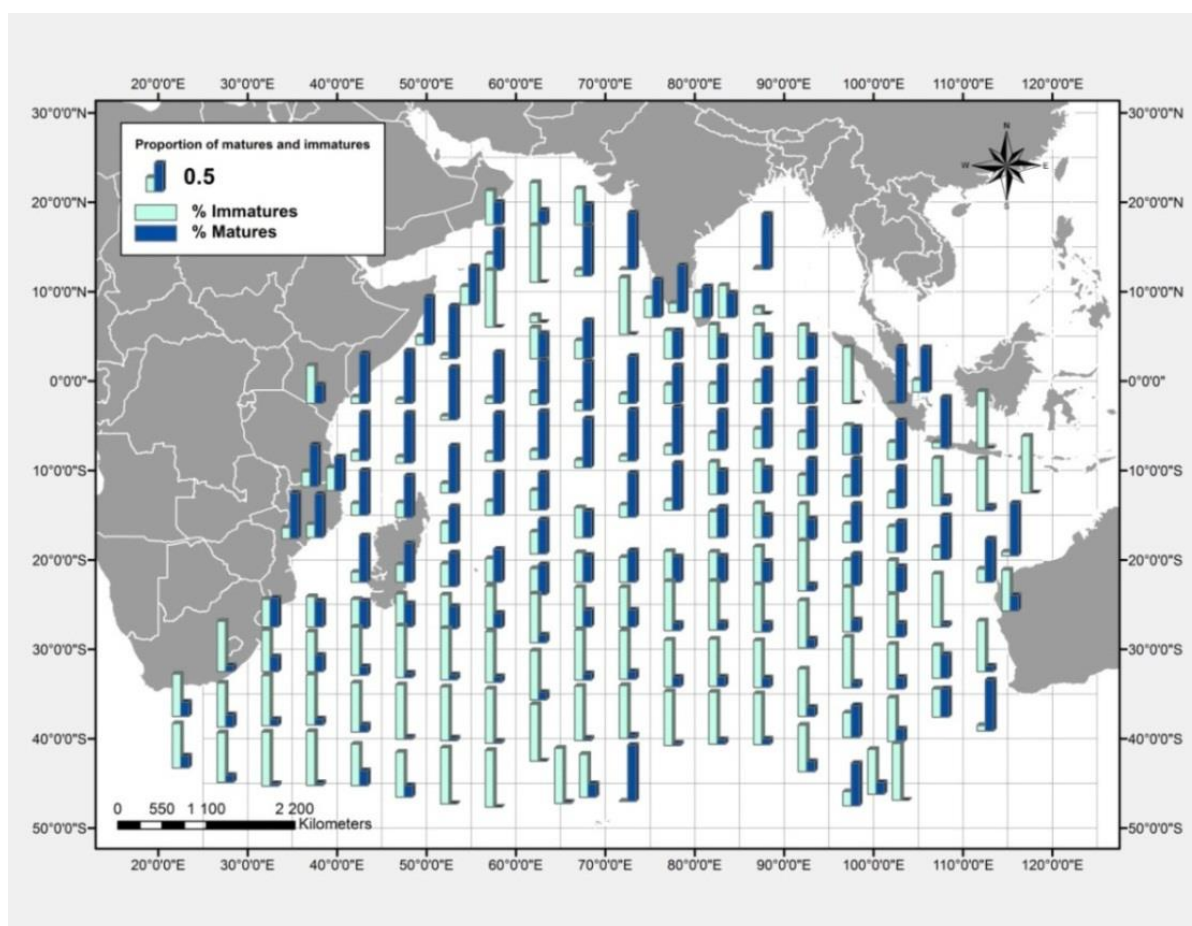


Figure 24. Répartition des thons germon matures (bleu marine) et immatures (bleu turquoise) dans l’océan Indien capturés toutes pêcheries confondues à partir de données de la CTOI entre 1980 et 2012 (figure Nikolic et al. 2014c).

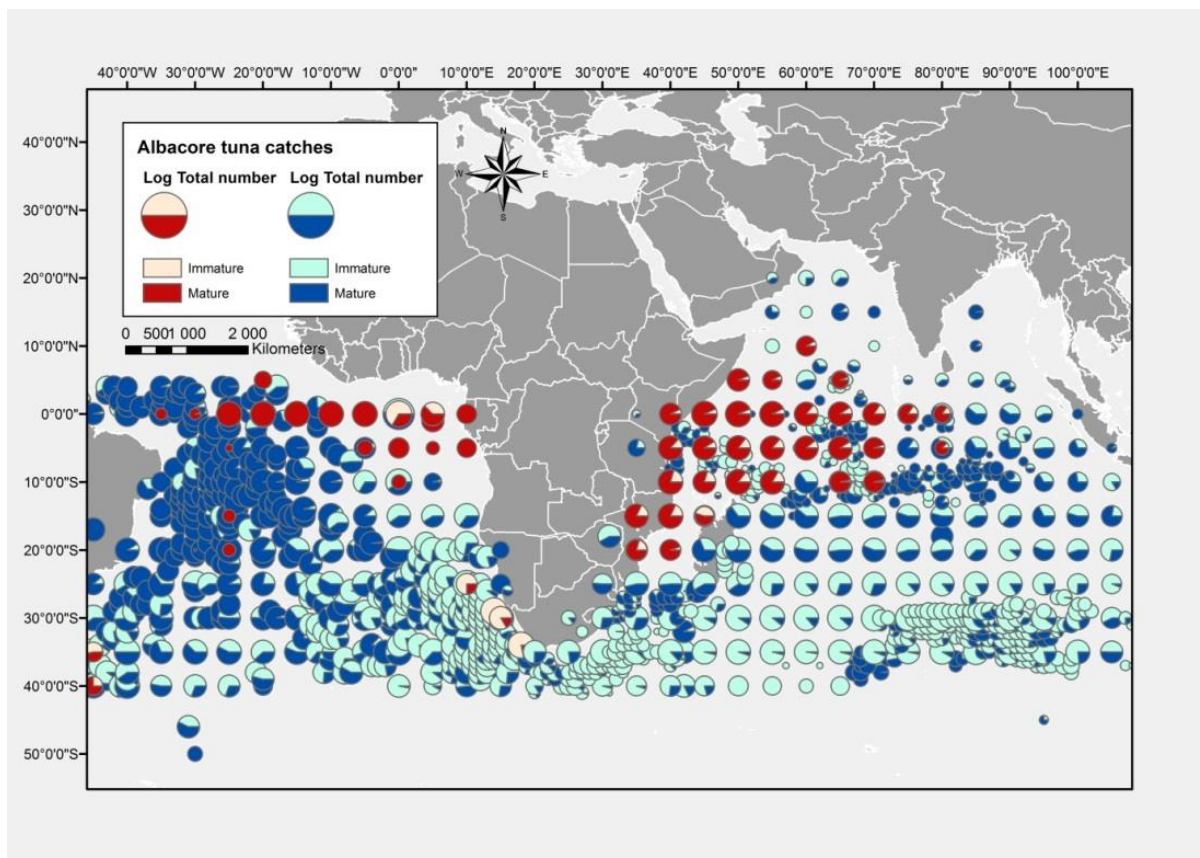


Figure 25. Répartition des proportions de captures entre immature et mature de thon germon dans l'océan Indien (1980 à 2012) et l'Atlantique Sud (1975 à 2011) par la senne (couleur rouge et rose) et les palangriers (couleurs bleu). La taille des symboles varie selon le logarithme transformé des captures totales (figure Nikolic et al. 2014c).

Pour cela, nous avons utilisé des marqueurs génétiques nucléaires supposés « neutres » et présentant une hérédité biparentale (microsatellites, voir le Glossaire) et un marqueur mitochondrial d'hérédité maternelle (ADNmt (voir le Glossaire), plus exactement les régions D-Loop et tRNA-phe) afin de tester l'hypothèse de structure des populations chez le thon germon entre l'Atlantique et l'océan Indien. Les marqueurs dits neutres sont utilisés pour tracer des arbres de parentés en s'abstrayant des forces de sélection. Ils permettent un travail ciblé sur les flux migratoires et l'origine des individus afin d'établir un premier bilan de la structuration spatiale des populations. D'autres analyses dites codantes (non-neutres) peuvent être également utilisées pour faire appel aux concepts de structuration adaptative.

Un marqueur génétique est un caractère mesurable à hérédité mendélienne (Tagu 1999) et il est considéré idéal lorsqu'il est polymorphe (variable entre individus), discriminant (différencie les individus apparentés), multiallélique (possède plusieurs allèles sur un même locus), codominant (les hétérozygotes sont visibles), non épistatique (indépendant de l'expression des autres marqueurs), reproductible d'une expérience à l'autre, manipulable à grande échelle et peu coûteuse (Nikolic 2009). La neutralité (quel que soit l'allèle présent au locus, la valeur sélective de l'individu est la même) peut également être un critère de choix d'un marqueur lorsque l'on souhaite travailler sur une structuration populationnelle induite par la dérive génétique, les mutations et la migration. Afin d'extraire l'information sur la

diversité génétique et dégager la variabilité fine intra et interstructurelle, le polymorphisme et son information (voir le Glossaire) sont utilisés. Les principales sources sont le polymorphisme de séquence (par exemple substitution, insertion, délétion) et le polymorphisme de nombre d'unités de répétitions (microsatellites, IMA et minisatellites). Pour utiliser ces deux types de polymorphisme, nous avons extrait l'ADN sur l'ensemble des individus de thon germon collectés (Figure 5). Cet ADN (nucléaire et mitochondrial) a été amplifié pour une application des méthodes de génotypages et séquençages.

Il est à noter que certains individus présentaient du matériel génétique (ADN) dégradé rendant les résultats inexploitable. Nous avons ainsi exploité au final les résultats de 1874 individus génotypés et 1109 séquencés sur les 1879 individus disponibles.

6.1. Analyses par les séquences mitochondriales

6.1.1. Descriptif technique

6.1.1.1. Acquisition des séquences d'ADN mitochondrial

L'extraction de l'ADN de 1879 tissus (muscles ou nageoires) de germons a été effectuée sur colonne, conformément au protocole du kit d'extraction « *DNeasy Blood and Tissue Kit* de Qiagen™ ». Les ADN extraits ont été conservés au congélateur à -20°C. Ces ADN ont ensuite été utilisés pour amplifier une portion de l'ADN mitochondrial (ADNmt) à partir des amorces P3 (5'-AACTTCCATCCTCAACTCCCAAAGC-3') et PB (5'-AGTGGGGTATCTAATCCCAG-3') utilisées dans l'étude de Yeh et al. (1997) et comprenant 866 paires de bases. P3 se trouve sur la séquence génétique (voir le Glossaire) tRNA-pro de l'ADNmt et PB sur la séquence 12S-RNA. Ces amorces permettent d'amplifier la séquence nucléotidique qui regroupe deux régions particulières de l'ADNmt, celle de la D-Loop (ou région de contrôle) et celle du tRNA-phe. Le protocole d'amplification par PCR (Polymérase Chain Reaction) a été réalisé dans un volume final de 25 µL selon le protocole de l'Annexe D.

La qualité de l'amplification a été vérifiée sur 1/3 des échantillons en faisant migrer 4 µL d'amplifiât et 2 µL de bleu de bromophénol (QIAGEN) par électrophorèse sur un gel d'agarose à 2%. Les gels ont été révélés sous UV après un bain de 10 min dans du BET (bromure d'éthidium). Enfin, chaque gel a été photographié.

Les produits de PCR ont ensuite été envoyés à Genoscreen pour purification et séquençage sur le séquenceur de nouvelle génération à haut débit : GS-6FLX (Roche Diagnostics), en sens et anti-sens.

Au final, la société Genoscreen nous a fourni les séquences consensus (assemblage des séquences sens et anti-sens) de chacun des amplifiâts validés. Afin de confirmer la qualité de chacune des séquences, nous avons vérifié les erreurs (pics anormaux sur le chromatogramme, différences entre le chromatogramme et la séquence au format texte) puis nous les avons corrigés en comparant les brins sens et anti-sens. Cette étape a été réalisée à l'aide du logiciel Geneious 8.1 (Kearse et al. 2012). L'amplification pour certains individus (particulièrement ceux de la zone D) contenait une faible quantité de produit PCR ou une amplification inexistante. Nous avons donc vérifié les amorces P3 et PB par alignement de séquence avec BLASTn sur les bases GenBank NR et BOLDsystem. Aucune différence

d'alignement n'a été détectée sur l'amorce PB. Par contre, nous avons pu identifier 5 nucléotides différents sur P3 avec les autres séquences de thon germon se trouvant dans les bases. Nous avons donc redéfini une nouvelle amorce P3-rev (5'-AACTCCTACCCCTAACTCCCAAAGC-3') qui a été testée sur les fragments d'ADN dont nous n'avons pu récupérer les résultats d'amplification. Cependant, il est difficile à dire si ces nouvelles amorces ont montré de meilleurs résultats que les précédentes amorces car au fur et à mesure des manipulations les ADN se sont dégradés.

6.1.1.2. Analyses des séquences obtenues

Les diversités haplotypique et nucléotidique, ainsi que le D de Tajima (Tajima 1989) ont été calculés à l'aide du logiciel Arlequin 3.5. (Excoffier et al. 2005). Le D Tajima permet d'estimer les écarts par rapport à la neutralité ou à l'équilibre démographique dans la distribution des fréquences alléliques au sein des populations. Cet indice indique donc si la population étudiée a subi des événements démographiques tels que des goulots d'étranglements, des expansions ou contractions, ou des processus de sélection (directionnelle, purificatrice ou balancée).

Les relations entre les différents haplotypes identifiés pour le thon germon ont été construites suivant la méthode du réseau recouvrant minimum (minimum spanning network) grâce au logiciel PopART1.7 (<http://popart.otago.ac.nz/>). Ce réseau permet de mettre en évidence, par la taille du cercle l'abondance d'un haplotype et par la longueur des branches, le nombre de mutations qui sépare deux haplotypes (voir Glossaire). Enfin, pour faire ressortir l'information de manière synthétique, nous avons construit des camemberts représentant la proportion d'haplotypes géo-référencée au sein des groupes d'haplotypes. Cette proportion a été pondérée par le nombre d'haplotypes issus de chaque zone pour équilibrer la représentation graphique.

Le logiciel MEGA6 (Tamura et al. 2013) a également été utilisé pour construire un arbre phylogénétique des plus proches voisins (Neighbor Joining tree ; Saito et Nei 1987). Enfin, les valeurs de différenciation génétique Φ_{ST} par paires de populations ont été estimées selon la formule de Weir et Cockerham (1984). Ces estimations permettent de quantifier le niveau de différenciation entre les sites en calculant la différenciation génétique entre deux sous-populations. Φ_{ST} et ses probabilités associées ont été calculées grâce au logiciel Arlequin 3.5.2.1 (Excoffier et Lischer 2010). La structure génétique spatiale a également été étudiée via l'analyse spatiale de la variance moléculaire (SAMOVA) grâce au logiciel SAMOVA 2.0 (Dupanloup et al. 2002). Cette méthode se base sur l'analyse hiérarchique de variance moléculaire (AMOVA ; Excoffier et al. 1992) en intégrant les distances géographiques entre les sites considérés. Il s'agit d'une analyse de variance hiérarchique dont les données sont les distances génétiques entre individus et dont les hypothèses de distribution aléatoire du polymorphisme dans l'espace sont testées par permutation. Cette analyse vise à définir, a posteriori, le groupage des populations maximisant les différences entre ces groupes, et permet ainsi l'identification de barrières génétiques entre ces groupes lorsqu'elles existent.

6.1.2. Résultats

6.1.2.1. Diversité génétique

Sur la base des 1879 individus de thons germon échantillonnés dans ce projet, 1109 séquences d'une longueur de 897 paires de bases (pb) ont été obtenues et utilisées pour nos analyses. Cette différence entre le nombre initial d'individus et le nombre final de séquences vient du fait que nous n'avons pas réussi à amplifier tous les individus, principalement ceux provenant de la zone D. L'une des hypothèses est la faible quantité et qualité de l'ADN (voir le Glossaire) dans les échantillons de la zone D.

Concernant les premiers résultats sur la séquence de l'ADN mitochondrial (voir le Glossaire), ils indiquent la présence d'un fort polymorphisme de séquence, avec 250 sites polymorphes, formant 1029 haplotypes sur les 1109 individus, dont seulement 13% sont représentés plus d'une fois et donc 87% qui sont des haplotypes privés. Les diversités haplotypiques (Δhap – probabilités que deux haplotypes tirés aléatoirement dans une population soient différents) sont élevées avec respectivement $0,9997 (\pm 0,0001)$ (Tableau 9). Les diversités nucléotidiques (π – nombre moyen de différence de nucléotides entre deux séquences tirées au hasard dans une population) d'environ $0,026 (\pm 0,013)$ (Tableau 9) sont faibles à cause de la grande longueur de séquence (+ de 800 pb).

Le D de Tajima est négatif et non significatif ($-0,789 \pm 0,244$; $p > 0,05$). Ce résultat suggère un excès de mutations à faible fréquence (un excès d'allèle rare) qui est cohérent avec le pourcentage d'haplotypes privés trouvé (87%). Cet indice suggère une sélection négative ou positive ou une expansion de la population après une période de goulot d'étranglement. Cependant, nous ne pouvons pas confirmer ces processus avec les résultats qui sont non-significatifs.

La relation entre les séquences des différents échantillons a été représentée par un réseau d'haplotypes. Celui-ci a révélé deux clades très divergents (17 mutations), l'un étant majoritairement composé par les individus des Seychelles (zone B) et de La Réunion (zone A), et l'autre par les individus d'Afrique du Sud (zone C) et du Sud-est Atlantique (zone D) (Figure 26). Toutefois, chacune des zones échantillonnées est présente dans ces groupes d'haplotypes, ce qui indique l'existence de connexions évidentes entre les zones.

Tableau 9. Tableau récapitulatif des indices de diversité génétique et de neutralité. Ces indices ont été calculés sur différentes sous-populations hypothétiques qui sont : zone A (La Réunion), B (Seychelles), C (Afrique du Sud), D (Sud-est Atlantique), de l'interaction zone/saison : été austral (1) et hiver austral (2), de l'interaction zone/maturité : Im (Immature) et Ma (Mature). *N*: nombre d'échantillons séquencés; *Nhap* : nombre d'haplotypes ; Δhap : diversité haplotypique ; π : diversité nucléotidique, *hap. privé %* : pourcentage d'haplotypes privés; *D Tajima* : test de neutralité. Si le *D* de Tajima est significatif celui-ci est indiqué gras.

**L'été austral n'a pas pu être échantillonné aux Seychelles (zone B), donc B1 correspond à l'hiver austral 2014 et B2 à l'hiver austral 2013.*

Groupes	N	Nhap	Δhap	π (x 10 ⁻³)	Hap, privé %	D Tajima
Aire						
A	408	393	0,9996	28,007	94	-0,454
B	326	313	0,9997	28,668	90	-0,527
C	263	249	0,9996	22,180	89	-0,956
D	112	112	1	22,508	92	-0,877
Area x Saison						
A1	187	183	0,9997	27,725	93	-0,418
A2	221	213	0,9995	27,587	92	-0,399
B1*	219	210	0,9995	27,680	89	-0,327
B2*	107	106	0,9998	29,296	90	-0,501
C1	158	146	0,9990	21,935	86	-0,801
C2	105	104	0,9998	22,242	93	-0,944
D1	112	112	1	22,392	92	-0,877
Aire x Maturité						
Aim	2	2	1	41,433	100	0
Ama	406	391	0,9996	27,962	94	-0,445
Bim	43	43	1	28,925	81	-0,132
Bma	284	274	0,9997	28,670	90	-0,507
Cim	213	202	0,9995	22,152	89	-0,931
Cma	50	50	1	22,470	86	-0,645
Dim	90	90	1	21,754	91	-0,933
Dma	22	22	1	25,504	95	-0,259

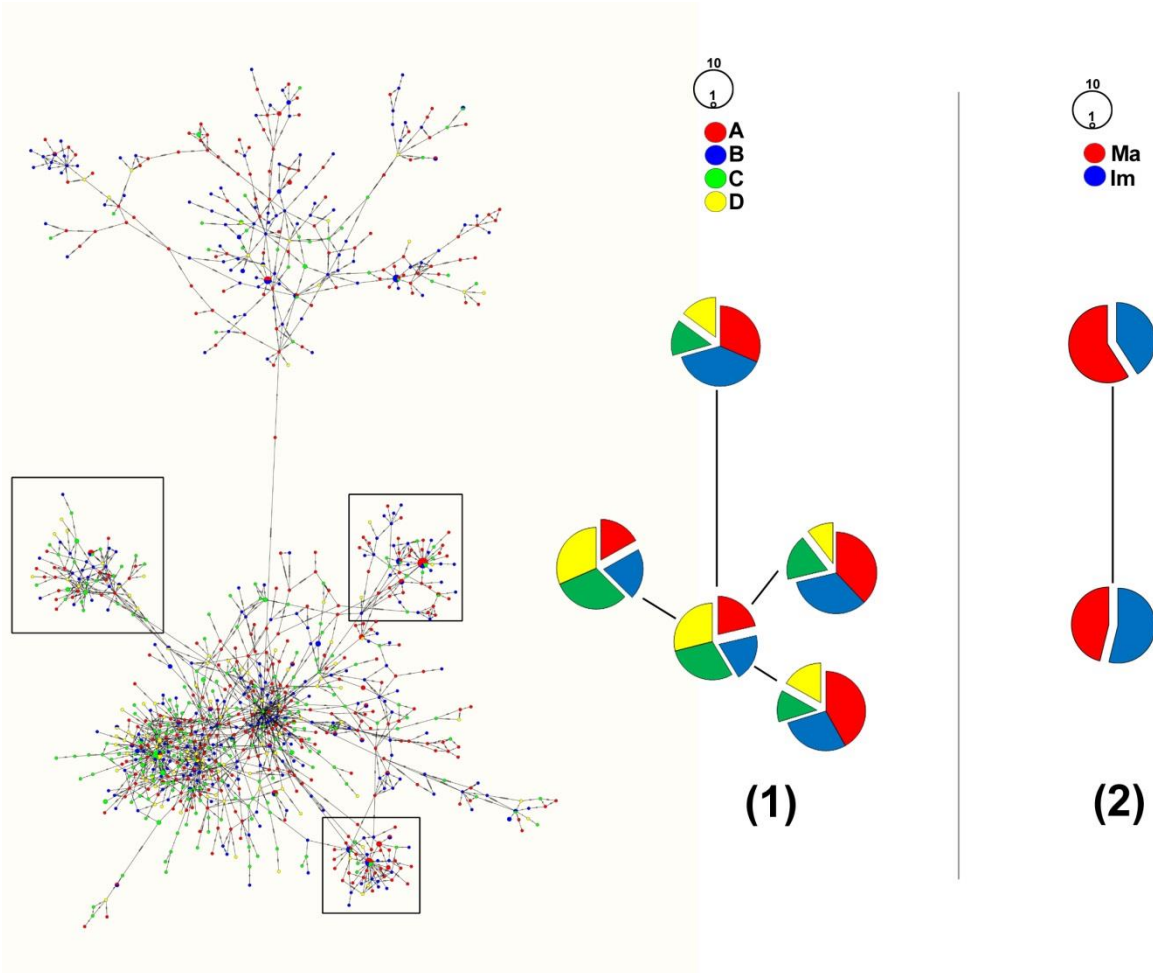


Figure 26. Réseau d'haplotypes de thon germon. A, B, C et D et leur couleur respective représente les différentes zones d'échantillonnage du projet (voir paragraphe 3.1) ; Im (immature) et Ma (mature) et leur couleur respective représente les stades de maturité. La taille des cercles est proportionnelle à la fréquence de l'haplotype. Les camemberts représentent une agrégation des haplotypes en fonction de leur zone d'origine (1) ou de leur maturité (2). Ces camemberts sont pondérés en fonction du nombre d'échantillons par zone et par maturité.

6.1.2.2. Structuration génétique des germes dans le Sud-ouest de l'océan Indien

A noter que les résultats de cette partie sont à ce stade préliminaires et qu'ils seront approfondis dans un second temps au travers de publication scientifique.

Structuration en fonction des zones d'échantillonnage

Tout d'abord, nous avons regardé s'il existait une structuration génétique particulière entre nos zones d'échantillonnage (A, B, C et D). L'analyse des distances génétiques entre les zones indiquent deux regroupements distincts. Le premier est composé des zones A et B (pas de différences significatives intra-groupe, $p > 0,05$). Ce groupe est différencié ($p < 0,05$) d'un second groupe composé de C et D (pas de différence significative intra-groupe, $p > 0,05$) (Tableau 10). Ce résultat a été confirmé grâce à une analyse spatiale de variance moléculaire qui indique la présence de ces deux groupes (A avec B et de C avec D) (Tableau 12, volet 1). En

effet, la SAMOVA menée entre les zones d'échantillonnage a montré que la quasi-totalité (97,02 %) de la variance observée provient essentiellement des individus d'une même zone géographique ($\Phi_{ST} = 0,030$; $p < 0,001$) et non entre zones dont la variance est faible (2,9%) et non significative ($\Phi_{CT} = 0,029$; $p > 0,05$). On remarque cependant une perte de significativité du Test exact pour la zone D lorsqu'on la compare avec les zones A et B. Ce résultat pourrait provenir de la connexion plus importante avec D qu'avec C des populations A et B (Tableau 10). Nous avons également estimé le Fst car le Phi (Φ) peut parfois augmenter la valeur de différenciation (Tableau 11). Nous retrouvons ainsi une différenciation marquée entre l'Afrique du Sud et les deux zones de l'océan Indien.

Tableau 10. Valeurs de Φ_{ST} et du degré de significativité ($*p < 0,05$, $** < 0,01$ et $*** < 0,001$) entre les quatre zones d'échantillonnage (A, B, C et D). Au-dessus de la diagonale sont représentées les valeurs de significativité du Test exact.

ZONES	A	B	C	D
A	-	0,553	0,000	0,087
B	0,002	-	0,001	0,219
C	0,024***	0,039***	-	0,063
D	0,022***	0,035***	-0,003	-

Tableau 11. Valeurs de Fst de Slatkin et du degré de significativité ($*p < 0,05$, $** < 0,01$ et $*** < 0,001$) entre les quatre zones d'échantillonnage (A, B, C et D). Au-dessus de la diagonale sont représentées les valeurs de significativité du Test exact.

ZONES	A	B	C	D
A	-	0.3441	0.0029	0.0518
B	0,00002	-	0.0176	0.1613
C	0,00025**	0,00019*	-	0.0802
D	0,00012	0,00001	0,00007	-

Structuration en fonction des saisons par zone

Le mode de transmission de l'ADN mitochondrial étant maternel, ce marqueur peut aider à comprendre les comportements migratoires sexes dépendants. Cependant c'est la combinaison avec les marqueurs nucléaires (comme les microsatellites) qui nous aideront à mieux comprendre les migrations entre zones.

Nous avons voulu savoir si la saison de reproduction influençait la structuration génétique du thon germon dans nos quatre zones d'échantillonnages. Les analyses statistiques indiquent qu'il n'y a pas de différences significatives des distances génétiques des individus capturés durant la période estivale (de reproduction) et hivernale (hors reproduction) australes au sein des zones A et C ($p > 0,05$) et entre les années (2013-2014) dans la zone B ($p > 0,05$). On note cependant que pour la zone C, les résultats du Test exact révèlent des différences entre les saisons (Tableau 13). On retrouve d'ailleurs ce résultat dans l'arbre du plus proche voisin où C1 est plus proche de D1 que de C2 (Figure 27). Sur la base des SAMOVA (Tableau 12) incluant les saisons, on retrouve plus une tendance zone que saison (A1-A2-B1-B2 / C1-C2-D1), sans

que toutefois ces groupes soient significativement différents entre eux ($\Phi_{CT} = 0,02949$; $p > 0,05$). On ne peut donc pas conclure en une structuration par les saisons.

Tableau 12. Résultats des SAMOVA en fonction des différents regroupements : (1) entre les 4 zones (A, B, C, D), (2) entre saisons par zone (A1, A2, B1, B2, C1, C2, D1) et enfin (3) entre maturité des poissons par zone (AMa, BIm, BMa, CIm, CMa, DIm, DMa ; avec Ma = Mature, Im = immature). *df* = degré de liberté. *p* = valeur-p (voir le glossaire).

	Source de variation	<i>df</i>	% variation	Indice de fixation	<i>p</i>
1	Entre les groupes sans <i>a priori</i>	1	2,9	$\Phi_{CT}=0,029$	>0,05
	Entre les zones au sein des groupes	2	0,07	$\Phi_{SC}=0,001$	>0,05
	Entre les individus au sein des zones	1105	97,02	$\Phi_{ST}=0,030$	<0,001
Groupes déterminés		A-B / C-D			
2	Entre les groupes sans <i>a priori</i>	1	2,95	$\Phi_{CT}=0,029$	>0,05
	Entre les zones/saisons au sein des groupes	5	-0,02	$\Phi_{SC}=-0,001$	>0,05
	Entre les individus au sein des zones	1102	97,07	$\Phi_{ST}=0,029$	<0,001
Groupes déterminés		A1-A2-B1-B2 / C1-C2-D1			
3	Entre les groupes sans <i>a priori</i>	2	2,87	$\Phi_{CT}=0,029$	<0,05
	Entre les zones/saisons au sein des groupes	4	-0,02	$\Phi_{SC}=-0,001$	>0,05
	Entre les individus au sein des zones	1101	97,15	$\Phi_{ST}=0,028$	<0,001
Groupes déterminés		Ama-Bim-Bma / Cim-Cma / Dma			

Tableau 13. Valeurs de Φ_{ST} et degré de significativité (* < 0,05 ; ** < 0,01 et *** < 0,001) entre l'interaction des quatre zones d'échantillonnage (A, B, C et D) et de la saison (1 et 2). Au-dessus de la diagonale sont représentées les valeurs de significativité du Test exact. Chaque différence significative est en gras.

	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1
A1	-	0,136	0,074	0,747	0,009	0,225	0,162
A2	-0,001	-	0,113	0,250	0,003	0,029	0,055
B1	-0,002	0,002	-	0,065	0,00014	0,125	0,023
B2	0,003	0,006*	-0,00006	-	0,0012	0,502	0,941
C1	0,026***	0,027***	0,037***	0,053***	-	0,00037	0,002
C2	0,017**	0,020***	0,027***	0,042***	-0,003	-	0,870
D1	0,021***	0,023***	0,030***	0,045***	-0,003	-0,004	-

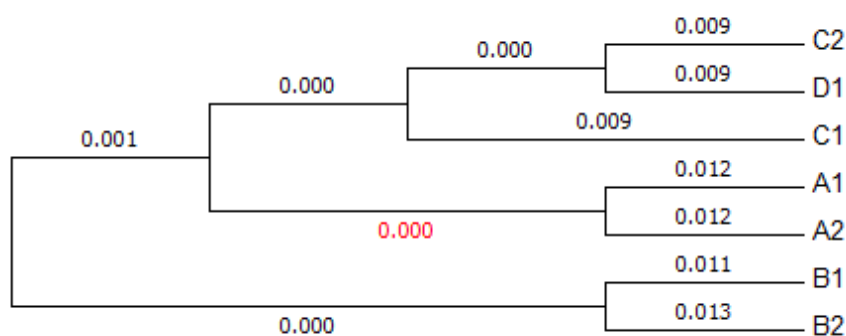


Figure 27. Arbre des plus proches voisins (Neighbor Joining) indiquant la relation entre les sous-populations. Cet arbre est construit sur la base des comparaisons deux à deux des distances génétiques estimées avec les séquences mitochondriales.

Structuration en fonction du stade de maturité et du sexe

Enfin, nous avons testé si le stade de maturité des poissons analysés (Mature vs Immature) pouvait contribuer à expliquer la structuration génétique observée. Pour ces analyses, la maturité des individus a été estimée en utilisant la taille (LF) comme proxy de la maturité, c'est-à-dire que les individus inférieurs à 90 cm ont été considérés comme des immatures. Pour les analyses ci-dessous, les individus juvéniles de La Réunion (zone A) ont été retirés du jeu de données car leur effectif était trop faible ($n = 2$).

Pour chaque zone, nous n'observons pas de différence entre matures et immatures ($p > 0,05$; Tableau 14). Cependant entre zones, les matures de C sont différents de ceux de A et de B (respectivement $\Phi_{ST} p < 0,01$ / Test exact = 0,434 et $\Phi_{ST} p < 0,01$ / Test exact = 0,673), mais pas de ceux de D ($\Phi_{ST} p > 0,05$ / Test exact = 1,000). Et de la même manière, on constate des différences importantes entre les immatures des zones C et D avec ceux de la zone B (respectivement $\Phi_{ST} p < 0,001$ / Test exact = 0,046 et $\Phi_{ST} p < 0,01$ / Test exact = 1,000). A noter que ces différences ne sont pas toutes mises en évidence par le Test exact dans lequel seul les immatures de C diffèrent de B (Test exact = 0,046 ; Tableau 14). Néanmoins ces résultats pourraient provenir du fait que les taux de structuration se maintiennent quand on teste également par classe de taille, sauf dans certains cas.

Par ailleurs, l'analyse de variance sur les groupements sans a priori révèle, que ces groupes sont significativement différents ($\Phi_{CT} = 0,029$; $p < 0,05$) (Ama-Bim-Bma / Cim-Cma-Dim / Dma ; Tableau 12).

Enfin nous avons également testé l'effet sexe (Mâle vs Femelle) sur la structuration des germes, aucun résultat était significatif sur l'ensemble des échantillons ($\Phi_{ST} p = 0,780$ / Test exact = 0,213) et une différence semble être présente entre les femelles de la zone B et les mâles de la zone A mais le Test exact est non significatif (Tableau 15).

Tableau 14. Valeurs de Φ_{ST} et du degré de significativité (* < 0,05 ; ** < 0,01 et *** < 0,001) entre l'interaction des quatre zones d'échantillonnage (A, B, C et D) et la maturité des individus (immature (im) et mature (ma)). Au-dessus de la diagonale sont représentées les valeurs de significativité du Test exact. Chaque différence significative est représentée en gras.

	Ama	Bim	Bma	Cim	Cma	Dim	Dma
Ama	-	0,871	0,214	0,000	0,434	0,054	0,322
Bim	0,004	-	0,799	0,046	1,000	1,000	1,000
Bma	0,001	-0,003	-	0,001	0,673	0,280	0,258
Cim	0,024***	0,053***	0,038***	-	0,364	0,083	0,162
Cma	0,017**	0,042**	0,029**	-0,004	-	1,000	1,000
Dim	0,026***	0,053**	0,039***	-0,003	-0,005	-	1,000
Dma	0,003	0,017	0,010	0,004	-0,001	0,006	-

Tableau 15. Valeurs de Φ_{ST} et du degré de significativité (* < 0,05 ; ** < 0,01 et *** < 0,001) entre l'interaction des quatre zones d'échantillonnage (A, B, C et D) et du sexe (femelle = F et mâle = M). Au-dessus de la diagonale sont représentées les valeurs de significativité du Test exact. Chaque différence significative est en gras.

	AF	AM	BF	BM	CF	CM
AF	-	0,389	0,966	0,095	0,049	0,219
AM	-0,002	-	0,639	0,333	0,061	0,179
BF	0,003	0,006*	-	0,586	0,160	0,539
BM	-0,002	-0,001	0,003	-	0,012	0,059
CF	0,027***	0,025***	0,057***	0,031***	-	0,409
CM	0,015**	0,016***	0,034**	0,019**	0,003	-

6.2. Analyses par les marqueurs microsatellites

Les marqueurs microsatellites sont des marqueurs de choix pour étudier une population au niveau spatial et temporel. Les microsatellites sont des marqueurs constitués de motifs mono-, di-, tri- ou tétranucléotidiques répétés en tandem. En plus d'être généralement hautement polymorphes, les microsatellites possèdent les caractéristiques requises pour être des marqueurs idéaux. Ils sont neutres, marquant essentiellement les régions non-codantes, codominants, spécifiques d'un locus, avec un coût et une technicité abordables (détail dans Nikolic 2009). Ils sont également très abondants dans le génome des organismes eucaryotes, ce qui facilite la création de panels répartis dans l'ensemble du génome et le choix de marqueurs indépendants. Ces caractéristiques sont très importantes pour les études en génétique des populations dont les théories reposent généralement sur des concepts de neutralité, d'indépendance et de grande variabilité pour différencier les populations et les individus (détail dans Nikolic 2009).

Pour tester l'hypothèse de l'existence d'une structuration fine en terme d'échelle spatiale ou temporelle, le nombre d'individus collectés et de marqueurs est important. Afin d'appliquer les recommandations minimum du nombre de marqueur à plus de 30-40 marqueurs (SanCristobal et al. 2006; Nikolic et al. 2009), nous avons développé une librairie de marqueurs microsatellites. En effet, il existait 18 marqueurs microsatellites chez le thon germon (Tableau 16). Une partie de ces marqueurs ont été utilisés pour différencier les thons germes du Nord-Est de l'Atlantique de ceux de la Méditerranée à partir de 581 individus (Davis et al. 2011), sur l'ensemble des océans à partir de 551 individus (Montes et al. 2012) et 5 individus (Takagi et al. 2001) (Tableau 16). Néanmoins, le nombre existant de marqueurs (18 marqueurs, Tableau 16) pour le thon germon étant en dessous des recommandations du nombre minimum de marqueurs, nous avons développé 34 marqueurs microsatellites supplémentaires dits « neutres » (Tableau 17) et 2 marqueurs dits « non-neutres » (Tableau 39).

Tableau 16. Marqueurs microsatellites existants lors de la mise en place du projet GERMON avec les auteurs référents et les travaux les ayant utilisés sur le thon germon.

Marqueurs	Auteurs	Travaux utilisant le marqueur
Tth12-29	Clark et al. 2004	Davies et al. 2011
tth1-31	Clark et al. 2004	Montes et al. 2012; Davies et al. 2011
tth14	Clark et al. 2004	Montes et al. 2012; Davies et al. 2011
tth157	Clark et al. 2004	Montes et al. 2012
Tth16-2	Clark et al. 2004	Davies et al. 2011
Tth17	Clark et al. 2004	Davies et al. 2011
tth178	Clark et al. 2004	Montes et al. 2012
Tth185	Clark et al. 2004	Davies et al. 2011
Tth-21	McDowell et al. 2002	Montes et al. 2012
tth226	Clark et al. 2004	Montes et al. 2012
Tth254	Clark et al. 2004	Davies et al. 2011
tth4	Clark et al. 2004	Montes et al. 2012; Davies et al. 2011
Tth-5	McDowell et al. 2002	Montes et al. 2012; Davies et al. 2011
tth62	Clark et al. 2004	Montes et al. 2012
Ttho-1	Takagi et al. 1999	Montes et al. 2012; Takagi 2001
Ttho-4	Takagi et al. 1999	Montes et al. 2012; Davies et al. 2011; Takagi 2001
Ttho-6	Takagi et al. 1999	Montes et al. 2012; Davies et al. 2011; Takagi 2001
Ttho-7	Takagi et al. 1999	Montes et al. 2012; Davies et al. 2011; Takagi 2001

6.2.1. Développement d'un panel de marqueurs microsatellites

Un total de 1670 séquences génétiques ont été caractérisées avec la méthode de pyroséquençage 454 GS-FLX Titanium. A partir de ces séquences, 225 marqueurs microsatellites ont été sélectionnés sur la base de techniques moléculaires et critères d'analyses en génétique des populations. Ces marqueurs ont été amplifiés à l'aide d'ADN extrait de 136 individus provenant des 4 zones géographiques – Sud-ouest océan Indien (zone A - 42), nord-ouest océan Indien (zone B - 31), Afrique du Sud (zone C - 31) et Sud-est de l'Atlantique (zone D - 32). Sur les 225 marqueurs, 43 marqueurs ont pu ainsi être développés avec des conditions d'amplification classiques et une température d'hybridation identique de 55°C afin de pouvoir appliquer du multiplexage. Ces marqueurs (Tableau 17) ont été considérés de bonne qualité pour l'étude de la diversité génétique (nombre d'allèle, du polymorphisme, et de l'hétérozygotie élevés ; voir le Glossaire) et de la structure des populations (détection de structuration – F-statistique de Wright (voir le Glossaire) – à partir de 25 marqueurs) avec des erreurs génotypiques quasi-nulles exceptées pour 3 marqueurs. Ce travail a fait l'objet d'un article scientifique de Rang A (Nikolic et al. 2015). Dans cette publication, nous présentons également le travail de simulation montrant l'importance du nombre minimum de marqueurs et d'échantillons pour répondre aux questions sur la structuration des populations pour cette espèce. Un nombre d'environ 30 individus par site géographique ne permet pas une étude exhaustive de la diversité et de la structuration des populations. Ainsi, nous avons pu, par simulations, montrer l'importance d'augmenter le nombre d'individus. Ces résultats expliquent les travaux ci-dessous (voir paragraphe 6.2.2) sur plus d'individus (> 200 individus) par site géographique.

Tableau 17. Caractéristiques des 34 marqueurs microsatellites développés – nombre d’individus non nul (Nind) ; nombre d’allèles (Na) par marqueurs ; taux hétérozygotie attendu (He), attendu non biaisé (Hnb) et observé (Ho) ; contenu de l’information polymorphisme (PIC) ; fréquences d’allèles nuls c’est-à-dire non détecté mais présent (Fnull) ; le nombre de génotype répété pour étudier le taux d’erreur par nombre d’individu amplifié en pourcentage (Nrep) ; le taux d’erreur génotypique en fonction du taux d’allèles nuls (E1) et d’allèles faux (E2) avec l’intervalle de confiance à 95% (IC). Les valeurs significantes ($p < 0,05$) des écarts entre hétérozygoties et la fréquence d’allèles nuls sont en gras.

Marqueur	Nind	Na	He	Hnb	Ho	PIC	Fnull	Nrep (%)	Erreur génotypique	
									E1 (IC 95%)	E2 (IC 95%)
ThuAla-mt-01	125	19	0,92	0,92	0,72	0,92	0,098	10(7)	0,00 (-0,00-0,22)	0,00 (0,00-0,09)
ThuAla-mt-02	134	27	0,91	0,92	0,90	0,91	0,014	11(8)	0,00 (-0,00-0,09)	0,00 (-0,00-0,07)
ThuAla-mt-03	121	27	0,92	0,92	0,45	0,91	0,221	12(9)	0,33 (-0,02-0,68)	0,00 (0,00-0,08)
ThuAla-mt-04	120	15	0,90	0,91	0,68	0,89	0,109	13(10)	0,00 (-0,00-0,42)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-05	132	8	0,59	0,59	0,55	0,54	0,046	13(10)	0,00 (0,00-0,21)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-06	136	10	0,70	0,70	0,71	0,66	0,014	13(10)	0,00 (0,00-0,07)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-07	135	12	0,69	0,69	0,66	0,64	0,019	13(10)	0,00 (0,00-0,07)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-08	135	14	0,83	0,83	0,73	0,81	0,054	13(10)	0,00 (-0,00-0,06)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-09	136	9	0,76	0,77	0,70	0,73	0,042	13(10)	0,00 (-0,00-0,06)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-10	136	27	0,87	0,87	0,85	0,85	0,014	13(10)	0,00 (-0,00-0,07)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-11	106	3	0,21	0,21	0,15	0,19	0,080	3(2)	0,00 (0,00-0,08)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-12	136	11	0,54	0,55	0,55	0,52	0,017	12(8)	0,00 (-0,00-0,13)	0,00 (-0,00-0,07)
ThuAla-mt-13	136	6	0,47	0,47	0,46	0,45	0,033	13(10)	0,00 (0,00-0,15)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-14	136	16	0,85	0,85	0,83	0,83	0,010	13(10)	0,00 (-0,00-0,07)	0,00 (-0,00-0,06)
ThuAla-mt-15	136	10	0,62	0,61	0,54	0,57	0,058	13(10)	0,00 (-0,00-0,11)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-16	134	20	0,89	0,89	0,79	0,88	0,051	12(9)	0,00 (0,00-0,07)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-17	51	10	0,63	0,63	0,12	0,60	0,293	6(4)	0,70 (0,03-1,81)	0,00 (-0,00-0,22)
ThuAla-mt-18	134	18	0,88	0,89	0,81	0,88	0,034	13(9)	0,00 (-0,00-0,06)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-19	115	13	0,72	0,72	0,29	0,68	0,240	11(8)	0,00 (0,00-0,14)	0,00 (0,00-0,07)
ThuAla-mt-20	130	36	0,94	0,94	0,63	0,94	0,139	13(9)	0,00 (-0,00-0,12)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-21	124	18	0,86	0,87	0,45	0,85	0,207	12(9)	0,42 (-0,02-0,78)	0,00 (0,00-0,09)
ThuAla-mt-22	125	20	0,85	0,85	0,51	0,83	0,165	11(8)	0,41 (-0,98-0,84)	0,00 (0,00-0,10)
ThuAla-mt-23	135	9	0,63	0,63	0,65	0,60	0,010	13(9)	0,00 (0,00-0,22)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-24	136	13	0,85	0,85	0,84	0,83	0,014	13(10)	0,02 (0,00-0,06)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-25	136	13	0,77	0,77	0,79	0,74	0,012	13(10)	0,00 (0,00-0,12)	0,00 (-0,00-0,07)
ThuAla-mt-26	136	16	0,69	0,70	0,67	0,65	0,019	13(10)	0,00 (-0,00-0,08)	0,00 (-0,00-0,06)
ThuAla-mt-27	121	20	0,80	0,80	0,45	0,79	0,186	9(6)	0,00 (-0,00-0,25)	0,00 (0,00-0,09)
ThuAla-mt-28	136	30	0,92	0,93	0,94	0,92	0,007	13(10)	0,00 (0,00-0,06)	0,00 (-0,00-0,06)
ThuAla-mt-29	135	22	0,84	0,84	0,78	0,82	0,024	13(10)	0,00 (-0,00-0,06)	0,00 (-0,00-0,06)
ThuAla-mt-30	136	17	0,85	0,86	0,84	0,84	0,014	13(10)	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-31	135	24	0,91	0,91	0,90	0,90	0,010	13(10)	0,00 (-0,00-0,07)	0,00 (-0,00-0,06)
ThuAla-mt-32	136	14	0,61	0,61	0,63	0,59	0,019	13(10)	0,00 (-0,00-0,08)	0,00 (0,00-0,06)
ThuAla-mt-33	130	32	0,95	0,96	0,94	0,95	0,013	10(7)	0,00 (0,00-0,07)	0,00 (0,00-0,07)
ThuAla-mt-34	135	17	0,84	0,84	0,85	0,82	0,020	13(10)	0,00 (-0,00-0,07)	0,00 (-0,00-0,06)
Moyenne		16,94	0,77	0,77	0,66	0,75				

6.2.2. Evaluation des liens existants entre océan Indien et Atlantique Sud et identification de l'origine des juvéniles de germon capturés en Afrique Sud

Les 18 marqueurs microsatellites développés en dehors de ce projet (Tableau 16) et les 34 marqueurs développés au sein de ce projet (Tableau 17 ; Nikolic et al. 2015) ont été utilisés dans les analyses génétiques, soit un total de 54 marqueurs microsatellites. Ces marqueurs ont été étudiés sur l'ensemble des individus (1874) de l'ensemble des zones et des deux périodes échantillonnées. Des tests de qualité ont été effectués pour sélectionner les marqueurs cohérents avec les théories classiques de génétique des populations afin d'éviter les biais lors des analyses de la structuration des populations. Les résultats sont présentés au sein du Tableau 18 avec le panel B comme panel de marqueur final sélectionné (35 marqueurs) pour une étude exhaustive en génétique des populations. Un des marqueurs (Tth17) a été conservé, malgré la forte probabilité d'allèles nuls, au regard de son fort polymorphisme et du respect de l'équilibre à Hardy-Weingberg. Les premiers tests effectués avec et sans ce marqueur ne montrent pas de différence avec la majorité des analyses. Néanmoins, la publication scientifique en cours retirera probablement ce marqueur du panel B.

L'ensemble des marqueurs présente une forte variabilité génétique (hétérozygotie, nombre d'allèles et PIC), excepté le marqueur ThuAla-mt-11 et ThuAla-Hki-01. Les ThuAla-mt-05, Tth16-2, et Tth-21 sont moyennement variables mais nous les avons gardés car ils répondent aux autres exigences de qualité. Les marqueurs à faible variabilité génétique, avec la présence d'allèle nul, et en déséquilibre Hardy-Weinberg, ont été éliminés de la sélection finale afin de constituer le panel de microsatellite B (voir le Tableau 18). Ce panel permet une étude en génétique des populations selon les hypothèses de neutralité.

Tableau 18. Caractéristiques des 54 marqueurs sur l'ensemble des individus échantillonnés et génotypés avec succès (1874 individus). Nombre d'individus (Nind). Nombre d'allèles (Na). Hétérozygotie attendue (He), attendue non-biaisée (Hnb) et observée (Ho). Le contenu de l'information de polymorphisme (PIC). Probabilité d'exclusion (PE1, monoparentale; PE2, un deuxième parent donnant un premier parent affecté; PE3, une paire de parents). La fréquence d'allèle nul (Fnull). Nombre de génotypes répétés (Nrep et le pourcentage (%) du nombre de répétition des individus génotypés pour chaque loci). Taux de génotypage erroné par allèle, E1 référant au décrochage et E2 à allèle faux, et l'intervalle de confiance de 95% (IC). Les valeurs significatives sont en caractères gras ($p < 0,05$) pour excès d'hétérozygotie, Fnull et Fis. Hardy Weinberg par le test du chi carré (HW): ns = non significatif ; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Ensemble des marqueurs étudiés (Panel A). Panel final pour l'étude en génétique des populations (Panel B).

Marqueur	Nind	Na	He	Hnb	Ho	PIC	HW	Fnull	PI	PE1	PE2	PE3	Nrep (%)	Erreur genotypique		Panel A	Panel B
														E1 (IC 95%)	E2 (IC 95%)		
ThuAla-mt-01	1481	27	0,92	0,92	0,56	0,92	***	0,17	0,01	0,72	0,84	0,96	10(73)	0,00 (-0,00-0,22)	0,00 (0,00-0,09)	x	
ThuAla-Tcell-01	1750	26	0,91	0,91	0,88	0,90	ns	0,00	0,02	0,69	0,81	0,94	13(100)	0,00 (0,00-0,07)	0,00 (0,00-0,06)	x	
ThuAla-mt-02	1635	38	0,92	0,92	0,88	0,91	**	0,01	0,01	0,71	0,83	0,95	11(81)	0,00 (-0,00-0,09)	0,00 (-0,00-0,07)	x	x
ThuAla-mt-03	1598	37	0,92	0,92	0,46	0,92	***	0,22	0,01	0,73	0,84	0,96	12(92)	0,33 (-0,02-0,68)	0,00 (0,00-0,08)	x	
ThuAla-mt-04	1719	25	0,91	0,91	0,70	0,91	***	0,09	0,01	0,69	0,82	0,95	13(100)	0,00 (-0,00-0,42)	0,00 (0,00-0,06)	x	
ThuAla-mt-05	1714	8	0,58	0,58	0,55	0,52	***	0,00	0,23	0,18	0,33	0,49	13(100)	0,00 (0,00-0,21)	0,00 (0,00-0,06)	x	x
ThuAla-mt-06	1793	13	0,69	0,69	0,65	0,63	***	0,01	0,15	0,27	0,44	0,62	13(100)	0,00 (0,00-0,07)	0,00 (0,00-0,06)	x	x
ThuAla-mt-07	1803	20	0,67	0,67	0,65	0,62	***	0,00	0,16	0,26	0,43	0,61	13(100)	0,00 (0,00-0,07)	0,00 (0,00-0,06)	x	x
ThuAla-mt-08	1782	17	0,84	0,84	0,73	0,82	***	0,04	0,04	0,52	0,69	0,86	13(100)	0,00 (-0,00-0,06)	0,00 (0,00-0,06)	x	x
ThuAla-mt-09	1793	16	0,77	0,77	0,68	0,73	***	0,03	0,09	0,37	0,55	0,73	13(100)	0,00 (-0,00-0,06)	0,00 (0,00-0,06)	x	x
ThuAla-mt-10	1725	53	0,87	0,87	0,80	0,86	**	0,01	0,03	0,59	0,74	0,91	13(100)	0,00 (-0,00-0,07)	0,00 (0,00-0,06)	x	x
ThuAla-mt-11	1334	3	0,23	0,23	0,19	0,21	***	0,05	0,61	0,03	0,11	0,19	3(19)	0,00 (0,00-0,08)	0,00 (0,00-0,06)	x	
ThuAla-mt-12	1665	12	0,57	0,57	0,54	0,54	*	0,00	0,21	0,19	0,37	0,57	12(88)	0,00 (-0,00-0,13)	0,00 (-0,00-0,07)	x	x
ThuAla-mt-13	1842	10	0,51	0,51	0,46	0,48	***	0,01	0,27	0,15	0,31	0,50	13(100)	0,00 (0,00-0,15)	0,00 (0,00-0,06)	x	x
ThuAla-mt-14	1783	20	0,84	0,84	0,81	0,83	**	0,00	0,04	0,53	0,70	0,87	13(100)	0,00 (-0,00-0,07)	0,00 (-0,00-0,06)	x	x
ThuAla-mt-15	1810	13	0,62	0,62	0,59	0,57	***	0,01	0,19	0,21	0,38	0,56	13(100)	0,00 (-0,00-0,11)	0,00 (0,00-0,06)	x	x
ThuAla-mt-16	1654	25	0,88	0,88	0,80	0,87	***	0,02	0,03	0,61	0,76	0,92	12(92)	0,00 (0,00-0,07)	0,00 (0,00-0,06)	x	x
ThuAla-mt-17	885	21	0,72	0,72	0,19	0,67	***	0,28	0,12	0,31	0,49	0,67	6(42)	0,70 (0,03-1,81)	0,00 (-0,00-0,22)	x	
ThuAla-mt-18	1769	26	0,89	0,89	0,76	0,89	***	0,05	0,02	0,66	0,79	0,93	13(96)	0,00 (-0,00-0,06)	0,00 (0,00-0,06)	x	
ThuAla-Hki-01	1762	16	0,24	0,24	0,23	0,23	**	0,00	0,59	0,03	0,13	0,23	13(100)	0,00 (-0,00-0,12)	0,00 (0,00-0,06)	x	
ThuAla-mt-19	1403	16	0,69	0,69	0,28	0,65	***	0,22	0,14	0,29	0,45	0,64	11(85)	0,00 (0,00-0,14)	0,00 (0,00-0,07)	x	
ThuAla-mt-20	1641	58	0,94	0,94	0,66	0,94	***	0,12	0,01	0,80	0,89	0,98	13(96)	0,00 (-0,00-0,12)	0,00 (0,00-0,06)	x	
ThuAla-mt-21	1613	25	0,84	0,84	0,40	0,83	***	0,22	0,04	0,54	0,71	0,88	12(92)	0,42 (-0,02-0,78)	0,00 (0,00-0,09)	x	
ThuAla-mt-22	1600	23	0,85	0,85	0,49	0,84	***	0,17	0,04	0,56	0,72	0,89	11(85)	0,41 (-0,98-0,84)	0,00 (0,00-0,10)	x	

Action 3 – Identification des liens existants entre les stocks Indien et Atlantique Sud et impact potentiel sur la flottille palangrière réunionnaise

ThuAla-mt-23	1781	19	0,60	0,60	0,59	0,57	*	0,00	0,19	0,21	0,39	0,59	13(96)	0,00 (0,00-0,22)	0,00 (0,00-0,06)	x	x
ThuAla-mt-24	1824	18	0,85	0,85	0,83	0,84	ns	0,00	0,04	0,55	0,71	0,88	13(100)	0,02 (0,00-0,06)	0,00 (0,00-0,06)	x	
ThuAla-mt-25	1776	16	0,76	0,76	0,73	0,74	***	0,00	0,08	0,39	0,58	0,78	13(100)	0,00 (0,00-0,12)	0,00 (-0,00-0,07)	x	x
ThuAla-mt-26	1825	25	0,72	0,72	0,67	0,68	***	0,01	0,12	0,32	0,49	0,68	13(100)	0,00 (-0,00-0,08)	0,00 (-0,00-0,06)	x	x
ThuAla-mt-27	1471	27	0,85	0,85	0,44	0,84	***	0,20	0,03	0,56	0,72	0,90	9(65)	0,00 (-0,00-0,25)	0,00 (0,00-0,09)	x	
ThuAla-mt-28	1716	40	0,92	0,92	0,88	0,91	*	0,00	0,01	0,72	0,83	0,96	13(100)	0,00 (0,00-0,06)	0,00 (-0,00-0,06)	x	x
ThuAla-mt-29	1775	32	0,83	0,83	0,80	0,82	**	0,00	0,04	0,52	0,69	0,87	13(100)	0,00 (-0,00-0,06)	0,00 (-0,00-0,06)	x	x
ThuAla-mt-30	1790	24	0,86	0,86	0,84	0,85	*	0,00	0,03	0,58	0,73	0,90	13(100)	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,06)	x	x
ThuAla-mt-31	1794	30	0,91	0,91	0,88	0,91	*	0,00	0,01	0,71	0,83	0,95	13(100)	0,00 (-0,00-0,07)	0,00 (-0,00-0,06)	x	x
ThuAla-mt-32	1794	23	0,67	0,67	0,68	0,66	ns	0,00	0,13	0,30	0,49	0,71	13(100)	0,00 (-0,00-0,08)	0,00 (0,00-0,06)	x	
ThuAla-mt-33	1634	43	0,96	0,96	0,91	0,95	***	0,01	0	0,84	0,91	0,99	10(77)	0,00 (0,00-0,07)	0,00 (0,00-0,07)	x	x
ThuAla-mt-34	1740	21	0,84	0,84	0,81	0,83	*	0,00	0,04	0,53	0,70	0,87	13(100)	0,00 (-0,00-0,07)	0,00 (-0,00-0,06)	x	x
Tth12-29	1842	15	0,62	0,62	0,62	0,55	**	0,00	0,21	0,21	0,36	0,52	13(100)	0,00 (-0,00-0,07)	0,70 (0,49-1,59)	x	x
tth1-31	1787	26	0,81	0,81	0,80	0,79	ns	0,00	0,06	0,47	0,64	0,83	13(100)	0,19 (0,09-0,33)	0,70 (0,57-2,85)	x	
tth14	1755	12	0,61	0,61	0,58	0,54	***	0,01	0,22	0,20	0,34	0,50	13(100)	0,34 (0,17-0,56)	0,70 (0,47-1,08)	x	x
tth157	1794	11	0,57	0,57	0,58	0,54	*	0,00	0,22	0,18	0,35	0,54	13(100)	0,05 (0,00-0,14)	0,70 (0,60-1,26)	x	x
Tth16-2	1561	9	0,74	0,74	0,61	0,69	***	0,04	0,11	0,33	0,50	0,68	13(100)	0,19 (0,09-0,32)	0,70 (0,59-2,79)	x	x
Tth17	1068	38	0,88	0,88	0,36	0,87	***	0,25	0,02	0,63	0,77	0,93	13(69)	0,04 (0,00-0,12)	0,70 (0,61-1,19)	x	(x)
tth178	1700	15	0,84	0,84	0,83	0,82	ns	0,00	0,05	0,51	0,68	0,85	13(100)	0,00 (-0,00-0,05)	0,70 (0,62-2,80)	x	
Tth185	1820	37	0,93	0,93	0,92	0,93	*	0,00	0,01	0,76	0,87	0,97	13(100)	0,16 (0,07-0,29)	0,70 (0,58-2,51)	x	x
Tth-21	1850	5	0,53	0,53	0,52	0,44	***	0,00	0,32	0,14	0,24	0,37	13(100)	0,07 (0,00-0,18)	0,70 (0,61-1,46)	x	x
tth226	1791	37	0,93	0,93	0,88	0,92	**	0,01	0,01	0,74	0,85	0,96	13(100)	0,00 (0,00-0,64)	0,70 (0,09-1,81)	x	x
Tth254	1786	43	0,94	0,94	0,88	0,94	***	0,02	0,01	0,78	0,88	0,97	13(100)	0,13 (0,00-0,50)	0,70 (0,30-2,18)	x	x
tth4	1714	60	0,95	0,95	0,94	0,95	ns	0,00	0	0,83	0,90	0,98	13(100)	0,05 (0,00-0,22)	0,70 (0,42-1,26)	x	
Tth-5	1760	34	0,90	0,90	0,78	0,89	***	0,04	0,02	0,67	0,80	0,94	13(100)	0,08 (0,022-0,17)	0,70 (0,60-1,53)	x	x
tth62	1797	21	0,78	0,78	0,74	0,76	*	0,00	0,07	0,42	0,60	0,79	13(100)	0,03 (0,00-0,13)	0,70 (0,52-3,50)	x	x
Ttho-1	1808	12	0,62	0,62	0,60	0,58	*	0,00	0,18	0,22	0,40	0,58	13(100)	0,21 (0,12-0,40)	0,70 (0,57-3,30)	x	x
Ttho-4	1681	35	0,88	0,88	0,84	0,87	ns	0,01	0,02	0,63	0,77	0,93	13(92)	0,09 (-1,38-2,12)	0,17 (-0,02-1,90)	x	
Ttho-6	1614	19	0,72	0,72	0,64	0,70	***	0,03	0,1	0,34	0,53	0,74	13(100)	0,01 (-0,02-2,25)	0,55 (-1,51-2,62)	x	x
Ttho-7	1755	23	0,88	0,88	0,81	0,87	***	0,02	0,03	0,61	0,76	0,91	13(100)	0,05 (-0,84-1,90)	0,67 (-0,01-1,39)	x	x
Moyenne	1692	24,41	0,77	0,77	0,67	0,75										Total: 54	Total: 35

6.2.3. Structure des populations

Les analyses génétiques sur 54 marqueurs (Panel A, Tableau 18) et 35 marqueurs (Panel B, Tableau 18) ont été effectuées sur l'ensemble des individus échantillonnés (1874 individus). Les analyses génétiques ont pu estimer la présence de deux groupes distincts : le groupe Sud-ouest océan Indien (A et B ensemble ; A1, A2, B1, B2 ensemble) et le groupe Sud-est Atlantique et Afrique du Sud (C et D ensemble ; et C1, C2, D1 et D2 ensemble) (Figure 28 ; Figure 29 ; Figure 30 ; Figure 31). L'arbre de distance génétique (voir le Glossaire) à partir de la distance Dsw (distance adaptée aux microsatellites) montre deux clades avec les deux panels de marqueurs (Figure 28). Un rapprochement entre B2 et C2 apparaît (Figure 28).

L'analyse des distances de la matrice Fst avec une analyse en coordonnée principale (PCO) (Figure 31) est mieux adaptée qu'avec une ACP (Analyse de Correspondance Principale). En effet, la PCO permet d'employer différentes distances génétiques, ignorer les absences conjointes, et chercher les relations entre les observations. Cette analyse met ainsi en évidence un rapprochement au sein du groupe C-D en fonction des saisons.

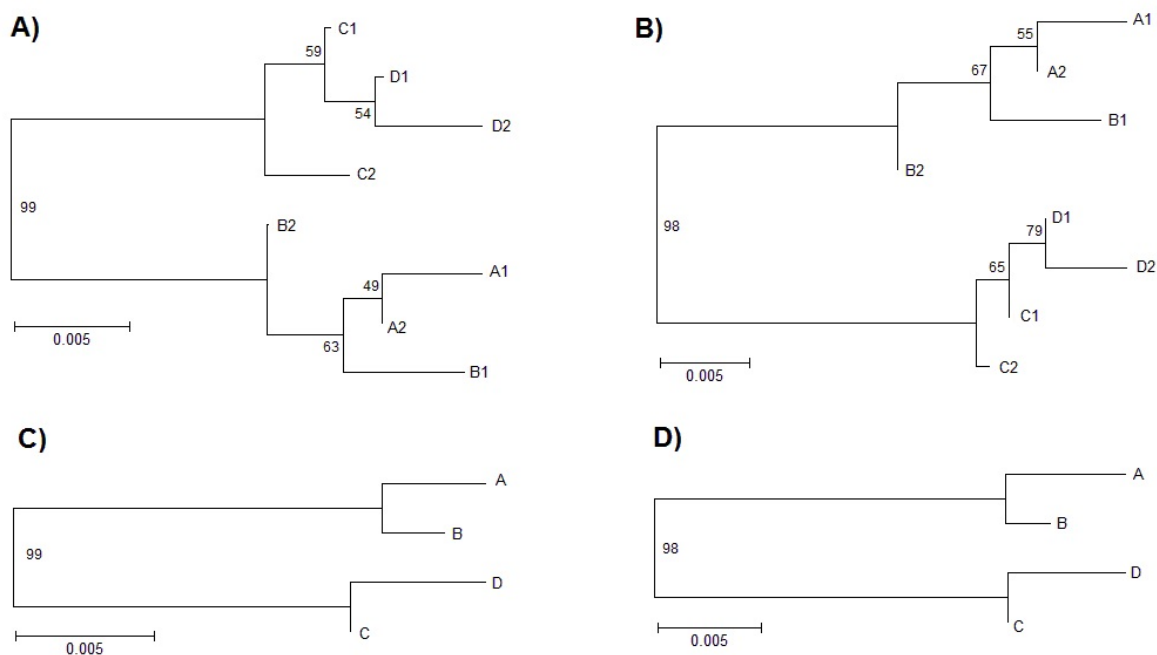


Figure 28. Arbre Neighbor Joining (NJ) selon la distance génétique Dsw (Shiver et al. 1995) avec le panel des 54 marqueurs microsatellites (Fig. A, Fig. C) et 35 microsatellites (Fig. B, Fig. D) lorsque l'on considère les deux périodes temporelles ensemble (Fig. A, Fig. C) et séparément (Fig. B, Fig. D). La robustesse de chaque nœud, calculé avec 100 000 répétitions, se trouve en pourcentage le long de la branche de l'arbre. L'estimation des F-statistiques de Wright (Fst) et la comparaison matricielle permet de mettre en évidence la présence de deux groupes populationnels (Figure 29 ; Figure 30 ; Tableau 19).

Tableau 19. F-statistiques de Wright avec 10 000 permutations pour tester la significativité $p < 0,05$ (en gras) entre les 4 aires géographiques échantillonnées (A, B, C, D) en utilisant le panel de 35 marqueurs microsatellites.

	A	B	C	D
A	0			
B	0.00004	0		
C	0.00116	0.00129	0	
D	0.00209	0.00253	0.00007	0

← *A et B ensemble*

← *C et D ensemble*

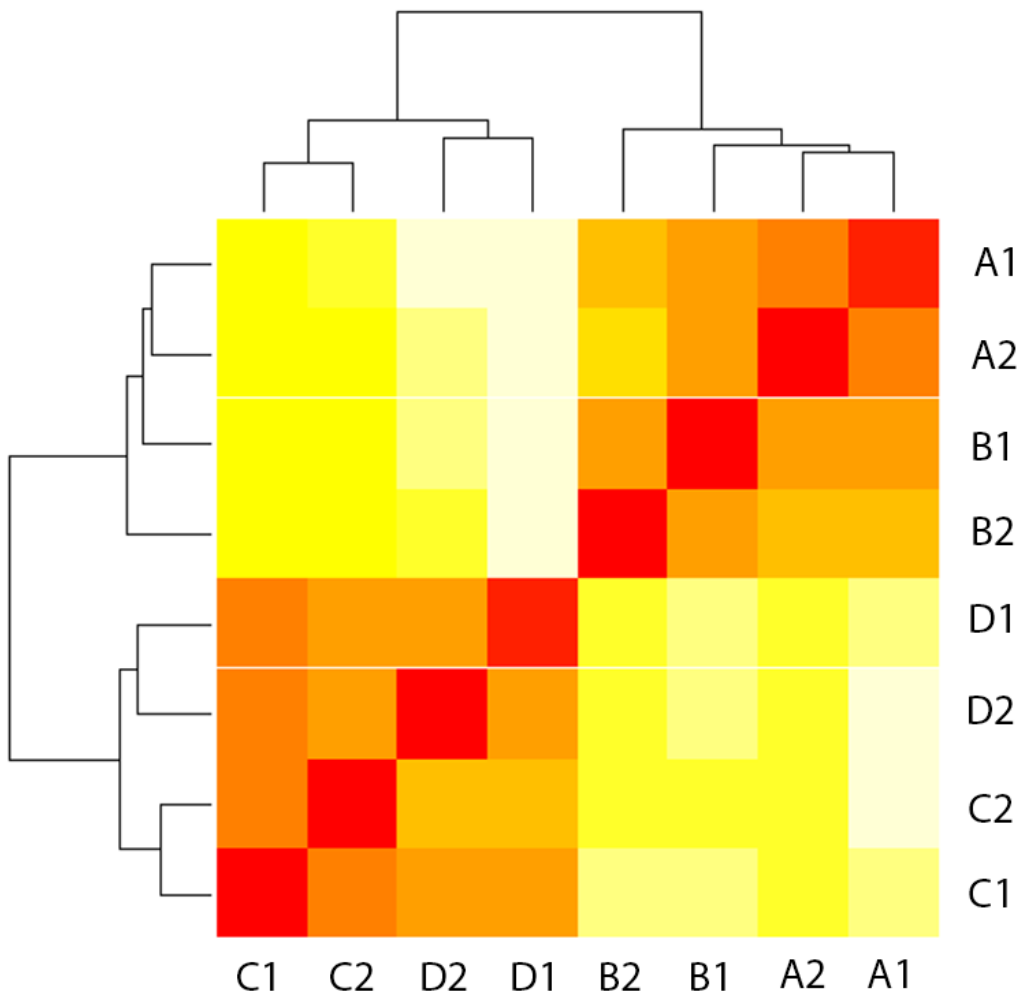


Figure 29. Matrice de Fst avec dendrogramme sur l'ensemble des individus de thon germon, des groupes en fonction des zones (A, B, C, D) et saison (1 et 2) avec le panel de 35 marqueurs microsatellites. En rouge les individus les plus proches. En blanc les individus les plus éloignés.

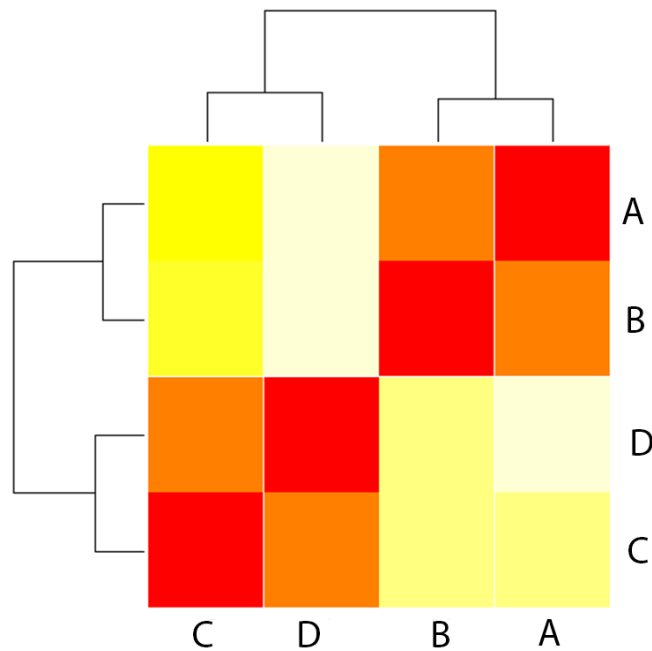


Figure 30. Matrice de Fst avec dendrogramme sur l'ensemble des individus de thon germon et les 4 aires géographiques échantillonnées (A, B, C, D) géotypés avec le panel de 35 marqueurs microsatellites. En rouge les individus les plus proches. En blanc les individus les plus éloignés.

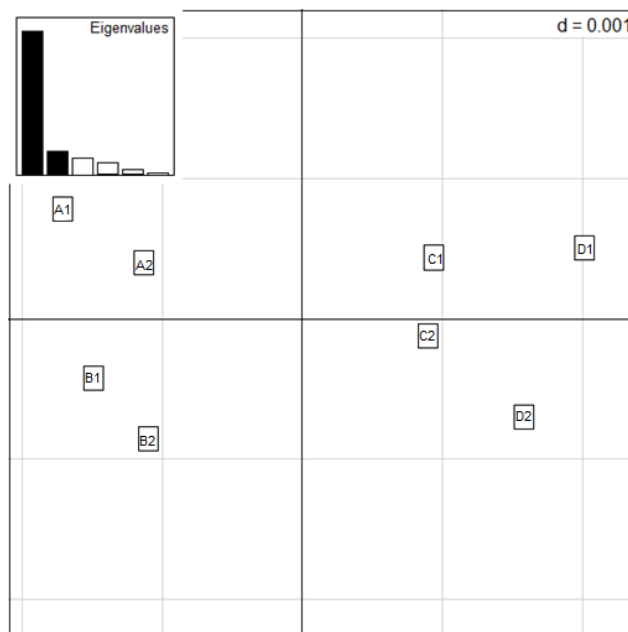


Figure 31. Analyse des distances de la matrice FST (Principal Coordinate Analysis, PCO) selon les données géotypiques obtenues sur l'ensemble des individus de thon germon par les marqueurs microsatellites ($n = 35$) entre les 4 aires géographiques échantillonnées (A, B, C, D) sur les deux périodes temporelles (1 et 2). Le graphique en haut à gauche représente les valeurs propres (Eigenvalue) sur 2 axes (axe 1 vs 2).

Pour confirmer l'identification de ces 2 groupes (A-B, et C-D), nous avons utilisé le logiciel STRUCTURE (Pritchard et al. 2000) et la méthode d'Evanno et al. (2005). Cette analyse se base sur une méthode de regroupement (« clustering ») qui classe les individus dans des groupes (« clusters ») en fonction de leur génotype pour détecter la structuration des populations. Le nombre de populations potentielles (K) a été testé en utilisant une approche bayésienne inférant la valeur de K avec la meilleure résolution. Pour cela, nous avons réalisé 10 simulations avec 200 000 itérations de *burn-in* et 400 000 MCMC (chaîne de Monte Carlo Markov). Le nombre de K a été déterminé en estimant la probabilité logarithmique des données ($\ln P(D)$) pour chaque K et en les confrontants avec la valeur de Delta K provenant de la méthode Evanno et al. (2005) à partir du programme de (Earl et vonHoldt 2012). Le pic dans la courbe des Delta K (Figure 32) confirme le nombre de populations potentielles structurant nos données génétiques.

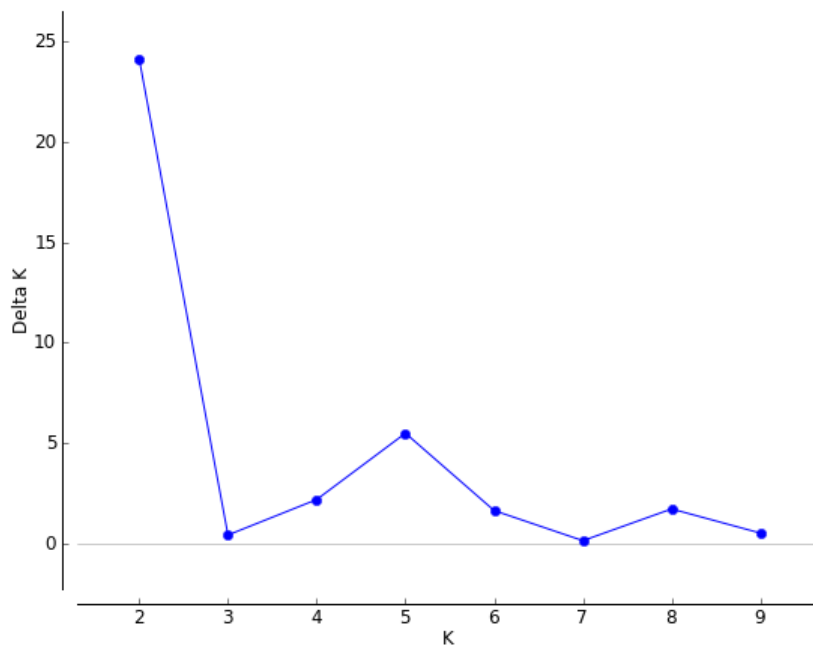


Figure 32. Méthode d'Evanno et al. (2005) sur l'ensemble des échantillons de thon germon et les 35 marqueurs microsatellites. Cette méthode permet d'identifier le nombre de groupe (K) en structuration génétique. Analyses obtenues sur 10 runs, avec un burn-in de 200 000 et 400 000 MCMC (Chaîne de Monte Carlo Markov).

Ces tests confirment la présence de deux populations : A-B (individus de l'océan Indien) et C-D (individus de l'Atlantique Sud. Nous avons ainsi pu estimer les probabilités d'assignement (voir le Glossaire) pour chaque individu au sein de ces deux groupes (A-B et C-D). Ces estimations ont ensuite été transformées en pourcentage de présence et d'absence puis représentées sur une carte qui nous permet de visualiser les différences selon un gradient géographique (Figure 33).

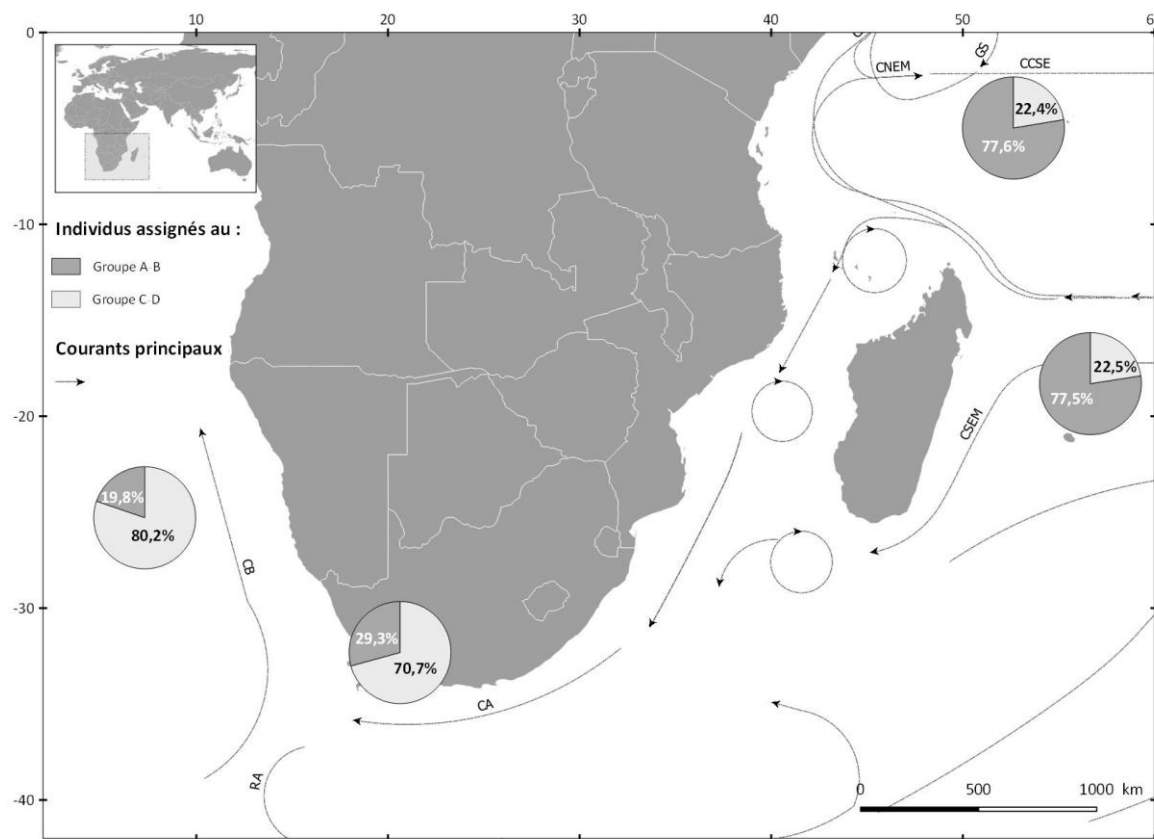


Figure 33. Pourcentages des probabilités d'assignement individuel (présence/absence) provenant des analyses STRUCTURE en fonction des groupes A-B (gris foncé) et C-D (gris clair).

Concernant la structuration intra-populationnelle, des différenciations existent notamment entre A et B. Nous avons donc travaillé sur les calculs de probabilités de première génération en utilisant le logiciel GENECLASS (Piry et al. 2004) sous les critères de Paetkau et al. 1995 et l'algorithme de simulation de Paetkau et al. 2004 (1000 itérations) avec un seuil de probabilité à 0,01. Ces analyses permettent des inférences sur les pourcentages des immigrants de première génération et ainsi une estimation des flux migratoires potentiels entre les zones. Les analyses ont été effectuées entre les groupes A-B et C-D ; A, B, C, et D, et en séparant toutes les zones par leur période d'échantillonnage (A1, A2, B1, B2, C1, C2, D1, et D2). Malgré leur différenciation génétique, l'identification de migrants de première génération montre clairement des échanges entre les deux zones (Sud-ouest océan Indien et Sud-est de l'Atlantique). Lorsque l'estimation est effectuée en séparant les zones d'étude et les périodes (soit A1, A2, B1, B2, C1, C2, D1, et D2), Les immigrants ont été détectés dans la zone D et proviendraient majoritairement de B2, l'échantillon le plus à l'embouchure du Canal du Mozambique. On peut donc supposer un passage d'individus de l'océan Indien vers l'Atlantique en passant par le Canal du Mozambique. Néanmoins, les analyses faites en regroupant A-B et C-D montrent une asymétrie entre les deux principaux flux migratoires (Sud-ouest océan Indien versus Sud-est Atlantique) avec des contradictions sur les résultats. Des analyses plus poussées (ex. Geneland) sont en cours pour mieux préciser et statuer sur les flux migratoires.

Nous avons également estimé le paramètre Nm de Wright (1969) par le logiciel GENETIX. Ce paramètre représente le flux génétique entre zones définies et il est l'équivalent du nombre d'immigrant par génération sous l'hypothèse d'équilibre de la population. Il est également retrouvé sous le terme de $2Nm$ qui représente le taux de migration dans une population. Pour essayer de respecter les hypothèses d'équilibre de la population, nous avons travaillé sur l'estimation de ce paramètre à partir du panel de microsatellite B. Govindajaru (1989) distingue trois niveaux de flux de gène : fort ($Nm > 1$), intermédiaire ($0,25 < Nm < 0,99$) et faible ($Nm < 0,25$). Les valeurs de Nm sont toutes supérieures à 1 (Tableau 20) et sont les plus élevées entre A et B ainsi que C et D confirmant la présence de deux groupes A-B et C-D. Néanmoins, ces critères définis par Govindajaru (1989) pour appréhender la divergence entre populations peuvent être trop stricte notamment dans le cas de population très grande dont les fréquences et polymorphismes alléliques sont importantes (Waples et al. 2006). Les valeurs comprises entre $1 < Nm < Ne(n - 1)/n$ sont généralement difficiles à interpréter. Des fortes valeurs de Nm ne signifient pas forcément une faible, voire inexistante, divergence entre les populations. Nous pouvons seulement confirmer dans notre cas que les flux génétiques (immigration) sont élevés ($Nm > 25$, Waples et al. 2006) dans et entre les deux groupes (A-B et C-D : océan Indien vers l'Atlantique et vice versa). Ces résultats sont confirmés par les valeurs de F_{st} (Tableau 19). Nous pouvons également observer une estimation de migration en lien avec les distances géographiques. Pour finir, le test de Mantel permet de répondre à l'hypothèse d'isolement par la distance supportée par les données génétiques entre individus. Les résultats obtenus avec un ré-échantillonnage égal à 10 000 confirment que la structuration observée optant pour distinction de deux groupes majeurs (A-B ; C-D) serait liée à une isolation par la distance (valeur-p significative, $p = 9.999e-05$).

Tableau 20. Estimation du flux génétique (Nm) entre paires de zone (A, B, C, et D) selon Wright (1969).

Zone	A	B	C	D
A		499,12	85,28	58,76
B			81,19	57,64
C				598,19

6.2.4. Diversité génétique

L'analyse de biodiversité s'est basée sur les génotypages à partir du panel B (35 microsatellites) et les différences structurelles traitées ci-dessus.

La diversité génétique du thon germon pour chacun des groupes (A, B, C, et D) est très élevée. La richesse allélique (nombre d'allèles moyen par locus) est autour de 19 par groupes séparés et 21 en considérant les deux groupes (A-B et C-D) (Tableau 21). L'hétérozygotie attendue (H_e), attendue non-biaisée (H_{nb}), et observée (H_o) est compris entre 0,69 et 0,77 (Tableau 21). Les groupes montrent un déficit d'hétérozygotie avec une hétérozygotie la plus faible en Afrique du Sud (zone C) ont une hétérozygotie plus faible. L'ensemble des écart-types étant élevés, ces résultats sont à prendre avec précaution. Néanmoins les analyses par locus et par zone (test exact de l'équilibre Hardy-Weinberg par chaîne de Markov avec 1 000 000 de chaînes et 100 000 de permutations – logiciel Arlequin) présentent un déficit d'hétérozygotie

significatif pour 28,6% des locus de la zone A, 48,6% de la zone B, 71,5% de la zone C, et 54,3% de la zone D. Il semblerait donc que l'Afrique du Sud ait un déficit d'hétérozygotie plus important que dans les autres zones. Des analyses sous modèle SMM et TPM par permutations sont en cours pour approfondir ces résultats.

Tableau 21. Diversité (nombre d'allèle moyen par locus et hétérozygotie attendue (He), attendue non-biaisée (Hnb), et observée (Ho)).

Groupe	He	Hnb	Ho	Nombre d'allèles moyens/locus
A	0,76	0,77	0,72	19,03
<i>Ecart-type :</i>	<i>0,14</i>	<i>0,14</i>	<i>0,14</i>	
B	0,76	0,76	0,72	18,71
<i>Ecart-type :</i>	<i>0,14</i>	<i>0,14</i>	<i>0,15</i>	
C	0,77	0,77	0,69	19,71
<i>Ecart-type :</i>	<i>0,14</i>	<i>0,14</i>	<i>0,14</i>	
D	0,77	0,77	0,71	18,74
<i>Ecart-type :</i>	<i>0,13</i>	<i>0,13</i>	<i>0,15</i>	
AB	0,76	0,76	0,72	20,69
<i>Ecart-type :</i>	<i>0,14</i>	<i>0,14</i>	<i>0,14</i>	
CD	0,77	0,77	0,70	21,23
<i>Ecart-type :</i>	<i>0,14</i>	<i>0,14</i>	<i>0,15</i>	

Concernant les indices de consanguinité, nous avons estimé le Fis pour chacun des groupes (A, B, C, D ; ainsi que A-B et C-D) avec 10 000 permutations en utilisant le package adegenet (Jombart 2008). Lorsque la population est en équilibre le Fis = 0; en déficit d'hétérozygotes le Fis > 0; et en excès hétérozygotes le Fis < 0. Pour l'ensemble des groupes (A, B, C, et D ; ainsi que A-B et C-D), il y a un déficit d'hétérozygotes et tous les Fis sont significatifs (*) (Figure 34). Le déficit est plus fort pour les groupes C et D ensemble et séparément (Figure 34) que les groupes A et B. Ces résultats suggèrent que les populations ne sont pas en équilibre et qu'elles se sont appauvries en variabilité génétique. C'est appauvrissement peut venir d'un goulot d'étranglement récent ou une diminution de la population. Le Fis indique un écart à la panmixie (cause biologique) qui pourrait provenir soit d'un comportement de reproduction entre individus proches génétiquement, ie plus aparentés ou soit à de l'effet wahlund. La deuxième hypothèse semble moins probable puisque le Fis est >> au Fst. Les locus ont une distribution normale autour des F-statistiques avec des valeurs très proches et des écarts type faibles indiquant que ce n'est pas un problème technique (Annexe E).

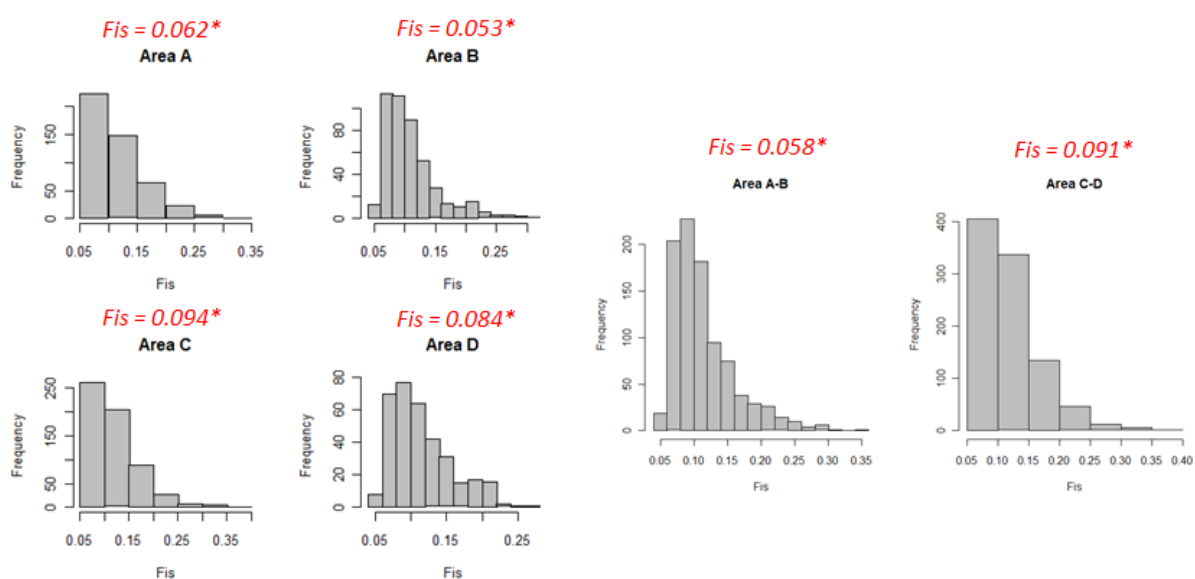


Figure 34. Distribution des Fis pour les groupes A, B, C, et D ; ainsi que A-B et C-D. La valeur du Fis et sa significativité (*) sont mentionnées en haut de l’histogramme en rouge.

6.2.5. Biais sexuel

L’analyse du biais sexuel s’est basée sur les génotypages à partir du panel B (35 microsatellites) et les différences entre les populations observées ci-dessus.

Le sexe des individus était connu pour l’ensemble des zones sauf pour la zone D (voir paragraphe 3.1). Les comparaisons de la distribution des indices d’affectation (assignement) entre les sexes permettent de détecter la présence de dispersion sexuelle. Nous avons donc utilisé un test d’assignation sur population pour tester la dispersion sexuelle en utilisant le logiciel GENALEX (Peakall et Smouse 2006). Cette méthode produit un indicateur d’assignement moyen (AIC) pour chaque sexe selon la méthode de Mossman et Waser (1999). Des AIC négatifs caractérisent des individus avec une forte probabilité d’être des migrants (se dispersent), tandis que des valeurs positives caractérisent des individus avec une faible probabilité d’être des migrants. Les valeurs moyennes d’AIC pour chaque sexe ont ensuite été comparées avec un test U non paramétrique de Mann-Whitney (aussi appelé le Mann-Whitney-Wilcoxon, MWW). Ce test est significatif pour le groupe A-B ($p = 0,045$) et C ($p = 0,027$) (Figure 35). Ces résultats confirment qu’il y a un biais sexuel chez le thon germon : pour l’ensemble des zones (groupe A-B, et groupe C), les mâles se dispersent plus que les femelles. Lorsqu’il y a un biais sexuel, l’indice Fis est plus positif car il y a un déficit d’hétérozygote causé par le mélange de résident et d’immigrant. L’indice Fst est également plus élevé pour les individus philopatrics car c’est la dérive génétique qui agit plus et ainsi la différenciation se fait mieux. Nous pouvons observer ce phénomène en séparant les femelles des mâles pour estimer les F-statistiques de Wright (1989) avec 10 000 permutations. Les valeurs de Fst avec les individus femelles sont plus importantes (Tableau 22). Ce phénomène est plus visible en appliquant une analyse factorielle de correspondance (AFC) sur population (Figure 36) qui montre une plus grande dispersion chez les mâles de thon germon entre les zones géographiques.

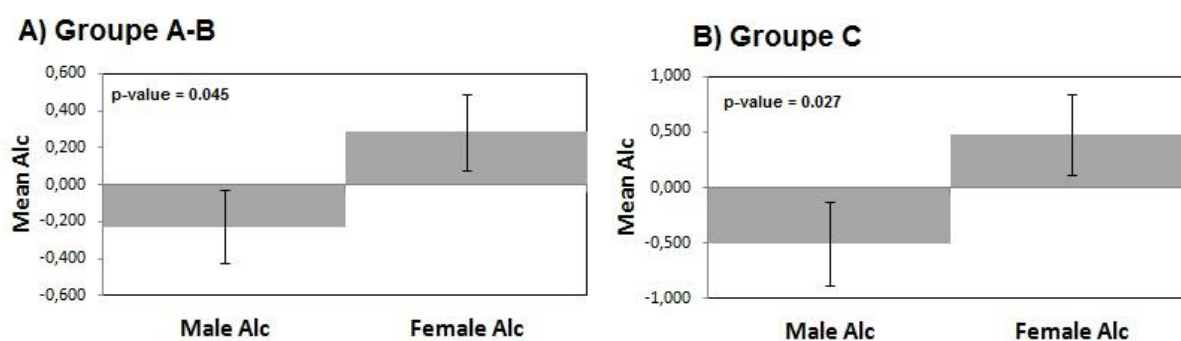


Figure 35. Alc moyen avec l'erreur standard et les quantiles chez les mâles et les femelles de thon germon provenant du groupe A-B.

Tableau 22. F-statistiques de Wright avec 10 000 permutations pour tester la significativité $p < 0,05$ (en gras).

Zone	Femelles			Mâles		
	A	B	C	A	B	C
A	0,00000			0,00000		
B	0,00015	0,00000		-0,00088	0,00000	
C	0,00154	0,00253	0,00000	0,00152	0,00159	0,00000

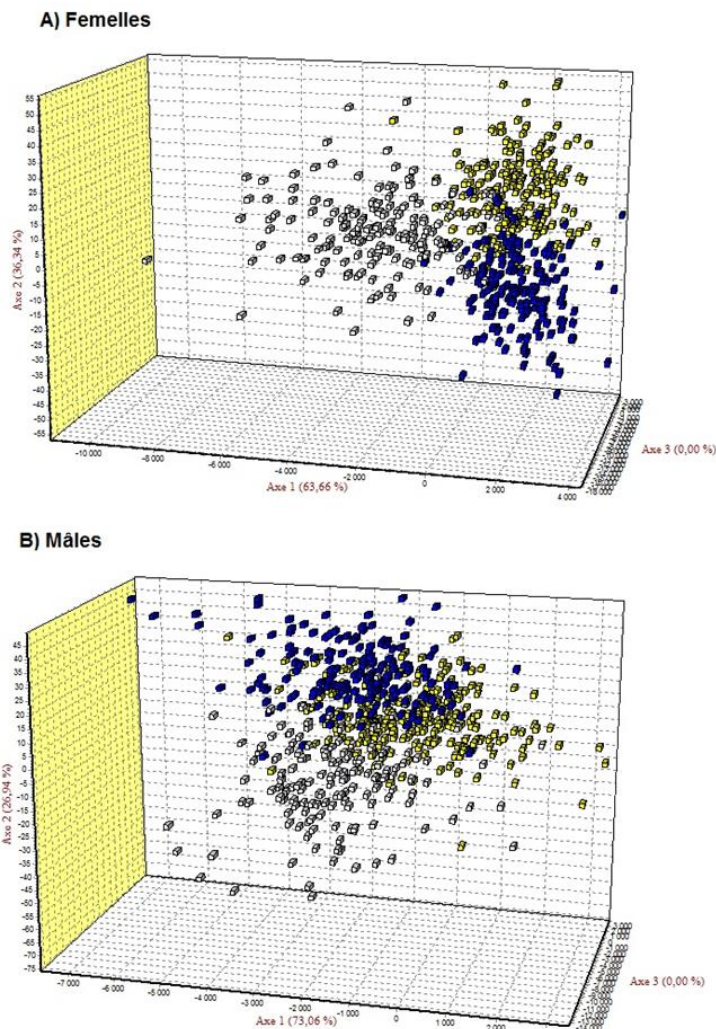


Figure 36. Analyse factorielle de correspondance à partir des données de microsatellites (panel B) avec les individus de la zone A (jaune), B (bleu) et C (blanc). Figure A pour les femelles et B pour les mâles.

6.2.6. Histoire évolutive des populations de thon germon du Sud-ouest de l’océan Indien et le Sud-est de l’Atlantique

A noter que les résultats de cette partie sont à ce stade préliminaires et qu’ils seront approfondis dans un second temps dans une publication scientifique.

Les modèles utilisés pour retracer l’histoire évolutive des populations sont des modèles bayésiens de coalescence. Ces modèles nécessitent la connaissance du taux de mutation des marqueurs microsatellites utilisés. Nous avons donc estimé le taux de mutation pour chacun des 54 marqueurs microsatellites utilisés au sein de ce projet en utilisant le logiciel MSVAR (Beaumont 1999) avec 16×10^8 simulations de Monte Carlo par chaînes (MCMC). Les résultats montrent des distributions proches entre les marqueurs (Figure 37). La moyenne du taux de mutation sur l’ensemble des 54 marqueurs est égale à 0,00022, la médiane est égale à 0,00008 et les quantiles (5% et 95%) à 0,00002 et 0,00233. Les deux marqueurs sur des régions détectées comme codantes (ThuAla-Tcell-01 et ThuAla-Hki-01) ont également des courbes de

mutations proches de l'ensemble des autres marqueurs avec une moyenne et médiane de 0,00018 et 0,00008 pour ThuAla-Tcell-01 et 0,00014 et 0,00006 pour ThuAla-Hki-01.

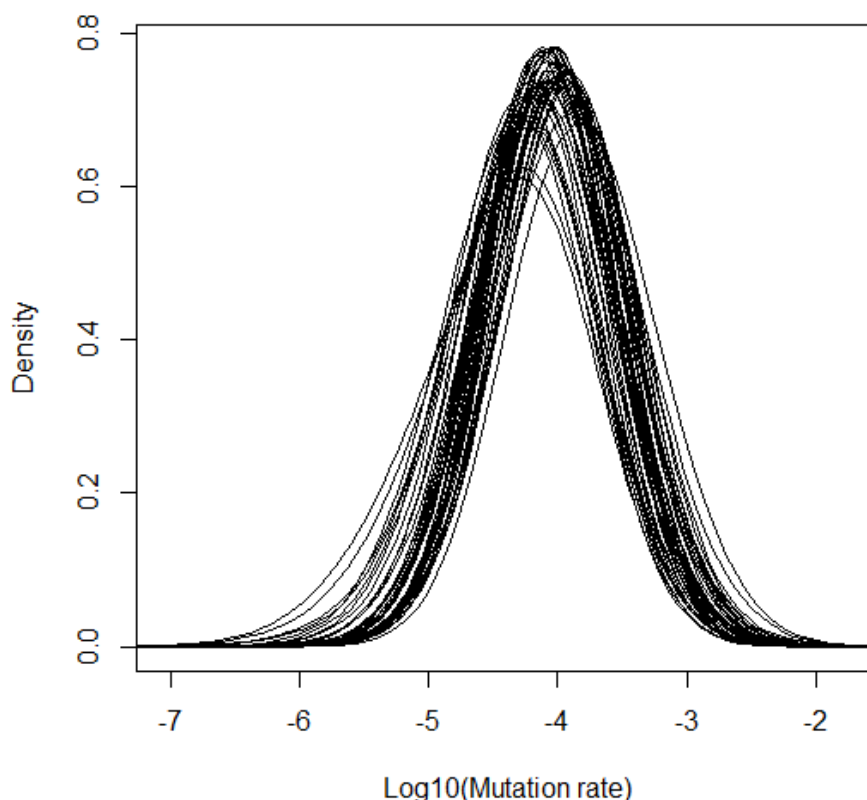


Figure 37. Distribution de la densité du logarithme décimal du taux de mutation par marqueur sur les 54 marqueurs microsatellites de thon germon. Chaque courbe représente la distribution d'un marqueur.

Pour retracer l'histoire évolutive, nous avons utilisé un taux de mutation de 1×10^{-4} , valeur proche de la médiane estimée (Figure 37) et des valeurs de mutation utilisées chez le thon rouge (Bravington et al. 2014). Nous avons utilisé ce taux de mutation avec un modèle SMM (Step Mutation Model) avec le logiciel VarEff (Nikolic et Chevalet 2014a,b) pour retracer l'évolution de la taille efficace des populations et détecter les goulots d'étranglements. Le modèle TPM (Two Phase Model) a également été testé mais le modèle SMM a fourni des résultats plus précis (intervalle de confiance plus étroits). Les temps des goulots d'étranglement ont été estimés en génération et en année sur la base d'un temps de génération égal à 4-6 ans (Bard 1981 ; ISC 2010; Farley et al 2014). Le modèle VarEff a permis d'estimer les Thêta ($\theta = 4 * Ne * \mu$; μ le taux de mutation) et la taille efficace (Ne) moyens au sein des deux populations (Tableau 23). Ces valeurs ont ensuite été utilisées pour paramétrer les a priori sur les simulations du modèle. Les résultats de ces valeurs moyennes (Tableau 23) permettent de visualiser l'histoire évolutive commune entre la population de l'océan Indien (groupe A-B) et celle de l'Atlantique Sud (groupe C-D) et d'en envisager un scénario.

Tableau 23. Estimation du Thêta ($\theta = 4 * Ne * \mu$) et des tailles efficaces moyennes sur l'intervalle de temps actuel ($\hat{\theta}_o$; \hat{N}_o respectivement), intermédiaire ($\hat{\theta}_i$; \hat{N}_i) et ancestral ($\hat{\theta}_a$; \hat{N}_a) chez le thon germon à partir du panel B de marqueurs microsatellite en considérant la population de l'océan Indien (groupe A-B) et de l'Atlantique Sud (groupe C-D).

$\hat{\theta}$ and \hat{N}	Groupe A-B	Groupe C-D
$\hat{\theta}_o$	8,41	8,75
$\hat{\theta}_i$	45,71	47,24
$\hat{\theta}_a$	69,18	73,56
\hat{N}_o	21 025	21 875
\hat{N}_i	114 275	118 100
\hat{N}_a	172 950	183 900

Les oscillations du climat sont de l'ordre de dizaines à des centaines de milliers d'années et elles influencent la distribution et l'abondance des populations. En retraçant l'histoire évolutive du thon germon, nous avons détecté trois signatures de goulot d'étranglement (Annexe F). Selon les distributions des temps de coalescence sur le thon germon avec le modèle VarEff et des travaux antérieurs (Nikolic et Chevalet 2014) pour détecter les faux goulots d'étranglements, nous pensons qu'une signature datant de 40 000 – 60 000 ans (deuxième pic des Figures du bas en Annexe E ; Figure 38) ne correspondrait pas à un goulot d'étranglement. Cette signature semble être la détection d'un état sympatrique. En effet, lorsque deux populations de la même espèce, provenant d'une même population antérieure, se séparent et se remettent ensuite en contact, les flux de gènes déclenchent la détection d'un faux goulot d'étranglement. Selon nos estimations, nous pensons que nos deux populations de thon germon (océan Indien (groupe A-B) et Atlantique Sud (groupe C-D)) proviendraient d'un ancêtre commun qui se serait séparé il y a très longtemps (antérieur à 500 000 ans). On pense également que ces populations n'ont pas eu le temps de subir un isolement reproductif et elles auraient été remises en contact puis à nouveau séparées. Ces processus évolutifs obtenus par le logiciel VarEff sont des hypothèses en cours d'analyses (Figure 38), ils suggèrent une fusion lors de zone refuge commune à chaque période glaciaire et une recolonisation à chaque période interglaciaire. Des datations de ces phénomènes par le modèle VarEff ont pu être estimées. La dernière séparation entre nos deux populations coïncide avec la fin d'une période chaude et le début d'une période plus froide ayant débuté il y a 5000 ans dans l'hémisphère sud. Le thon germon étant une espèce sensible aux baisses de températures, les fluctuations des températures de surfaces et des niveaux de la mer ont pu jouer un rôle de barrière géographique façonnant l'aire de distribution de l'espèce. Ces travaux sont en cours d'approfondissement et donneront lieu à préciser l'échelle évolutive et confronter les résultats aux évènements environnementaux.

Pour finir, les estimations de la taille efficace actuelle sont inférieures au Theta moyen sur le pallier le plus récent ($\hat{\theta}$) pour les deux populations, indiquant un phénomène récent de goulot d'étranglement. Cependant les valeurs sur les dernières décennies sont stationnaires et des analyses complémentaires sont nécessaires afin de déterminer s'il s'agit de l'effet des migrations entre ces deux populations ou bien une réelle stabilisation des populations. Concernant la valeur moyenne de la taille efficace au temps zéro (moment de l'échantillonnage), elle est d'environ 3200 (1666 – 7835) pour la population de l'océan Indien (groupe A-B) et 3700 (1859 – 10793) pour la population de l'Atlantique Sud (groupe C-D). Sur

la base de plusieurs travaux antérieurs (Waples 2002; Hedrick 2005; Palstra et Ruzzante 2008; Smith 2014), le nombre réel d'individu adulte (N_c) chez les poissons étant très supérieur au nombre d'individu efficace (N_e), nous pouvons poser l'hypothèse $N_e/N_c \approx 0,00002$ afin d'obtenir une approximation de la taille minimale (N_c). Dans l'océan Indien et chez le thon germon la valeur de N_c serait autour de 150 millions d'adultes. Cette valeur est à prendre avec précaution puisque le N_c est une approximation et pas une estimation.

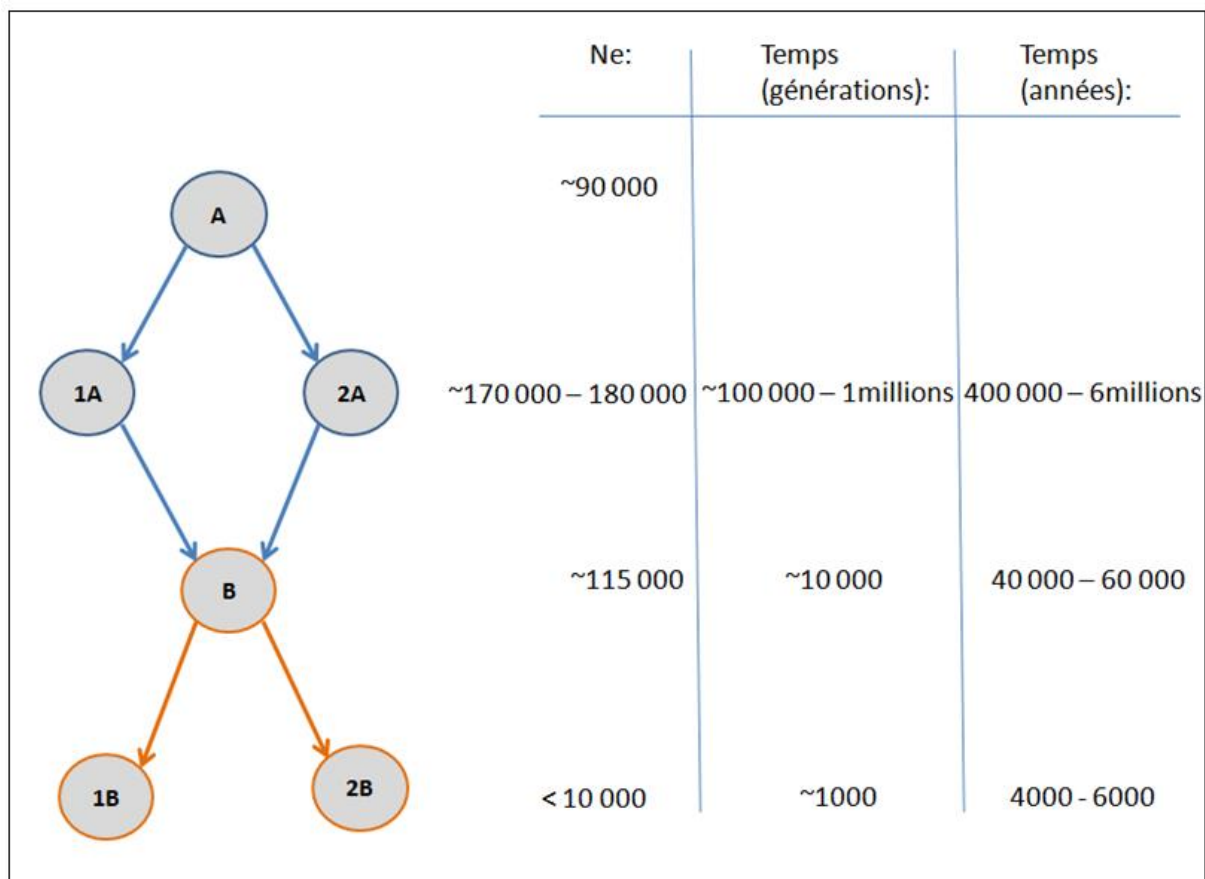


Figure 38. Schéma des hypothèses du processus évolutif des deux populations étudiées (océan Indien – 1B ; et Atlantique Sud – 2B) depuis leur ancêtre commun (A) avec leur estimation de taille efficace (N_e) en fonction de l'échelle temporelle en générations antérieures ou années.

6.3. Conclusion

L'un des objectifs de cette action était d'utiliser les données génétiques (microsatellites et séquences mitochondriales) afin de délimiter les stocks de thon germon dans le Sud-ouest de l'océan Indien et l'Atlantique Sud. Tout d'abord les individus d'Afrique du Sud (zone C) sont affiliés génétiquement aux individus du Sud-est Atlantique (zone D). Les analyses distinguent deux groupes, le Sud-ouest de l'océan Indien (groupe A-B) et l'Atlantique Sud (groupe C-D) avec des flux génétiques entre eux. Nous pouvons donc conclure qu'il s'agit de deux populations distinctes. Les échanges (migrations et flux génétiques) entre ces deux groupes sont toutefois asymétriques. L'Atlantique Sud (groupe C-D) alimenterait fortement l'océan Indien dans la partie la plus au nord de l'échantillonnage (la Réunion). Puis des individus de

l’océan Indien viendraient alimenter l’Atlantique Sud, possiblement par le canal du Mozambique, même si c’est une hypothèse à vérifier. Un biais sexuel a été détecté montrant une dispersion plus importante des mâles. La saison ne semble pas jouer de rôle dans la structuration observée.

Concernant les analyses sur l’histoire évolutive, l’origine commune de ces deux populations a été détectée et des phénomènes de divergence sont visibles. Des analyses plus approfondies sont nécessaires pour améliorer la datation des événements et comprendre l’influence des températures de surface dans ce processus évolutif. Afin de mieux comprendre la structuration entre l’ensemble des océans chez le thon germon, nous avons monté un partenariat avec Iratxe Montes (Universidad del País Vasco) et Andone Estoban (University of Basque Country, UPV/EHU). Ce partenariat va permettre d’utiliser les ADN extrait de 443 individus répartis sur 10 zones à travers l’ensemble des océans (principalement le Pacifique, l’Atlantique et la Méditerranée) (voir Montes al. 2012). Ces individus avaient été génotypés sur 18 marqueurs microsatellites inclus dans notre panel. Néanmoins les séquenceurs utilisés lors de ce projet et celui de Montes et al. (2012) sont différents. Nous avons donc dû standardiser les données, c’est-à-dire repasser des individus sur le même séquenceur utilisé au cours du projet GERMON et étudier les décalages pour les corriger. Les 443 individus supplémentaires ont ensuite été génotypés avec le reste des marqueurs microsatellites (27) utilisés au sein du projet GERMON. Les analyses statistiques et génétiques seront réalisées dans un second temps et les résultats de ces travaux feront l’objet d’une publication.

7. Action 4 – Tests des hypothèses de lieux de nourricerie et de reproduction

Déterminer les lieux de reproduction est une préoccupation essentielle pour comprendre la dynamique spatiale d'une espèce et son niveau d'exploitation. Le Sud-ouest de l'océan Indien est considéré comme une zone charnière pour le thon germon. Malgré le peu d'élément et le manque d'étude, elle pourrait être considérée comme une zone essentielle pour ce stock. L'été austral (de novembre à janvier) est une période qui coïncide avec un niveau de captures totales (toutes flottilles confondues) important d'adultes à l'Est-Nord-Est de Madagascar, englobant une partie des zones de pêches réunionnaises. Selon Fonteneau (2008), cette zone pourrait être une zone de reproduction et de nourricerie propice au thon germon sur une période bien précise qui demande à être déterminée. La détermination exacte de cette période est importante car elle permettra de mieux comprendre si les germes qui sont capturés au niveau de cette région sont de passage avant de se fixer plus dans le nord, ou s'ils restent dans cette zone durant une période plus ou moins longue.

Les traceurs trophiques et énergétiques apportent des informations à l'échelle allant de quelques heures à plusieurs mois de la vie des individus. En effet, les organismes investissent l'énergie acquise dans leur environnement pour leur survie, leur croissance et leur reproduction. La stratégie d'allocation de cette énergie dans les processus biologiques vise à optimiser la fonction de reproduction dans un but de maximiser le nombre de descendants au cours d'une vie. Chez les poissons, les deux principales sources d'énergie sont les protéines et les lipides qui contribuent à plus de 98% de l'énergie totale. En outre, le potentiel reproducteur d'un poisson est étroitement lié à son état de santé (Blanchard et al. 2003) : une femelle mature en faible condition, c'est-à-dire n'ayant pas suffisamment de réserves énergétiques, produira des œufs de moins bonne qualité et/ou en moins grande quantité. Les fluctuations saisonnières et annuelles de la condition d'un poisson reflètent à la fois les caractéristiques de l'individu (e.g. taille, état de reproduction, capacité de recherche de nourriture) et les conditions environnementales (e.g. disponibilité des ressources alimentaires, risque de prédation, conditions climatiques).

Ainsi, les informations directes issues des données biométriques et biologiques, et indirectes issues des traceurs trophiques (contenus stomacaux, isotopes stables) et énergétiques (lipides, protéines) devraient permettre de valider ou non l'hypothèse d'une zone de nourricerie et de reproduction du thon germon autour de La Réunion (zone A) et/ou au Seychelles (zone B). Ceci devrait également renseigner sur son cycle de maturité sexuelle, son comportement alimentaire (i.e., s'alimentent-ils dans cette zone ?), et sa stratégie d'allocation d'énergie (i.e., comment l'énergie acquise est-elle redistribuée dans les tissus de l'individu et pour subvenir à quels besoins ?).

7.1. Hypothèse du site de reproduction

7.1.1. Distribution des sex-ratios et des stades de maturité sexuelle macroscopiques

Les Figure 39, Figure 40 et Figure 41 sont des figures qui représentent respectivement le sex-ratio, les proportions matures/immatures, et les stades de maturité dans chacune des zones pour les deux saisons. La Figure 39 montre que les sex-ratios des zones B et C sont équilibrés, alors qu'à La Réunion (zone A) le sex-ratio est en faveur des mâles. Dans la littérature, nous pouvons trouver des explications sur ce biais du sex-ratio des adultes. En effet, avant la maturité sexuelle le sex-ratio est équilibré (Bard 1981). Après la maturité sexuelle, le nombre de mâles augmente et de femelles diminue jusqu'à une absence totale de femelle au-delà d'une taille d'environ 100 cm LF (Postel 1964; Bard 1981; Santiago 2004; Alonso et al. 2005). Cette observation est probablement causée par une croissance et mortalité naturelle différentielle asymptotique entre les sexes (Alain Fonteneau pers. Com. dans Nikolic et al. 2016) et une mortalité naturelle après la première reproduction plus élevée chez les femelles (Liorzou 1989). Ces hypothèses nous amènent à penser que La Réunion (zone A) est constituée d'individus plus âgés qu'aux Seychelles. D'ailleurs les stades de reproduction sont plus avancés à La Réunion (Figure 41). Ce résultat est en accord avec les résultats de génétique qui supposent une remontée des individus vers le nord de l'océan Indien pour ensuite redescendre (paragraphe 6.2).

Par ailleurs, à La Réunion (zone A), ce sex-ratio reste identique entre les deux saisons alors que pour les zones B et C une inversion est observée, avec un sex-ratio en faveur des femelles en saison 1 et des mâles en saison 2 (Figure 39).

La Figure 40 permet de distinguer deux grandes régions A-B et C-D, où la première région est principalement composée d'individus matures contrairement à la deuxième région composée d'immatures et plus particulièrement dans la zone C. En outre, la Figure 41, qui représente la distribution des stades de maturité dans chacune des zones, confirme ces observations. En effet, la quasi-totalité des individus de la zone C sont en stade 0 et 1, c'est-à-dire immatures. Alors que ceux de la zone A et B sont majoritairement en stade 3, soit des individus qui vont ou ont déjà participé à la reproduction. Ces résultats confirment la présence d'individus immatures en Afrique du Sud et des individus avec des stades de maturités avancés dans le Sud-ouest de l'océan Indien.

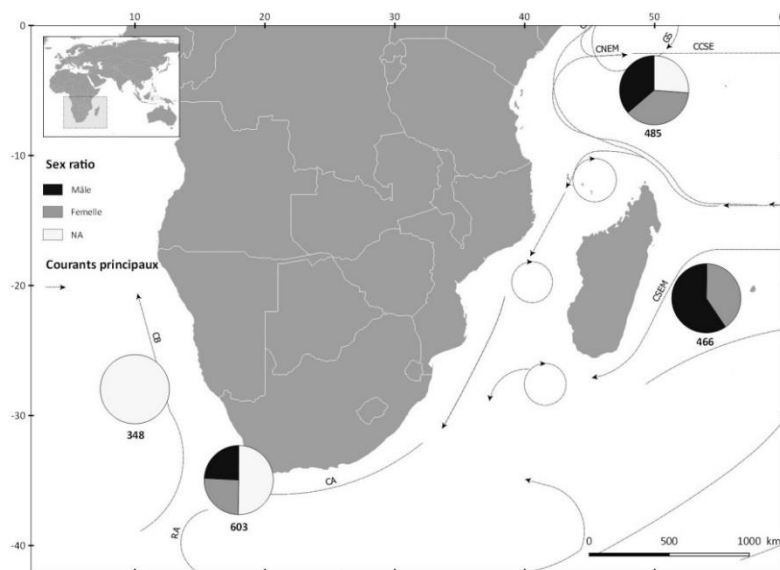


Figure 39. Proportion de mâles et de femelles parmi les captures de thons germon. Les mâles sont représentés en noir, les femelles en gris et l'absence d'information en blanc. Le nombre d'individus qui compose les camemberts est renseigné en dessous des camemberts. Courants d'après Schott et al. 2009 : CB = Courant du Bengale ; RA= Rétroflexion des Aiguilles ; CA = Courant des Aiguilles ; CCSE = Contre-courant Sud Equatorial ; CSEM = Courant Sud-Est Malgache ; CS = Courant de Somalie ; GS = Gyre de Somalie.

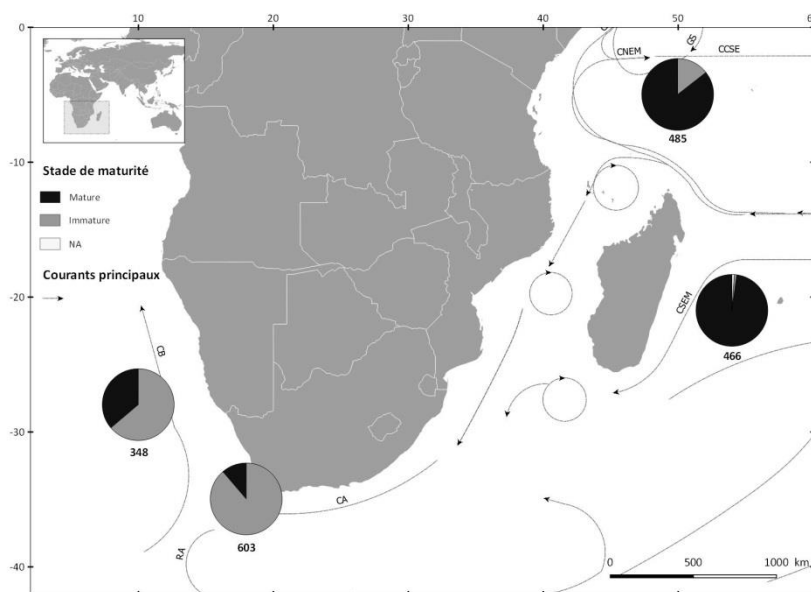


Figure 40. Proportion d'individus matures et d'immatures parmi les captures de thons germon. Les mâles sont représentés en noir, les femelles en gris et l'absence d'information en blanc. Le stade de maturité a été déterminé par la taille (immature > LF égal à 90cm > mature) de l'individu et non par détermination du stade de maturité. Le nombre d'individus qui compose les camemberts est renseigné en dessous des camemberts. Courants d'après Schott et al. 2009 : CB = Courant du Bengale ; RA= Rétroflexion des Aiguilles ; CA = Courant des

Aiguilles ; CCSE = Contre-courant Sud Equatorial ; CSEM = Courant Sud-Est Malgache ; CS = Courant de Somalie ; GS = Gyre de Somalie.

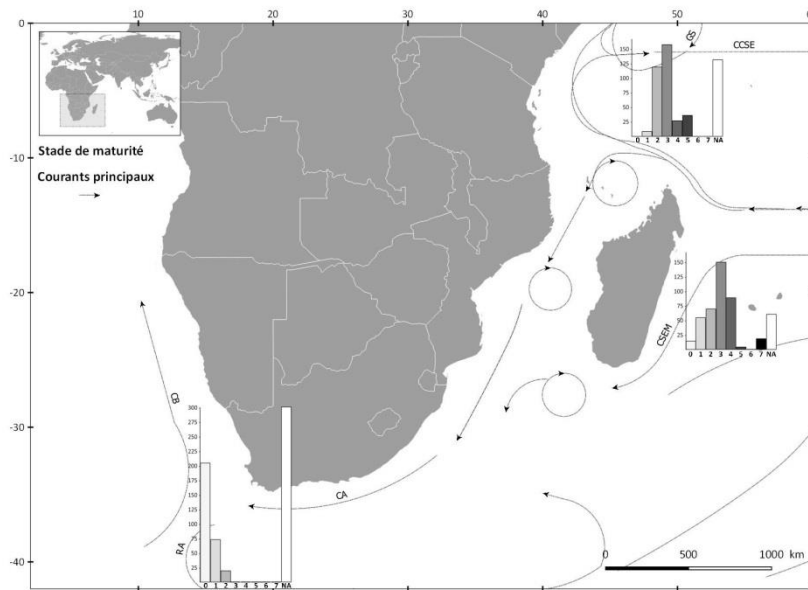


Figure 41. Représentation de la fréquence des stades de maturités (7 stades et les données manquantes sont en blanc) par site majeur d'échantillonnage (total 1062 individus analysés en macroscopique). Le nombre d'individus qui compose les camemberts est renseigné en dessous des camemberts. Courants d'après Schott et al. 2009 : CB = Courant du Bengale ; RA= Rétroflexion des Aiguilles ; CA = Courant des Aiguilles ; CCSE = Contre-courant Sud Equatorial ; CSEM = Courant Sud-Est Malgache ; CS = Courant de Somalie ; GS = Gyre de Somalie.

7.1.2. Suivi des indices de conditions

Ce volet du projet Germon a eu pour objectif : (1) de suivre l'évolution des ovocytes et des ovaires au cours du cycle sexuel, (2) de relier cette évolution avec des indices de condition courant tels que les indices gonado- et hépato-somatique), (3) de déterminer les périodes d'apparition des follicules post-ovulatoires et atrophiques dans les ovaires afin de préciser les différentes périodes de ponte, et (4) d'estimer le potentiel de fécondité du germon de l'Ouest de l'océan Indien.

7.1.2.1. Echantillonnage exploité et méthodologie

Un total de 1281 poissons provenant de 4 zones différentes de l'Ouest de l'océan Indien (La Réunion (zone A), RUN ; Seychelles (zone B), SEY ; Afrique du Sud (zone C), SA ; et Canal du Mozambique, MOZ) ont été collectés. A noter ici que des échantillons supplémentaires collectés notamment dans le canal du Mozambique dans le cadre d'autres projets ont été rajoutés aux analyses pour optimiser les résultats.

Le Tableau 24 présente le nombre et la taille des germons prélevés par zone et période (saison/année) de pêche, et par sexe. Les individus échantillonnés ont été mesurés (longueur à la fourche, FL, cm), pesés (poids total), et sexés. Les gonades de chaque femelle ont été prélevées soigneusement et pesées au gramme près. Pour chaque femelle, un petit fragment

d'ovaire (section 4-5 cm) a été fixé dans du formaldéhyde à 4% pour une étude histologique ultérieure.

Tableau 24. Nombre (n) et taille (LF = longueur à la fourche en cm) des germons collectés dans l'Ouest de l'océan Indien en 2013 et 2014. RUN = La Réunion (zone A) ; SEY = Seychelles (zone B) ; SA = Afrique du Sud (zone C), MOZ = Canal du Mozambique.

Zone	Sexe	n	Moyenne LF (cm)
RUN	F	187	99,6 ± 3,9
	M	275	104,5 ± 4,4
SEY	F	277	95,0 ± 4,4
	M	200	97,0 ± 5,0
SA	F	154	84,9 ± 6,9
	M	146	85,5 ± 7,9
MOZ	F	25	94,1 ± 4,9
	M	17	94,5 ± 4,3

Indice de condition

Deux indices de condition ont été estimés pour évaluer la condition des femelles : l'indice gonado-somatique (GSI) et l'indice hépato-somatique (HSI). Ces deux indices ont été définis comme suit :

$$GSI = (W_g/W) \times 10^2$$

$$HSI = (W_L/W) \times 10^2$$

où W_g est le poids des gonades (g), W_L est le poids du foie (g), et W correspond au poids total du poisson auquel a été soustrait le poids des gonades (g). Les variations saisonnières de ces indices et leur impact sur le cycle de reproduction ont été étudiés mensuellement afin d'identifier les éventuels changements physiologiques lors de l'ontogenèse (voir le Glossaire) du thon germon.

Analyse histologique

Les analyses histologiques ont été effectuées au laboratoire de la SFA. Un total de 236 ovaires de germon femelles ont été analysés, une partie des prélèvements provenant d'Afrique du Sud (zone C) et de La Réunion (zone A) ayant été altérés lors du transport (perte de liquide fixateur provoquant un dessèchement des échantillons de gonades et empêchant l'analyse histologique). En laboratoire, une section transversale (environ 1 cm) de chaque échantillon a été prélevée, rincée à l'eau courante avant d'être déshydratée (passage des pièces dans une série de bains de solvants) et incluse dans la paraffine. Les coupes ont été réalisées au microtome à une épaisseur de 5-7 μm puis ensuite colorées à l'éosine et à l'hématoxyline.

La classification histologique des ovaires de thon germon a suivi les critères décrits par Zudaire et al. (2013). Basé sur la terminologie utilisée dans Brown-Petersen et al. (2011), les ovaires ont été classés selon le stade ovocytaire le plus avancé présent dans l'ovaire (Zudaire et al.

2013) : la phase Immature (y compris le stade de croissance primaire), la phase de développement (y compris les alvéoles corticales (CA), la vitellogénèse primaire (Vtg1) et vitellogénèse secondaire (Vtg2)), la phase de ponte (y compris la vitellogénèse tertiaire (Vtg3), la migration de la vésicule germinale (GVM) et l'hydratation), et la phase de régénérescence (Annexe G). L'identification des follicules post-ovulatoires (POF) a été réalisée ainsi que l'étude des différentes étapes de l'atrésie selon Zudaire et al. (2013). Il est à noter que les ovaires prélevés sur les germons pêchés à la senne aux Seychelles (zone B) et dans le Canal du Mozambique n'ont pas été inclus dans les analyses de l'atrésie du fait du mode de conservation en saumure à bord des senneurs qui rend impossible la quantification des stades d'atrésie.

Estimation de la fécondité

La fécondité par lot (BF), à savoir le nombre total d'ovocytes libérés par lot, a été estimée par gravimétrie (Hunter et al. 1989) en comptant les ovocytes dans les étapes de migration de la vésicule germinale ou hydratation. L'hypothèse d'homogénéité de la densité des ovocytes dans les ovaires a été retenue selon les travaux antérieurs sur le thon (Stéquert et Ramcharrun 1996). Pour les analyses de BF, trois sous-échantillons de $0,1 \pm 0,01$ g ont été prélevés pour chaque ovaire. Chaque sous-échantillon a été saturé avec de la glycérine et étudié sous un stéréomicroscope. BF correspond à la densité moyenne pondérée des trois sous-échantillons multipliée par le poids total de l'ovaire. Un seuil de 10% pour le coefficient de variation (CV) a été appliqué pour les trois sous-échantillons ; lorsque ce seuil était dépassé, un recomptage de sous-échantillons supplémentaires a été effectué jusqu'à atteindre ce seuil de 10% de variation. La fécondité relative par lot (Bfrel) a été estimée en divisant BF par le poids total du poisson auquel a été soustrait le poids des gonades.

7.1.2.2. Evolution de la maturation des ovaires et des ovocytes

L'analyse des coupes histologiques a révélé que l'ovaire lors de la phase mature contient un mélange aléatoire d'ovocytes dans les différents stades de développement sans population dominante, ce qui confirme un développement ovarien asynchrone (Figure 42).

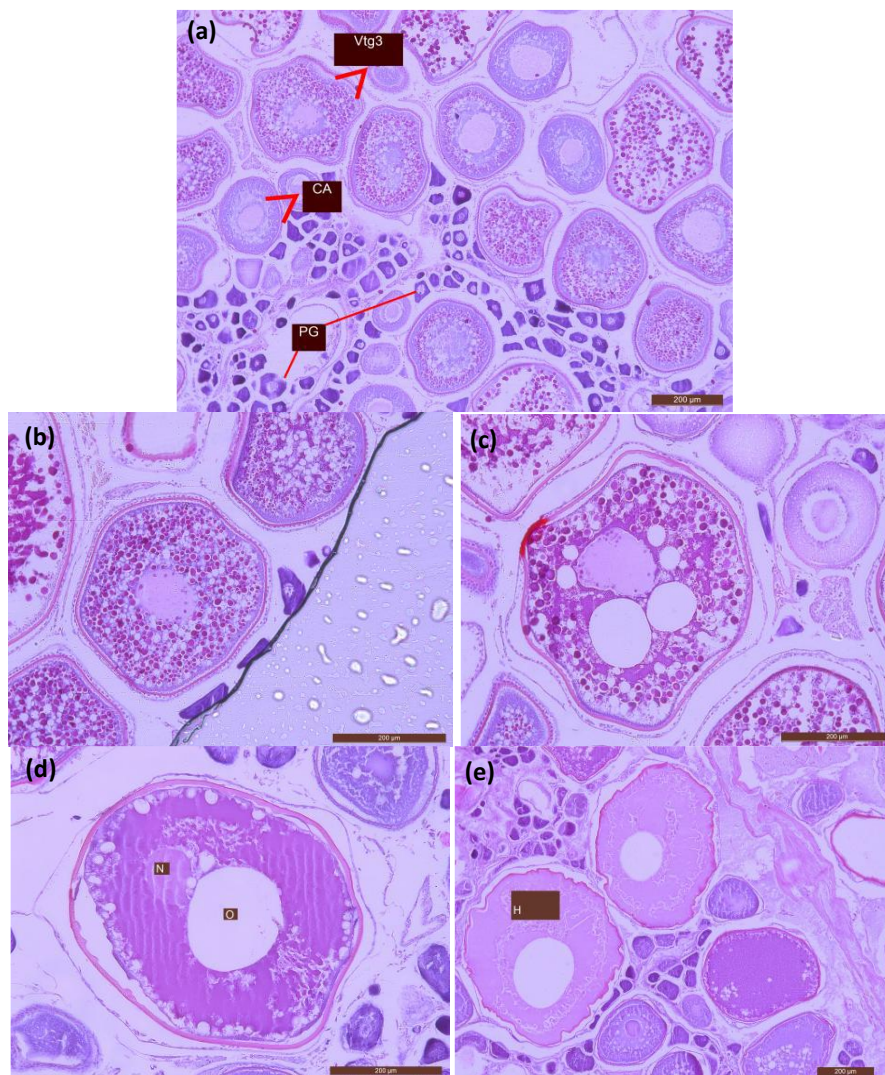


Figure 42. Microphotographies de coupes histologiques d'un ovaire illustrant les différentes étapes de développement de l'ovocyte chez le germon : (a) ovocytes au stade de croissance primaire (PG) et alvéoles corticales (CA) dans un ovaire lors de la phase de ponte avec le stade ovocytaire le plus avancé en vitellogénèse tertiaire (Vtg3) ; (b) – (e) ovocyte en Vtg3 et pour les stades les plus avancés en migration de la vésicule germinale (GVM) et hydratation. N = noyau, O = gouttelettes d'huile, H = ovocyte hydraté. Echelle : 200 µm.

Les ovocytes en stade de croissance primaire (PG) se développent progressivement du stade alvéolaire corticale à la vitellogénèse primaire, secondaire, et vitellogénèse tertiaire (Zudaire et al. 2013). A partir de ce stade, les ovocytes matures vont atteindre les stades les plus avancés, tels que la migration de la vésicule germinale, et enfin l'étape d'hydratation. Les ovocytes au stade d'hydratation quittent les couches de la thèque et la granulosa pour être émis dans la lumière de l'ovaire (ponte). Le germon effectue plusieurs pontes partielles successives par cycle de reproduction. Les follicules post-ovulatoire (âgés de plus de 12 heures) (Figure 43) ont été observés uniquement dans les ovaires en phase de ponte, principalement dans le stade Vtg3 et dans une moindre mesure dans la phase de migration de la vésicule germinale. Le follicule vide (thèque externe et épithélium folliculaire) est largement

ouvert, montrant une déchirure par laquelle l'ovocyte hydraté a été expulsé. Ces follicules indiquent qu'une ponte est en cours ou vient tout juste d'avoir lieu.



Figure 43. Microphotographies de coupes histologiques d'un ovaire avec les stades ovocytaires les plus avancés en vitellogène tertiaire et contenant des follicules post-ovulatoires (POF). Echelle : 100 µm.

À la fin de la saison de ponte, les femelles entrent dans la phase de dégénérescence qui se caractérise par un processus de résorption connu, l'atrésie. Au cours des premiers stades de l'atrésie, appelés alpha-atrésie, l'ovocyte est réabsorbé par les cellules de la granulosa des follicules qui entourent l'ovocyte. Finalement, au cours de la bêta-atrésie, les cellules de la granulosa et de la thèque dégénèrent induisant une diminution de la taille du follicule. Les deux étapes de l'atrésie (alpha et bêta) présents dans les ovaires en phase de dégénérescence sont présentées dans la Figure 44.

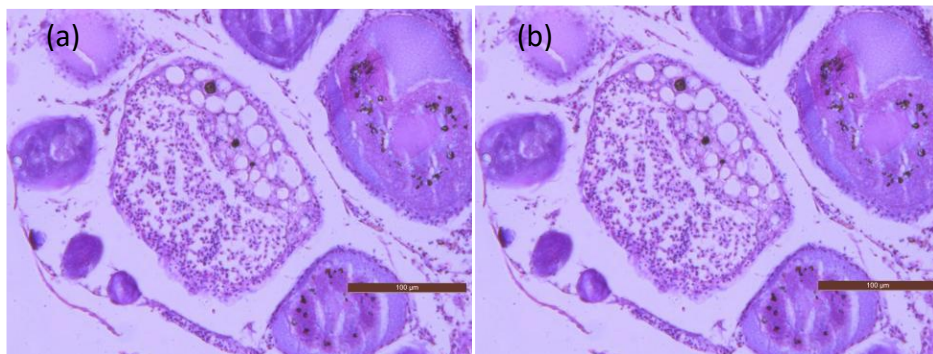


Figure 44. Microphotographies de coupes histologiques d'un ovaire montrant l'ovocyte en phase (a) alpha-atrésie avancée et (b) bêta-atrésie. Echelle: 100 µm.

A la fin de la phase de dégénérescence, les ovaires contiennent des ovocytes immatures (croissance primaire et alvéoles corticales) ainsi que des marqueurs de maturité. Les femelles identifiées à ce stade étaient sexuellement matures, mais la reproduction n'a pas eu lieu. La coupe histologique d'un ovaire en fin de phase de dégénérescence est représentée en Figure 45.

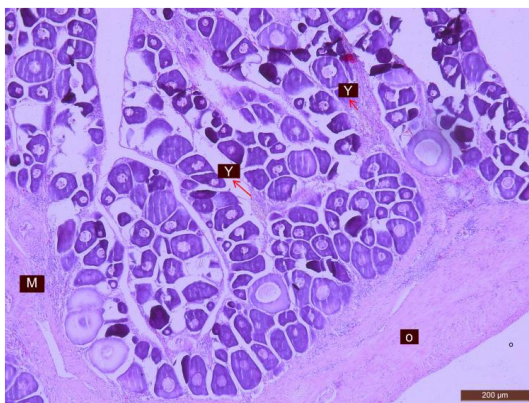


Figure 45. Microphotographies de coupes histologiques d'un ovaire en fin de phase de dégénérescence présentant des marqueurs de maturité. M = faisceau musculaire, O = paroi de l'ovaire, Y = stade d'atrésie avancée ("yellowbody"). Echelle: 200 µm.

7.1.2.3. Périodes et zones de ponte

Parmi les 236 ovaires de germon analysés, 12% des individus étaient immatures et 88% correspondaient à des femelles matures dont 38% au stade de développement, 42% en cours de ponte, 6% en phase de dégénérescence (Tableau 25).

Tableau 25. Nombre d'individus femelles par stade de développement ovocytaire et par zone de pêche. RUN = La Réunion (zone A) ; SEY = Seychelles (zone B) ; SA = Afrique du Sud (zone C) ; MOZ = Canal du Mozambique.

		Zone				
	Phase ovarienne	Stade Ovocytaire	RUN	SEY	SA	MOZ
	Immature	PG	0	25	10	5
Mature	En développement	CA	0	59	0	7
		Vtg 1	0	20	0	4
		Vtg 2	1	4	0	1
	En ponte	Vtg 3	64	1	0	1
		GVM	5	8	0	0
		Hydratation	18	0	0	2
		En régression et régénération	0	1	0	0
Nombre total d'individu			88	118	10	20

La période d'activité sexuelle des germons « femelle » de l'Ouest de l'océan Indien s'étend de novembre à janvier comme pour le germon de l'océan Pacifique (Farley et al. 2013), avec en particulier 100% des femelles en stade SCP (ponte) en novembre et décembre (Figure 46). En hiver (avril à juillet), tous les stades de maturation ont été identifiés avec une prédominance du stade DP (développement ovarien). Il est à noter la présence de stades SCP et RP en mai et juin qui pourrait correspondre à une seconde période de ponte mais minoritaire par rapport à la période de ponte estivale. Une observation similaire a été faite pour le thon albacore de

l'Ouest de l'océan Indien avec une période maximale de ponte d'octobre à janvier et une seconde période d'avril à juin (Zudaire et al. 2013)

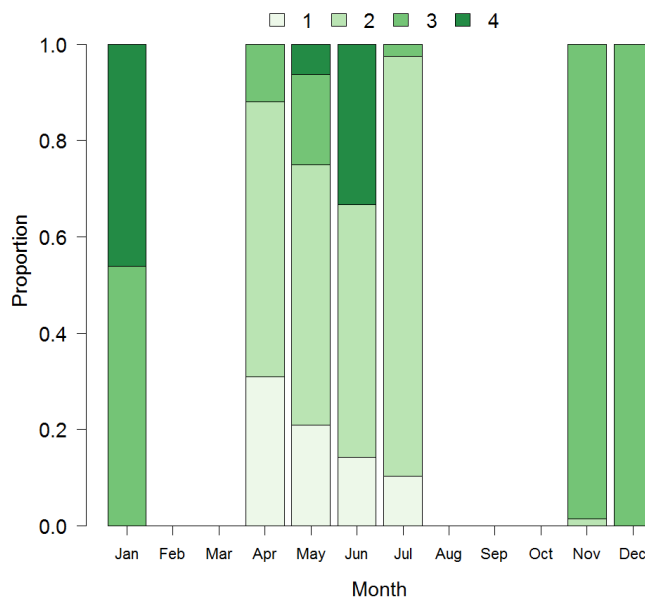


Figure 46. Variations mensuelles d'occurrence des stades de développement ovarien chez les femelles germon dans l'Ouest de l'océan Indien (Micro-identification 1 = immature (IP) ; 2 = développement (DP) ; 3 = ponte (SCP) ; 4 = dégénérescence).

La région de La Réunion (zone A) correspond à la région où les gonades femelles étaient les plus développées, tandis qu'aux Seychelles (zone B), les femelles étaient en cours de développement. Enfin, seules des femelles immatures ont été observées en Afrique du Sud (zone C).

7.1.2.4. Variabilité des indices gonado- et hépato-somatique

L'étude de l'évolution saisonnière des indices de condition chez les germons femelles a mis en évidence des valeurs d'indice gonado-somatique (GSI) les plus élevées de novembre à janvier avec des valeurs supérieures à 1,5 (Figure 47). Ce résultat coïncide avec ceux précédemment décrits sur le cycle saisonnier de développement ovarien. En hiver austral (avril à juillet), des valeurs de GSI nettement plus faibles (GSI moyen = 0,3) ont été obtenues. Des variations saisonnières de GSI similaires ont été observées chez le germon de l'océan Pacifique (Farley et al. 2013). A l'inverse, l'indice hépato-somatique (HSI) est relativement constant tout au long de l'année (Figure 47).

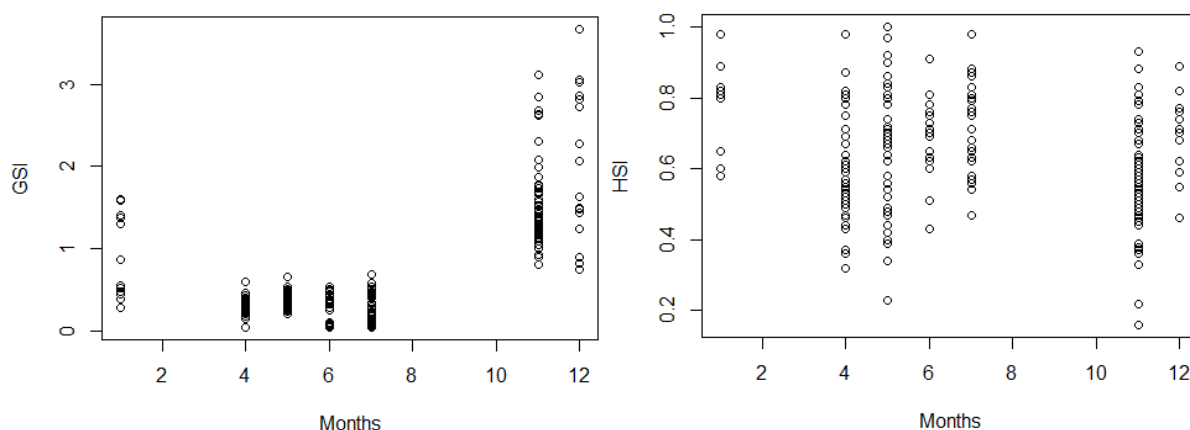


Figure 47. Variations mensuelles des indices gonado-somatique (GSI) et hépato-somatique (HSI) chez les germons femelles de l'Ouest de l'océan Indien.

La variabilité des GSI et HSI en fonction du stade de développement ovarien a également été étudiée (Figure 48). Des valeurs de GSI plus variables avec les valeurs les plus fortes apparaissent au stade de ponte (SCP), du fait du grossissement des ovaires. A l'inverse, aucune variation significative du HSI en fonction du stade de maturation n'est observée, ce qui laisserait supposer que cet organe ne joue pas un rôle important dans le processus de reproduction des germons femelles (e.g. apport/stockage d'énergie ; Figure 48).

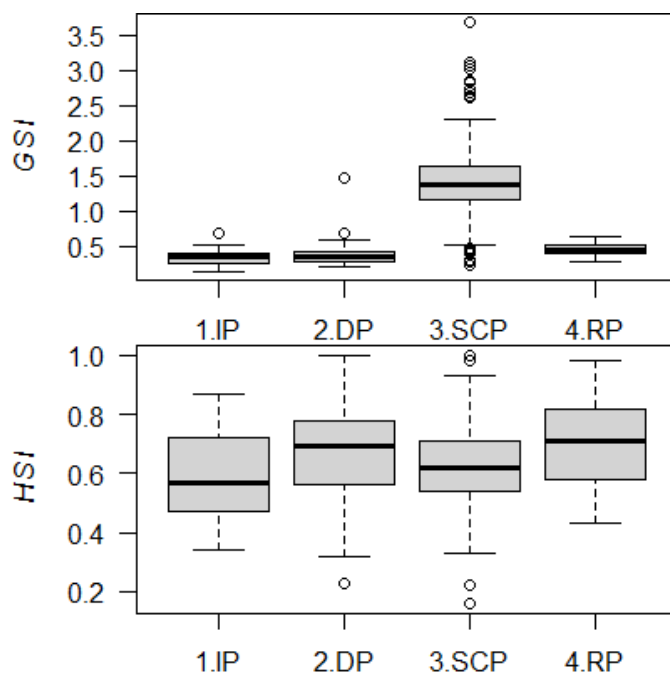


Figure 48. Variabilité des indices gonado-somatique (GSI) et hépato-somatique (HSI) en fonction du stade de maturation des thons germon femelles de l'Ouest de l'océan Indien.

7.1.2.5. Fécondité

Un total de 45 femelles (FL = 92,5 à 103 cm) a été utilisé pour estimer la fécondité du germon. Une fécondité moyenne par lots (BF) de 1,07 millions d'ovocytes a été calculée, variant de

0,12 à 2,68 millions d'œufs. La fécondité relative moyenne par lots (BFrel) a été estimée entre 6,0 et 97,4 ovocytes g-1 de masse corporelle avec une moyenne de 53,0 ovocytes g-1 de masse corporelle.

7.1.2.6. Conclusion

Les résultats préliminaires de cette étude fournissent des informations essentielles sur la reproduction du thon germon dans l'océan Indien occidental. Le sex-ratio est déséquilibré à La Réunion (zone A) avec plus de mâle. Avant la maturité sexuelle, le sex-ratio est équilibré puis le nombre de mâles augmente et de femelles diminue. Cette observation est probablement causée par une croissance et une mortalité naturelles différentielles asymptotiques entre les sexes (Alain Fonteneau pers. Com. dans Nikolic et al. 2016) et une mortalité naturelle après la première reproduction plus élevée (Liorzou 1989). Ces hypothèses et l'observation de stades de reproduction plus avancés à La Réunion (zone A), nous amènent à penser que La Réunion est constituée d'individus plus âgés qu'aux Seychelles.

La présence du mélange aléatoire des ovocytes aux différents stades de développement confirme un développement ovarien asynchrone chez le germon. L'analyse histologique met en évidence que le germon se reproduit en été austral lorsque la température de l'eau est la plus chaude, avec un pic d'activité de novembre à décembre. Une deuxième période de ponte d'avril à juin semble exister mais ce résultat devra être vérifié ultérieurement. La région de La Réunion (zone A) correspond à la zone de reproduction principale du germon dans l'Ouest de l'océan Indien. Cependant, des échantillonnages et analyses histologiques supplémentaires de femelles germon pêchées aux Seychelles (zone B) en décembre et janvier 2015 sont en cours et permettront de tester l'hypothèse d'une zone de ponte du germon secondaire dans les eaux seychelloises. En effet, du fait de l'absence d'échantillons collectés durant la saison 1 (été austral), cette hypothèse n'a pas pu être testée dans le cadre du projet Germon. Néanmoins, la Figure 47 (analyses macroscopiques) va dans le sens de nombreux individus en période de ponte (stade 3) au Seychelles, majoritairement provenant des collectes entre avril et mai. Les individus collectés entre juin et juillet étaient principalement au stade 2.

7.2. Hypothèses de lieux d'alimentation

Les captures de pêches ont des répercussions sur l'ensemble du réseau trophique par de complexes mécanismes de contrôle trophique. Paradoxalement, les connaissances sur les différentes composantes des écosystèmes pélagiques et sur les interactions prédateur-proie restent peu documentées. Le projet GERMON a permis d'acquérir une quantité considérable de données sur l'écologie trophique de cette espèce, occupant parmi d'autres, une place au sommet des réseaux trophiques. Les estomacs prélevés à vaste échelle ont permis d'appréhender l'écologie trophique du germon sur la base des régimes alimentaires (analyse rigoureuse des contenus stomacaux). L'analyse complémentaire de différents traceurs trophiques dans le muscle et le foie du germon, à savoir les isotopes stables du carbone et de l'azote et le contenu en lipides et protéines totaux, ont permis d'apporter des informations complémentaires quant à son comportement alimentaire et à sa condition énergétique. L'ensemble de ces différents paramètres permettent d'étudier les niveaux trophiques, le partage des ressources et les ségrégations spatiales, et donc de décrire et d'analyser les différentes stratégies d'alimentation du germon de l'océan Indien.

7.2.1. Echantillonnage et méthodologie

7.2.1.1. Les contenus stomacaux

Les estomacs analysés proviennent de trois sources de données, programme Thetis (IRD) (2001- 2008), Prosper (ARDA) (2010-2011) et GERMON (2013-2104). Au cours du projet GERMON, 932 estomacs ont été récoltés provenant de l'est de La Réunion (zone A), du sud de Madagascar, de la région du Cap en Afrique du Sud (zone C) et de la zone des Seychelles (zone B). Le Canal de Mozambique et la zone autour des Seychelles (zone B) ont été échantillonnés au cours de Thetis (22 estomacs). Prosper a échantillonné les abords de La Réunion (zone A) et de Tromelin (62 estomacs). La répartition géographique des estomacs récoltés est donnée en Figure 49.

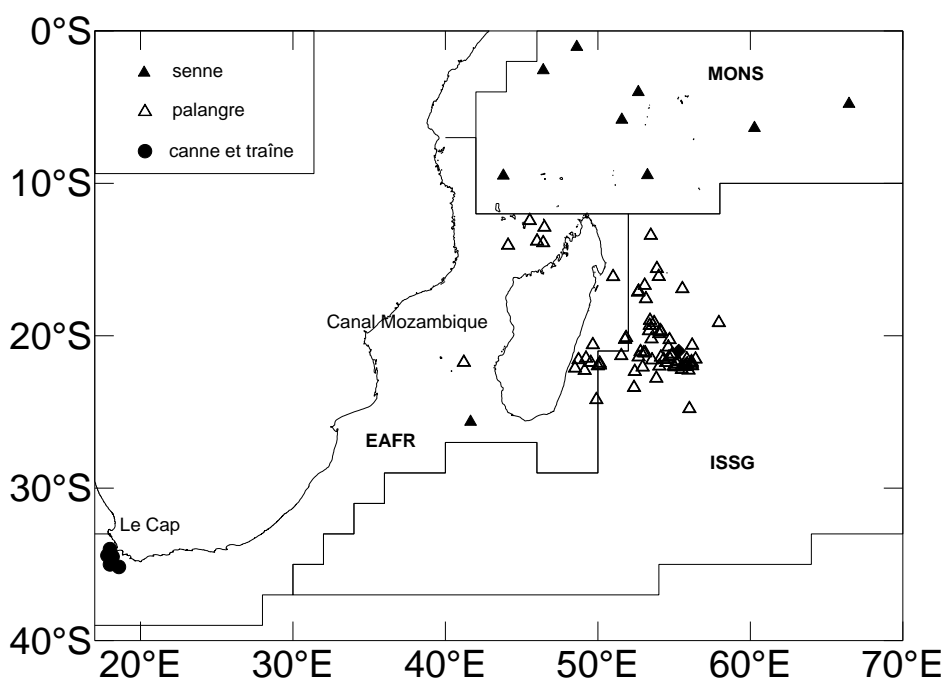


Figure 49. Localisation des estomacs de germon collectés au cours des différents programmes réalisés dans l'Ouest de l'océan Indien.

Au laboratoire, le contenu stomacal a été pesé puis séparé en grands groupes zoologiques (poissons, crustacés, céphalopodes, autres mollusques et autres). Chaque grand groupe zoologique a ensuite été trié jusqu'au taxon le plus bas possible (espèce). Les éléments frais et accumulés (otolithes érodés et becs cassés) ont été séparés. Le nombre d'individus de chaque espèce a été estimé (nombre d'otolithes, becs, telsons). Le poids des individus frais a été reconstitué à partir des relations entre les pièces dures anatomiques (otolithes, dentaires, becs, telsons) et les poids de l'individu trouvés dans la littérature ou les données présentées dans ce chapitre (Figure 50). L'importance des proies dans l'alimentation a été estimée en nombre moyen \pm écart-type ($Nm \pm ec$), en poids reconstitué moyen \pm écart-type ($Pm \pm ec$) par estomac et en fréquence d'occurrence (%). La fréquence d'occurrence est le nombre d'estomacs où la proie A (par exemple) a été trouvée sur le nombre total d'estomacs où des proies ont été relevées. Exemple, la proie A a été trouvée 10 fois parmi 50 estomacs non vides. La fréquence d'occurrence est alors (10/50).

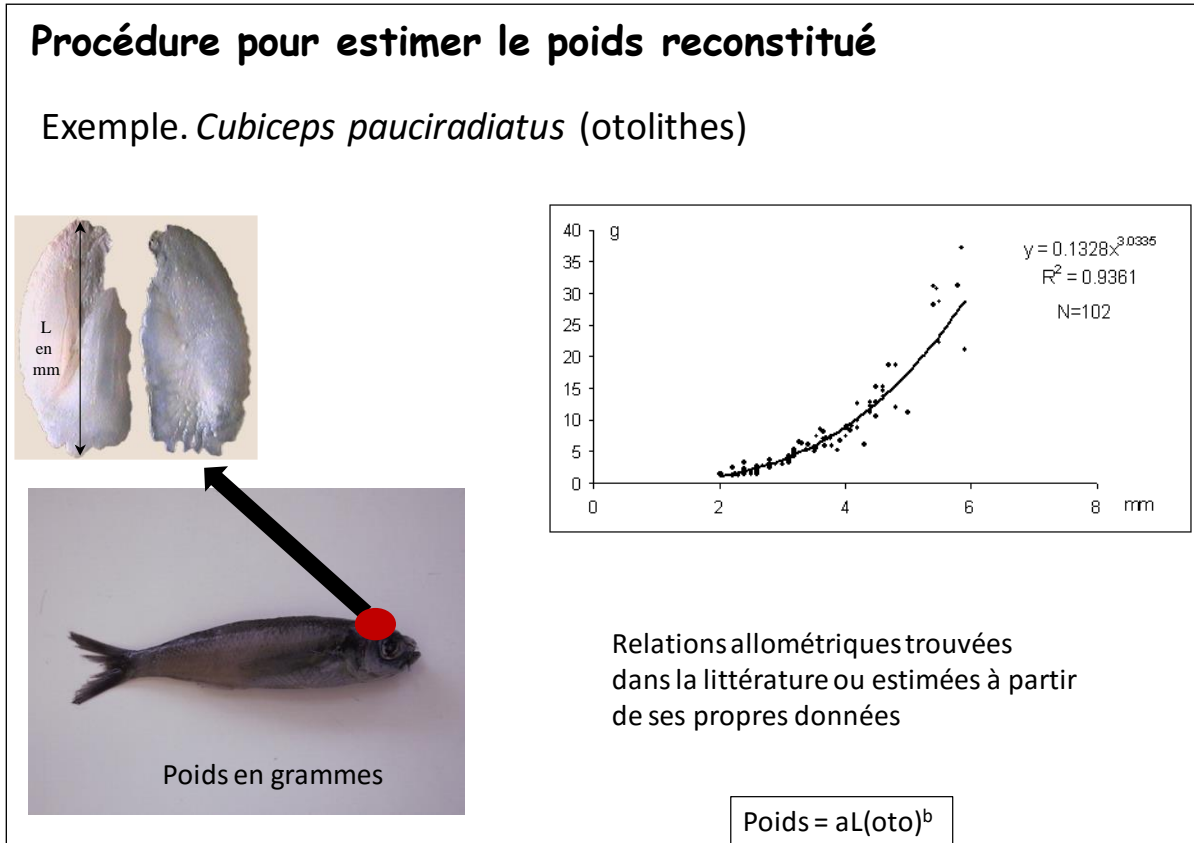


Figure 50. Procédure d'estimation des poids reconstitués. Exemple d'un poisson *Cubiceps pauciradiatus*.

7.2.1.2. Les traceurs trophiques

Un total de 427 poissons provenant de 3 zones différentes de l'Ouest de l'océan Indien (La Réunion (zone A), Seychelles (zone B) et Afrique du Sud (zone C)) ont été sélectionnés pour les analyses des traceurs trophiques. Le Tableau 26 présente le nombre et la taille des germes prélevés par zone et période (saison/année) de pêche, et par sexe. Des échantillons de muscle et foie (minimum 2 g) ont été prélevés sur chaque individu et congelés dès que possible à -20°C.

Tableau 26. Nombre (n) et taille (FL = longueur à la fourche en cm) des germons par zone et période de pêche, et par sexe. RUN = La Réunion (zone A) ; SEY = Seychelles (zone B) ; SA = Afrique du Sud (zone C) ; Summer = été austral (novembre-décembre ; saison 1) ; Winter = hiver austral (avril-août ; saison 2) ; F = Femelle ; M = Mâle.

Zone	Saison	Année	Sexe	n	Moyenne FL (cm)	Ecart-type FL (cm)	Minimum FL (cm)	Maximum FL (cm)
RUN	Summer	2013	F	25	97.0	2.8	89	103
RUN	Summer	2013	M	26	101.8	2.2	97	106
RUN	Winter	2014	F	25	98.7	3.4	90	105
RUN	Winter	2014	M	25	104.7	2.6	101	110
SA	Summer	2013	F	51	82.8	4.2	75	94
SA	Summer	2013	M	51	83.6	4.5	76	96
SA	Winter	2014	F	51	89.5	8.6	74	110
SA	Winter	2014	M	50	90.7	10.1	76	118
SEY	Winter	2013	F	33	94.5	4.3	85	102
SEY	Winter	2013	M	39	97.6	5.4	82	108
SEY	Winter	2014	F	29	94.7	5.4	84	101
SEY	Winter	2014	M	22	100.5	3.4	89	108

Contenu lipidiques et isotopes stables du carbone et de l'azote

Les échantillons de muscle et foie ont été séchés à l'aide d'un lyophilisateur pendant 48h minimum, puis broyés avec un broyeur Retsch MM 200 ou avec un mortier en agate afin d'obtenir une poudre fine et homogène. La délipidation des échantillons des individus « consommateurs » est nécessaire dans les études de réseaux trophiques pour pouvoir comparer des espèces dont le contenu lipidique peut être variable. En effet, les lipides sont beaucoup plus pauvres en isotope lourd du carbone (^{13}C) que les autres constituants biochimiques, ils affectent donc la signature totale sans qu'il y ait de changement de ressources trophiques. Dans cette étude, la méthode utilisée est une délipidation avec du dichlorométhane sous haute pression et à haute température (Bodin et al. 2009). L'échantillon délipidé est récupéré et séché sous hotte. Pour l'analyse isotopique, 0,3 à 0,5 mg sont pesés à l'aide d'une microbalance (précision au μg près), et mis dans des capsules en étain.

Les rapports isotopiques du carbone et de l'azote ont été analysés à l'Université de la Rochelle grâce à un spectromètre de masse isotopique (Thermo Scientific Delta V Advantage, interface ConFlo IV, options NoBlank et SmartEA couplé à un analyseur élémentaire Thermo Scientific Flash EA1112) (Sardenne et al. 2015). Du fait des très faibles variations d'abondance isotopiques naturelles, les compositions isotopiques sont exprimées selon la notation Delta (δ) en ‰, correspondant à la mesure relative de la composition isotopique d'un échantillon par rapport à une référence internationale selon la formule suivante :

$$\delta X = \left(\frac{R \text{ échantillon}}{R \text{ référence}} - 1 \right) \times 1000$$

Où : X correspond à l'isotope lourd (i.e. ^{13}C ou ^{15}N) pour le carbone et l'azote, et R représente le ratio [isotope lourd]/[isotope léger], i.e. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ou $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, pour l'échantillon et la référence.

Contenu protéinique

Le contenu en protéines totales a été déterminé par dosage colorimétrique à partir de la méthode BCA (BiCinchoninic acid Assay). Environ 15 ± 5 mg d'échantillon frais ont été pesés et broyés avec un broyeur Retsch MM 400. L'échantillon a ensuite été incubé avec le BCA et soumis à une succession de différents chocs thermiques (i.e. alternance répétée de 2×30 secondes dans l'azote liquide puis 5 minutes dans un bain à ultra-sons à 30°C). L'absorbance à 520 nm a été analysée à partir d'un spectrophotomètre TECAN Infinite 200 et convertie en quantité de protéines, exprimée en % de poids frais, à partir du standard Albumine sérique bovine (BSA).

L'objectif du projet était d'analyser les traceurs trophiques pour un minimum de 50 échantillons de muscle et foie par zone et période de pêche (soit un total de 400 analyses par tissu et traceur). Les contraintes liées à la collecte (voir paragraphe 3.1) et au transport des échantillons congelés ont perturbé le bon avancement des analyses en laboratoire, obligeant à établir un ordre de priorité. Ainsi, les analyses de lipides et isotopes stables dans le muscle ($n = 427$) ont été réalisées intégralement et les résultats présentés dans ce rapport. Celles dans le foie et les analyses de protéines sont par contre toujours en cours avec un objectif de rendu final d'ici septembre 2015.

7.2.2. Résultats

Les analyses descriptives des contenus stomacaux précédentes ont conduit à une modélisation statistique. Des arbres de régression ont été appliqués au jeu de données. Les arbres de régression sont des méthodes récursives de partitionnement d'un jeu de données. Ils permettent de prédire de façon optimale des groupes disjoints à partir de covariables d'intérêt. L'algorithme examine toutes les valeurs possibles de division pour chaque covariable de façon à trouver la meilleure division. L'arbre résultant est souvent de grande taille avec un risque de mauvaise classification des données (ou de surinterprétation des classes produites). Une procédure d'élagage permet de réduire ce risque en optimisant le nombre de nœuds. Appliqué au poids reconstitué, en incluant comme covariables la région, la saison et le sexe, les arbres obtenus montrent que la région est le premier facteur de répartition des contenus stomacaux suivi par la saison pour la palangre et la canne. Le sexe ne joue aucun rôle.

Des analyses de comparaison des moyennes paramétriques (Anova, F) ou non paramétriques (Kruskal-Wallis, K) selon les résultats des analyses descriptives (distribution des données et test de Bartlett d'homogénéité des variances) ont été appliquées sur les données de taille, ainsi que les données lipidiques et isotopiques afin d'étudier les effets des facteurs « zone », « saison/année » et « sexe ». Les analyses statistiques ont été réalisées à partir du logiciel R 3.0.2.

7.2.2.1. Contenus stomacaux

Un total de 1016 estomacs a été récupéré de 2001 à 2014. Il couvre trois grandes zones biogéographiques de l’océan Indien, Zone du vortex indien de mousson (MONS), zone du vortex Indien Sub-Tropical Sud (ISSG) et zone côtière Est-Africaine (EAFR) du Canal de Mozambique à la région du Cap en Afrique du Sud (zone C) (Figure 49). Le Canal de Mozambique et la région du Cap ont été traitées comme deux entités distinctes.

La taille des thons germon échantillonnés s’étale de 67 cm à 119 cm de LF. Les plus grandes tailles ont été prélevées par la palangre (102,3cm ± 5,0), la senne et la traîne. Les tailles des thons germon présentent des tailles proches (95,2cm ± 5,1 ; 94,9cm ± 6,7 respectivement) et les plus petites tailles ont été collectées à la canne (85,2cm ± 7,4). La taille moyenne est maximale en zone ISSG (m = 102,7cm ± 5,1) et diminue au nord en zone MONS (m = 95,8cm ± 5,1) et au sud en zone EAFR du Canal de Mozambique (m = 96,8cm ± 6,0) à la région du Cap (m = 86,5cm ± 9,0) (Figure 51). Les variations observées entre les tailles mesurées sont significatives entre les différentes zones (Kruskal-Wallis $p < 0,01$). Même si la différence entre les tailles représente probablement des différences biométriques entre les zones, les effets des stratégies de pêches ne sont pas à négliger. En effet, les engins de pêche ciblant des groupes spécifiques, nous ne pouvons conclure avec certitude sur les observations des différences de tailles entre les zones.

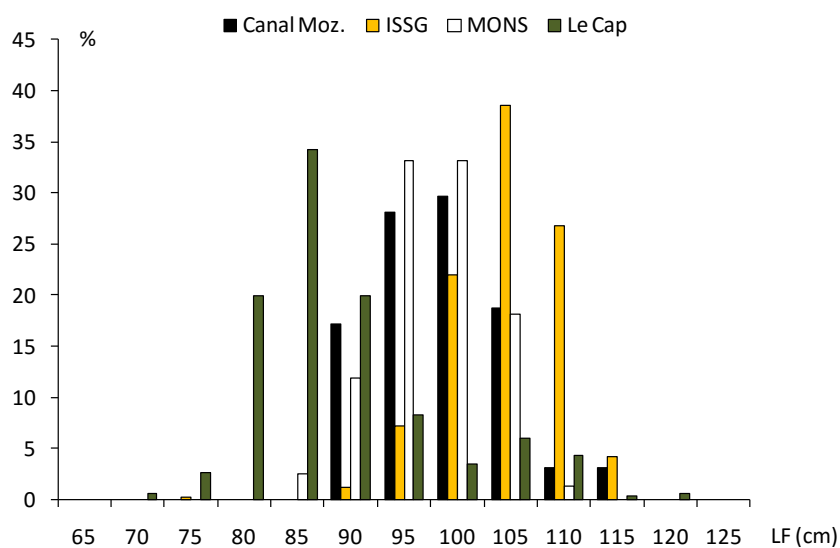


Figure 51. Distribution en taille des germons dont les estomacs ont été prélevés pour analyse suivant les grandes zones d’étude.

Généralités

Le pourcentage d’estomacs vides augmente des régions périphériques de l’étude (région du Cap (17,6%) et zone MONS (6%) vers le centre de l’étude (Canal de Mozambique 37,5% et ISSG 51,8%). Ce résultat semble lié au comportement du germon. Dans les régions du Cap et de la zone MONS, le germon est grégaire et présent en surface, alors qu’il adopte un comportement plus individuel dans le Canal de Mozambique et dans la zone ISSG où il est trouvé en profondeur. Ces comportements ont été observés par les pêcheurs qui ont adapté leurs

stratégies de pêche en fonction. Concernant l'indice de remplissage (IR), il est calculé comme ci-dessous :

$$IR = \text{Poids}_{cs} / (\text{Poids}_{ind} - \text{Poids}_{cs}) * 100$$

Avec Poids_{cs} = Poids contenu stomacal et Poids_{ind} = Poids individu

Cet indice présente un schéma identique à celui des estomacs vides avec des valeurs plus élevées en région du Cap ($0,27 \pm 0,5$) et en zone MONS ($0,29 \pm 0,3$), comparées aux valeurs du Canal de Mozambique ($0,05 \pm 0,1$) et de la région ISSG ($0,04 \pm 0,1$). Entre la région du Canal de Mozambique et la zone ISSG, les variations observées dans l'IR ne sont pas significatives. Elles sont significatives pour toutes les autres zones (Kruskal-Wallis $p < 0,01$).

Les rations journalières ont été calculées dans chaque grande zone en suivant la formule d'Olson and Boggs (1986). Les valeurs calculées sont décrites dans le Tableau 27. Elles fluctuent de 0,6% du poids de l'individu en région ISSG à 1,7% du poids individuel en Zone MONS. Les valeurs calculées ne diffèrent pas significativement entre La région du Cap et la zone MONS, et entre le Canal de Mozambique et la zone ISSG.

Tableau 27. Valeurs des rations journalières estimées pour les différentes régions de l'étude.

Région	Le Cap	Mozambique	ISSG	MONS
Moyenne \pm écart-type	1,5 \pm 0,12	0,6 \pm 0,10	0,7 \pm 0,06	1,7 \pm 0,14
Médiane	0,8	0,4	0,4	1,0

En conclusion, la zone du grand gyre sub-tropical (ISSG) et du Canal de Mozambique sont caractérisées par un nombre d'estomacs vides élevé, un indice de remplissage et une ration journalière faibles. Elles se différencient en cela de la région du Cap et de la zone MONS dont les valeurs sont assez proches pour ces trois paramètres : peu d'estomacs vides, IR et rations plus élevés.

Groupes proies

Les céphalopodes, les poissons et les crustacés sont les trois grands groupes zoologiques collectés dans les estomacs des germons. Les crustacés sont le groupe le moins représenté. Leur importance en nombre, poids reconstitué et occurrence diminue de la Région du Cap vers le Canal de Mozambique, la zone ISSG, pour être minimale en zone MONS (Tableau 28). Céphalopodes et poissons sont les deux groupes les mieux représentés dans l'alimentation du germon. Dans l'Ouest de l'océan Indien, la présence des céphalopodes est faible dans la zone MONS (15,3%) et supérieure à 50% dans les autres régions et ils peuvent représenter de 30 à 45% du poids reconstitué dans les régions du Cap, du Canal de Mozambique et en zone ISSG. Dans la région MONS leur contribution à l'alimentation du germon est très faible (présent dans moins de 3% des estomacs). La présence des poissons dans les estomacs est forte dans toutes les zones variant de 67% dans la région du Cap à 98% dans la zone MONS. En poids reconstitué ils forment la principale part de l'alimentation dans toutes les zones étudiées (Tableau 28).

Tableau 28. Fréquence d'occurrence (%), nombre moyen \pm écart-type (MN \pm ec) et poids moyen reconstitué \pm écart-type (PMR \pm ec) des grands groupes zoologiques dans les estomacs de thon germon dans les quatre zones d'étude.

		Le Cap	Mozambique	ISSG	MONS
OCCURRENCE (%)	Crustacés	57,9	43,6	39,4	12,7
	Céphalopodes	65,2	56,4	67,3	15,3
	Poissons	67,2	84,6	71,6	98,0
	Autres groupes	6,2	2,6	12,0	
NOMBRE PROIES (MN \pm ec)	Crustacés	24 \pm 34,2	12,2 \pm 24,0	13,8 \pm 24,2	2,6 \pm 13,1
	Céphalopodes	27 \pm 35,7	18,9 \pm 33,4	35,1 \pm 37,7	1,8 \pm 8,9
	Poissons	47 \pm 42,1	68,8 \pm 38,9	47,7 \pm 39,3	95,6 \pm 16,2
	Autres groupes	1,9 \pm 11,7	0,1 \pm 0,5	3,5 \pm 11,3	
POIDS RECONSTITUE (PMR \pm ec (g))	Crustacés	13,5 \pm 29,4	5,2 \pm 1,7	5,7 \pm 18,8	1,8 \pm 11,1
	Céphalopodes	34,2 \pm 41,7	29,5 \pm 37,7	45,3 \pm 42,2	3,0 \pm 11,7
	Poissons	51 \pm 44,7	65,3 \pm 39,5	47,6 \pm 41,8	95,2 \pm 16,8
	Autres groupes	4,3 \pm 8,5	<0,1 \pm <0,1	1,4 \pm 10,1	

En conclusion, les céphalopodes et les poissons sont les deux groupes principaux de l'alimentation du germon. En poids reconstitué, les poissons dominent l'alimentation du germon dans toutes les zones. Ils sont la nourriture quasi exclusive des individus capturés dans la région MONS.

Espèces proies

170 espèces proies ont été collectées dans les estomacs provenant des 4 zones échantillonnées. 126 proies ont été trouvées dans la zone ISSG, 88 dans le Canal du Mozambique, 47 dans la région du Cap et 27 dans la zone MONS. Le résultat de l'analyse détaillée des contenus stomacaux par grande zone est donné en Annexe H.

Dans la région du Cap, du Canal de Mozambique et dans la zone MONS, les dix espèces proies principales constituent plus de 75% du poids moyen reconstitué et du nombre moyen de proies dans l'estomac. En région ISSG, la part des 10 principales espèces diminue et ne représente que 50% du poids moyen reconstitué et du nombre moyen de proies. Parmi ces proies, on retrouve 4 espèces de poissons, 2 de céphalopodes et 4 de crustacé pour la zone du Cap, 5 poissons et 5 céphalopodes dans le Canal de Mozambique, 6 poissons et 4 céphalopodes en zone ISSG, 4 poissons, 4 céphalopodes et 2 crustacés en zone MONS. Dix de ces proies sont retrouvées dans les quatre zones. Elles appartiennent toutes à la couche diffusante (DSL : Deep Scattering Layer). Ce sont des céphalopodes (*Sthenoteuthis oualaniensis*, *Enoploteuthidae* et *Onychoteuthidae*, *Argonauta argo*), des stades larvaires de crustacés (stomatopodes et décapodes) et un amphipode. Aucune espèce de poisson n'est retrouvée dans les 4 zones (Tableau 29).

Dans la région du Cap, les poissons *Lampanyctodes hectoris* (Myctophidae) et *Maurolucus muelleri* (Sternoptychidae) et le céphalopode *Lycoteuthis lorigera* (Lycoteuthidae) sont les proies principales et représentent autour de 60% du nombre moyen et du poids moyen

reconstitué des proies. Dans le Canal de Mozambique, les myctophidés du genre *Diaphus*, les juvénile de poissons coralliens et le céphalopode ommastréphide *Sthenoteuthis oualaniensis* sont prédominants et forment entre 45% (nombre) et 50% (poids reconstitué) des proies ingérées. En zone ISSG, les céphalopodes du genre *Onychoteuthis*, *Sthenoteuthis oualaniensis* et les poissons du genre *Diaphus* sont les proies principales mais elles ne forment que 22% à 24% du nombre moyen et du poids reconstitué des proies ingérées. En zone MONS le poisson *Cubiceps pauciradiatus*, le chinchard *Decapterus* sp. et les juvéniles de poissons coralliens sont les proies quasi exclusives du germon. Elles représentent 95% en poids reconstitué et en nombre des proies collectées dans les estomacs.

En conclusion, la plupart des proies principales trouvées dans les estomacs sont caractéristiques d'une zone. Seules quelques proies, juvéniles de poissons coralliens dans le Canal de Mozambique et en zone MONS, myctophidés du genre *Diaphus* et le céphalopode *Sthenoteuthis oualaniensis* en zone ISSG et canal de Mozambique sont communes à deux zones. En zone MONS, trois espèces proies (poissons) représentent plus de 95% des proies alors qu'en zone ISSG la répartition du poids est plus dispersée entre les proies dominantes.

Biodiversité

Les courbes de raréfaction calculées pour chaque zone d'étude, montrent que la biodiversité des proies diffère d'une région à l'autre. Pour un effort d'échantillonnage de 40 estomacs la biodiversité observée est de 13 espèces en zone MONS, 40 espèces dans la région du Cap, 47 espèces dans le Canal de Mozambique et 60 espèces en zone ISSG où cette biodiversité est la plus forte (Figure 52).

En conclusion, il existe une diversité différente d'une zone à l'autre. Les valeurs les plus fortes sont observées dans les zones où les germons sont capturés à la palangre (ISSG et canal de Mozambique) et les plus faibles dans les zones où les individus sont capturés par les engins de surface (Le Cap et MONS).

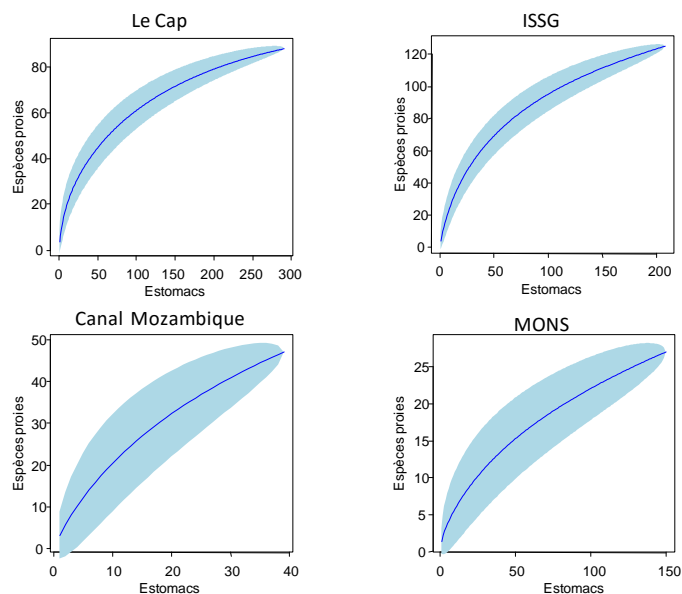


Figure 52. Courbes de raréfaction avec l'écart-type pour chaque grande zone d'étude.

Tableau 29. Liste et place des dix principales espèces proies trouvées dans les quatre zones échantillonnées par le projet en poids moyen reconstitué, en nombre moyen et en occurrence.

Proies	PMR				NM				Occurrence			
	Le Cap	Moz.	ISSG	MONS	Le Cap	Moz.	ISSG	MONS	Le Cap	Moz.	ISSG	MONS
<i>Abraliopsis pfefferi</i>		7				8						
<i>Argonauta argo</i>		8		6		9		5				10
<i>Lycoteuthis lorigera</i>	1				2				2			
Ommastrephidae		4	9			5	10					
Onychoteuthidae				7					10	8		
<i>Onychoteuthis banksii</i>			4				9				9	
<i>Callimachus rancureli</i>		5	1			7	2			9	1	
<i>Ornithoteuthis volatilis</i>	6			8	9			9	5	6		6
<i>Sthenoteuthis oualaniensis</i>		3	2	5		6	3	6			3	3
<i>Taningia danae</i>												7
<i>Brachyscelus cruscolum</i>	9				10				8			
<i>Enoplometopus</i> sp.							7				6	
<i>Heterocarpus</i> sp.	8				4				6			
<i>Jasus</i> sp.									9			
Larves crustacés	10				8				7			
<i>Lysiosquilla tredimidata</i>				9				7		4		5
<i>Natosquilla investigatoris</i>				4				4				9
<i>Neoanchisquilla tuberculata</i>								10		5		
<i>Odontodactylus scyllarus</i>						4	8	8		2	2	8
<i>Phrosina semilunata</i>	7				5				3	7		
<i>Cubiceps pauciradiatus</i>				1				1				1
<i>Decapterus</i> sp.		9		3		10		3				4
<i>Diretmus argenteus</i>			6								10	
<i>Diaphus</i> sp.		2	3			2	1			3	5	
<i>Diaphus perspicillatus</i>		6				3				10		
<i>Engraulis</i> sp.	5				6							
Juvéniles côtiers		1	8	2		1	4	2		1	8	2
<i>Lampanyctodes hectoris</i>	3				3				4			
<i>Lestrolepis intermedia</i>			5				6				4	
<i>Maurollicus muelleri</i>	2				1				1			
<i>Nansenia macrolepis</i>			7				5				7	
<i>Magnisudis atlantica</i>			10									
<i>Symbolophorus barnardi</i>	4				7							
<i>Thunnus</i> sp.				10								
<i>Tremoctopus violaceus</i>		10										

Taille des proies

Les tailles des individus sont exprimées à partir des relations liant la taille des pièces osseuses à la taille de l'individu. Pour les céphalopodes, c'est la LRL (Lower Rostral Length) en mm qui a été mesurée et extrapolée en mesure de la LM (longueur du manteau). Pour les poissons la LS (Longueur standard) a été estimée à partir des relations existantes entre la mesure de l'otolithe et la taille de l'individu. Pour les crustacés, la taille est exprimée en LT (Longueur totale) et estimée à partir des relations existantes entre la taille du telson et la taille de l'individu.

Plus de 95% des proies ingérées par le thon germon ont une taille inférieure à 100mm (Figure 53). Une analyse de variance réalisée sur la distribution des tailles entre chaque région montre que la différence de taille observée est significative ($F = 32,4$; $p < 0,01$). Le Tableau 30 donne les valeurs de la médiane et de la moyenne plus ou moins son écart type pour chaque groupe zoologique et chaque région.

Tableau 30. Tailles moyennes et médianes des différents groupes de proies dans les quatre zones échantillonnées par le projet.

	Le Cap	Mozambique	ISSG	MONS
Moyenne \pm écart-type (mm)				
Céphalopodes	64,4 \pm 0,9	62,7 \pm 3,7	68,5 \pm 1,9	64,5 \pm 3,7
Crustacés	20 \pm 1,5	18,8 \pm 3,4	24,4 \pm 1,2	37,2 \pm 0,8
Poissons	51,6 \pm 0,5	45,2 \pm 1,2	61,3 \pm 2,1	59,1 \pm 0,4
Toutes proies	56,1 \pm 0,5	46,2 \pm 1,2	63,3 \pm 1,4	57,8 \pm 0,5
Médiane (mm)				
Céphalopodes	80	63,5	65,9	67,7
Crustacés	22,5	13,7	23,85	37,6
Poissons	47,9	43,3	40,8	59,4
Toutes proies	51,4	43,3	44,45	59,4

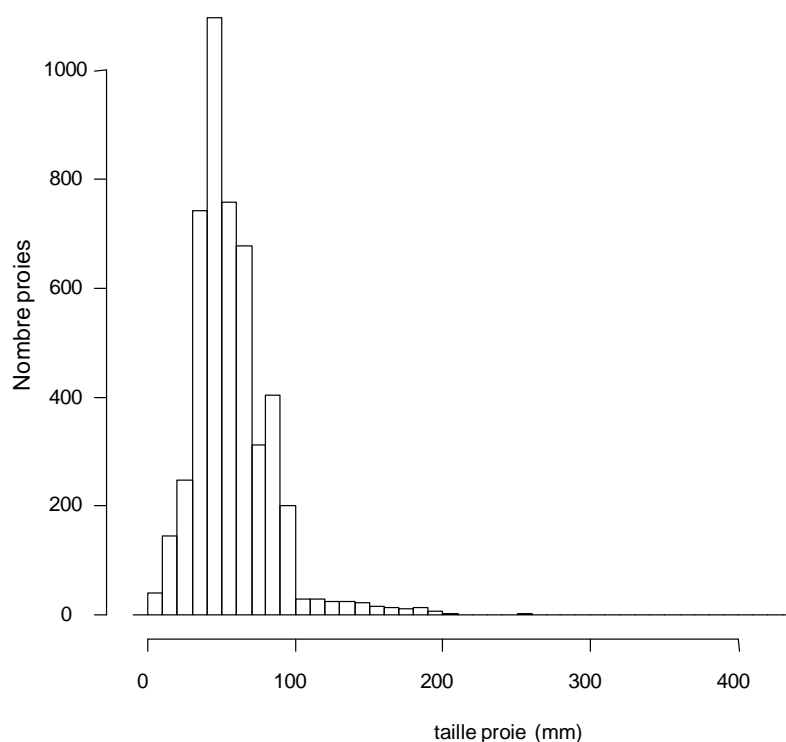


Figure 53. Distribution (synthèse des 4 zones) de la taille des proies ingérées par le germon dans l’Ouest de l’océan Indien.

Les céphalopodes nous permettent de comparer la taille de proies communes aux quatre zones. Chez l'ommatrephidé *Sthenoteuthis oualaniensis* et dans la famille des Onychoteuthidae les gammes de tailles observées dans chaque zone se recouvrent (Figure 54). Les différences observées ne sont pas significatives pour *Sthenoteuthis oualaniensis* (Anova $F = 1,19$; $p = 0,319$) et significatives pour les Onychoteuthidae ($F = 50,23$; $p < 0,01$).

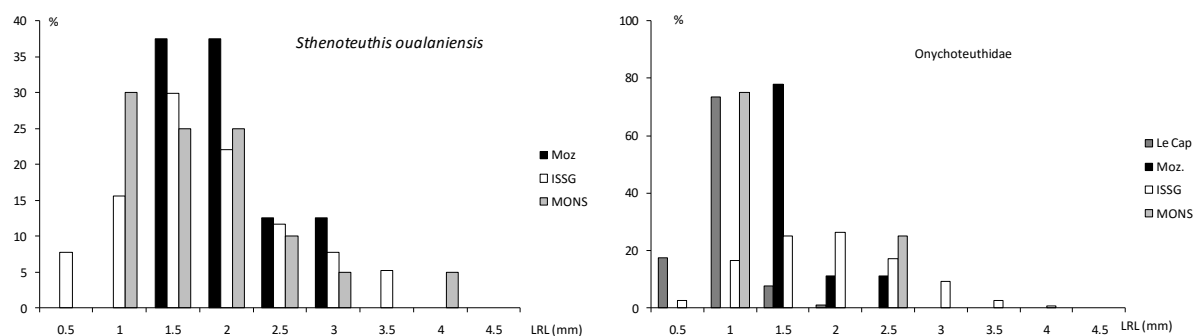


Figure 54. Distribution des fréquences de tailles des bords inférieurs (LRL en mm) de *Sthenoteuthis oualaniensis* et des Onychoteuthidae dans les quatre zones échantillonnées par le projet.

En conclusion, 95% des proies ingérées par le thon germon ont une taille inférieure à 100 mm. Cependant, la taille moyenne de ces proies diffère significativement d'une zone à l'autre.

7.2.2.2. Les traceurs trophiques

Caractéristiques des germes sélectionnés pour les analyses de traceurs trophiques

En moyenne, les germes analysés dans cette approche, provenant de La Réunion (zone A, $n = 101$), présentent des tailles significativement plus grandes que ceux pêchés aux Seychelles (zone B, $n = 123$) et en Afrique du Sud (zone C, $n = 203$) ($F = 180,08$; $p < 2,2e^{-16}$; Figure 55). Il est à noter également la plus grande gamme de taille des poissons prélevés en Afrique du Sud (zone C) (FL = 74 à 118 cm) comparée à ceux provenant de La Réunion (zone A) (FL = 89 à 110 cm) et des Seychelles (zone B) (FL = 84 à 108 cm).

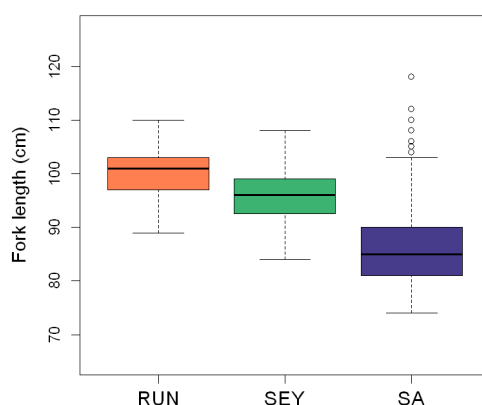


Figure 55. Boîtes à moustache des tailles des germes (Fork length = longueur à la fourche, en cm) prélevés à La Réunion (zone A) (RUN, $n = 101$), aux Seychelles (zone B) (SEY, $n = 123$) et en Afrique du Sud (zone C) (SA, $n = 203$) en 2013 et 2014.

Au sein de chaque zone de pêche, des différences significatives ont été observées entre les sexes et périodes (saison/année) de pêche (Figure 56). À La Réunion (zone A) et aux Seychelles (zone B), les germons femelles présentent des tailles significativement plus petites que les males (RUN : $K = 48,3818$, $p = 3,5e^{-12}$; SEY : $K = 19,4752$, $p = 1,019e^{-05}$). Aucun effet sexe n'a été observé ($p > 0,05$) avec les germons analysés en traceurs trophiques ($n = 427$). À La Réunion (zone A) et en Afrique du Sud (zone C), les germons pêchés en été austral 2013 présentent des tailles inférieures à ceux pêchés en hiver 2014 (RUN : $K = 8,6469$, $p = 0,00328$; SA : $K = 34,1345$, $p = 5,1e^{-9}$). Cependant, des gammes de tailles comparables ont été échantillonnées en hiver (juin-juillet) 2013 et 2014 aux Seychelles (zone B) ($p > 0,05$).

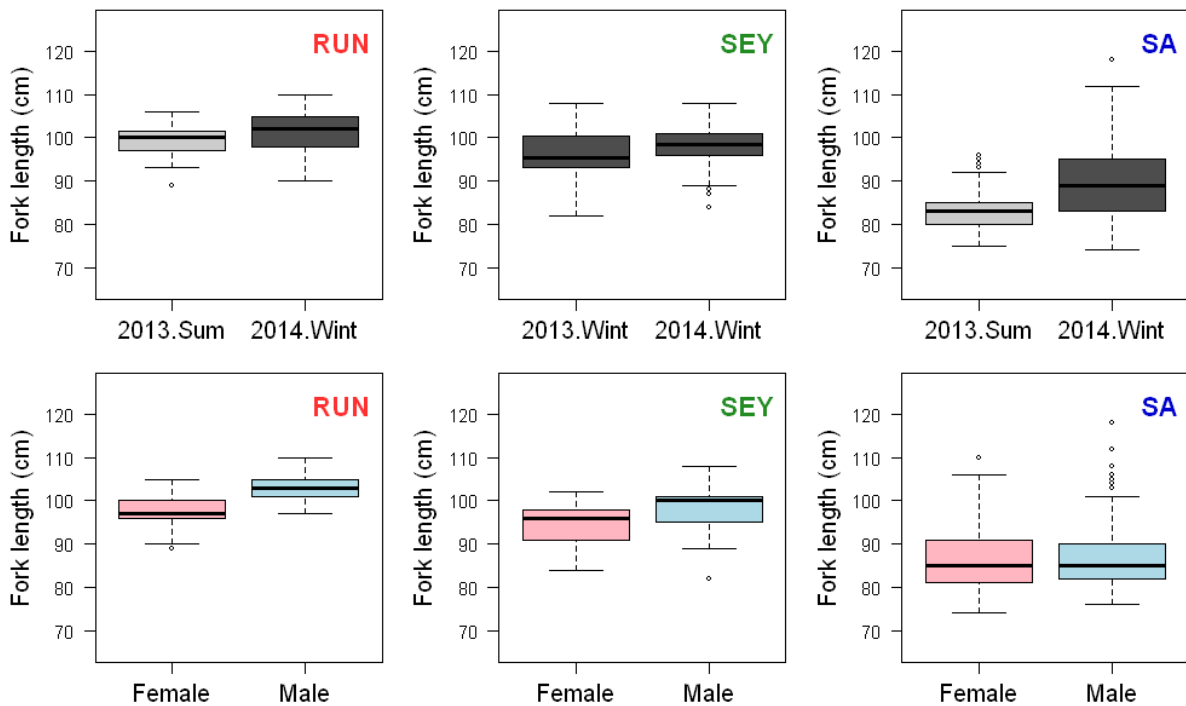


Figure 56. Boîtes à moustache des tailles des germons (Fork length = longueur à la fourche, en cm) en fonction du sexe et de la période de pêche (année/saison) à La Réunion (zone A) (RUN), aux Seychelles (zone B) (SEY) et en Afrique du Sud (zone C) (SA). 2013.Wint = hiver austral 2013 ; 2013.Sum = été austral 2013 ; 2014.Wint = hiver austral 2014.

Avant l'analyse détaillée des résultats des traceurs trophiques chez le germon, l'influence de la taille des poissons sur le contenu en lipides et les signatures isotopiques en azote ($\delta^{15}\text{N}$) et carbone ($\delta^{13}\text{C}$) a été étudiée via des analyses de corrélation. Aucune relation significative n'a été observée quelle que soit la zone de pêche (Figure 57), ce qui permet de s'affranchir du facteur taille pour la suite des analyses statistiques des traceurs trophiques.

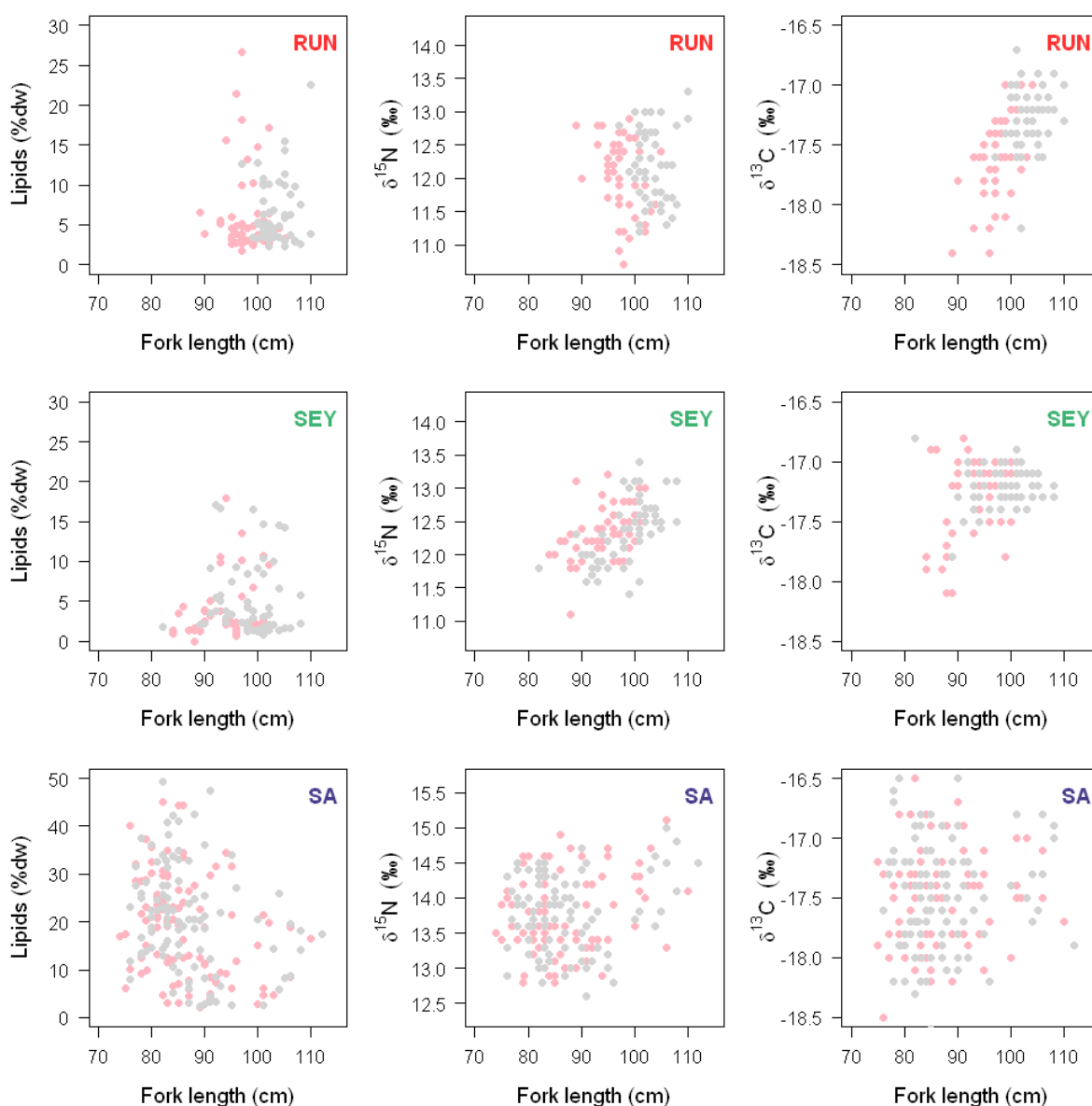


Figure 57. Valeurs lipidiques (Lipids %dw) et isotopiques ($\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$, ‰) en fonction de la taille (Fork length = Longueur à la fourche, cm) des germons prélevés à La Réunion (zone A) (RUN), aux Seychelles (zone B) (SEY) et en Afrique du Sud (zone C) (SA) en 2013 et 2014. Les femelles sont représentées par des points roses et les mâles par des points gris.

Variabilité des teneurs en lipide chez le germon de l'Ouest de l'océan Indien

Les lipides constituent une des principales sources d'énergie chez les poissons permettant d'assurer les fonctions essentielles telles que la survie, la croissance et la reproduction. Ils sont utilisés à la fois comme source ou réserve de carbone et comme composant essentiel des membranes cellulaires (Sargent et al. 1989).

L'analyse du contenu en lipides totaux a été réalisée sur un total de 420 échantillons de muscle de thon germon provenant de La Réunion (zone A), des Seychelles (zone B) et d'Afrique du

Sud (zone C), et un total de 227 d'échantillons de foie de thon germon provenant de La Réunion (zone A) et d'Afrique du Sud (zone C) (Tableau 31).

Tableau 31. Teneurs en lipides totaux (% dw) mesurées dans le muscle et le foie de germon prélevés à La Réunion (zone A) (RUN), aux Seychelles (zone B) (SEY) et en Afrique du Sud (zone C) (SA) en 2013 et 2014. Summer = été austral (Novembre-Décembre) ; Winter = hiver austral (Avril-Août) ; F = Femelle ; M = Mâle.

Zone	Saison	Année	Sexe	Muscle					Foie				
				n	moyenne	ET	min	max	n	moyenne	ET	min	max
RUN	Summer	2013	F	25	6,6	5,6	2,5	21,4	25	10,2	2,7	6,0	16,3
RUN	Summer	2013	M	25	7,7	3,8	2,3	15,4	26	21,6	7,9	10,0	41,0
RUN	Winter	2014	F	24	6,2	5,3	1,8	26,6	25	20,6	8,4	9,6	41,2
RUN	Winter	2014	M	25	5,4	4,2	2,3	22,6	25	15,5	5,8	8,6	33,2
SA	Summer	2013	F	49	26,2	8,3	9,9	45,1	46	33,7	12,8	1,9	64,0
SA	Summer	2013	M	50	26,4	9,5	8,0	49,4	44	30,3	9,6	11,9	53,0
SA	Winter	2014	F	51	11,5	7,6	2,2	32,5	19	22,8	12,1	9,7	57,5
SA	Winter	2014	M	49	14,5	9,1	2,3	47,5	17	21,6	11,0	11,5	42,9
SEY	Winter	2013	F	33	5,3	4,0	1,9	17,9	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
SEY	Winter	2013	M	39	6,5	4,7	1,6	17,1	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
SEY	Winter	2014	F	29	1,4	0,5	0,6	2,8	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
SEY	Winter	2014	M	21	1,5	0,4	0,8	2,4	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

Des teneurs en lipides significativement différentes ont été observées dans le muscle et le foie des germes selon la zone de pêche (Muscle : $F = 165,42$, $p < 2,2e^{-16}$; Foie : $F = 38,154$, $p = 5,2e^{-15}$; Figure 58). Les individus d'Afrique du Sud (zone C) (Lipides : Muscle = $20 \pm 10\%$ dw, Foie = $29 \pm 12\%$ dw) sont caractérisés par des teneurs en lipides deux fois plus élevées que ceux de La Réunion (zone A) (Lipides : Muscle = $6 \pm 5\%$ dw, Foie = $17 \pm 8\%$ dw) et des Seychelles (zone B) (Lipides = $4 \pm 4\%$ dw, Foie = $18 \pm 5\%$ dw) qui à l'inverse présentent des profils lipidiques très similaires. Le ratio du contenu en lipides totaux du foie par rapport à celui du muscle met en évidence une stratégie différente de stockage d'énergie entre les germes d'Afrique du Sud (zone C) (ratio moyen [Lipides Foie]:[Lipides Muscle] = 1,5) et ceux de La Réunion (zone A) et des Seychelles (zone B) (ratio moyen [Lipides Foie]:[Lipides Muscle] = 3 et 4,5 respectivement). Ces derniers accumulent la majorité de l'énergie lipidique dans le foie qui sera ensuite utilisée pour la croissance et la reproduction, tandis que le muscle, pauvre en lipides, doit être composé majoritairement de protéine et glycogène pour permettre les déplacements rapides et de longue distance. Ce profil lipidique est typique des organismes vivants en milieux tropicaux où la disponibilité en nourriture n'est pas un facteur limitant ; il est observé notamment chez le thon albacore, le thon obèse et le listao (Sardenne et al. 2015). A l'inverse, les thons germes d'Afrique du Sud (zone C) accumulent des quantités importantes d'énergie dans le foie ainsi que dans le muscle pour leur permettre de faire face aux fortes variations saisonnières en nourriture caractéristiques des écosystèmes des hautes latitudes.

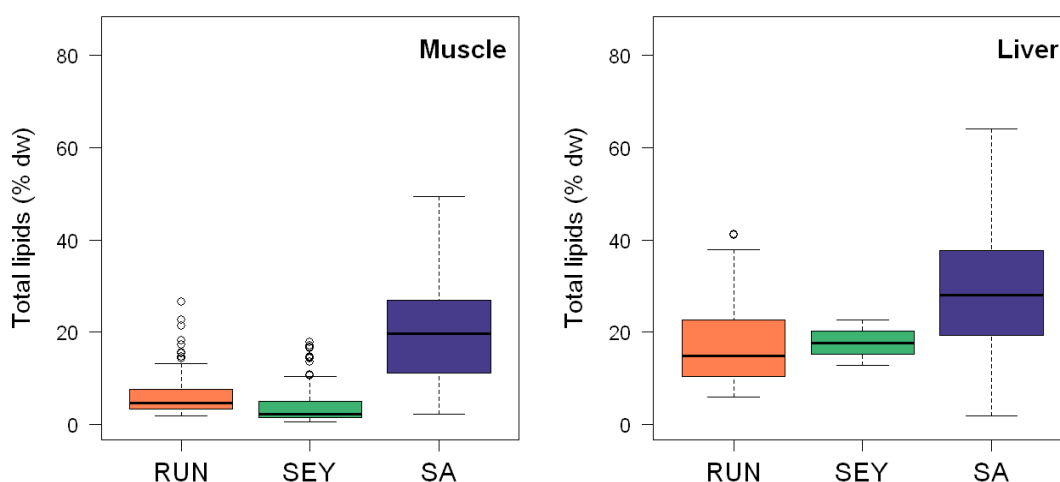


Figure 58. Boîtes à moustache des teneurs en lipides (% dw) mesurées dans le muscle et le foie de germons prélevés à La Réunion (zone A) (RUN, n = 101), aux Seychelles (zone B) (SEY, n = 123) et en Afrique du Sud (zone C) (SA, n = 203) en 2013 et 2014.

À La Réunion (zone A), les thons germons sont caractérisés par des teneurs en lipides dans le muscle et le foie relativement constantes quelle que soit la saison de pêche (Figure 59 et Figure 60). Seul un léger effet du sexe sur le contenu en lipides dans le foie a été observé ($F = 4,2015$, $p = 0,0430$; Figure 60), avec des teneurs inférieures chez les femelles probablement liées à une utilisation de l'énergie lipidique pour la maturation des gonades. Aucun effet sexe ($p > 0,05$; Figure 59) mais un fort effet année a été mis en évidence dans le muscle des germons des Seychelles (zone B), les individus collectés en hiver 2014 étant fortement appauvris en lipides musculaires comparés à ceux de l'hiver 2013 ($F = 52,577$, $p = 4,4e^{-11}$; Figure 59). Enfin, en Afrique du Sud (zone C), des teneurs en lipides significativement plus élevées en été qu'en hiver ont été observées dans le muscle ($F = 116,92$, $p < 2,2e^{-16}$; Figure 59) et le foie ($F = 18,73$, $p = 3,07e^{-05}$; Figure 60) des thons germons en lien avec les variations saisonnières en nourriture. Aucun effet du sexe n'a été mis en évidence dans cette zone, coïncidant avec l'état d'immaturation des individus révélé par les analyses histologiques (voir paragraphe 7.1.2).

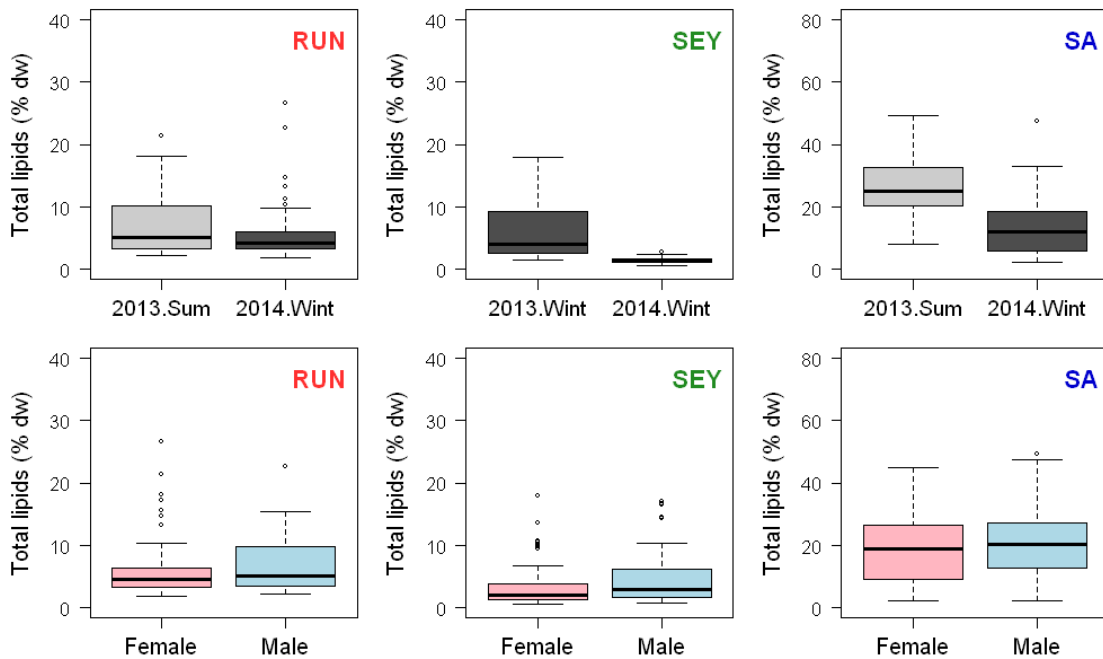


Figure 59. Boîtes à moustache des teneurs en lipides (% dw) mesurées dans le muscle des germes en fonction du sexe et de la période de pêche (année/saison) à La Réunion (zone A) (RUN), aux Seychelles (zone B) (SEY) et en Afrique du Sud (zone C) (SA). 2013.Wint = hiver austral 2013 ; 2013.Sum = été austral 2013 ; 2014.Wint = hiver austral 2014.

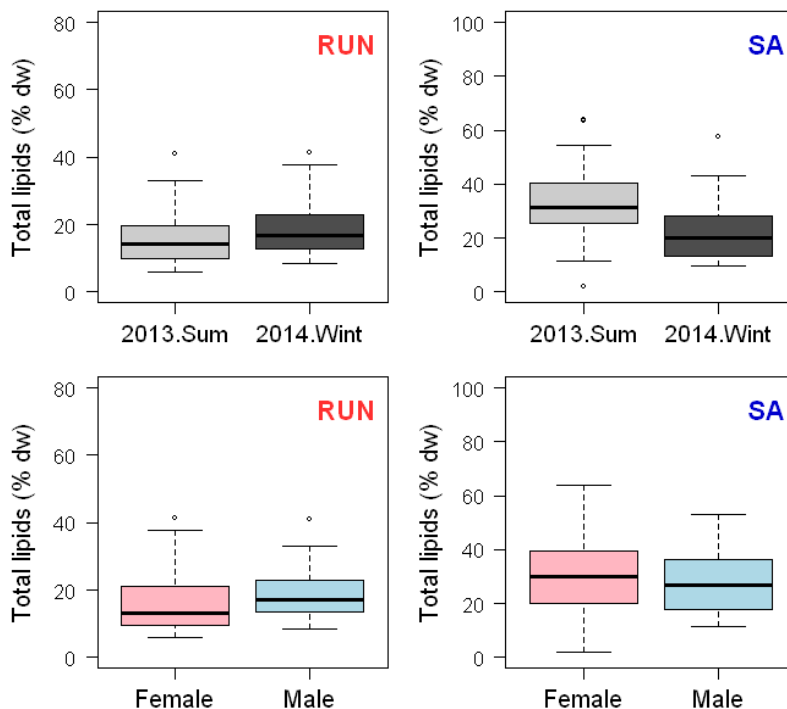


Figure 60. Boîtes à moustache des teneurs en lipides (% dw) mesurées dans le foie des germes en fonction du sexe et de la période de pêche (année/saison) à La Réunion (zone A) (RUN), aux Seychelles (zone B) (SEY) et en Afrique du Sud (zone C) (SA). 2013.Wint = hiver austral 2013 ; 2013.Sum = été austral 2013 ; 2014.Wint = hiver austral 2014.

Variabilité des signatures isotopiques en azote ($\delta^{15}\text{N}$) et carbone ($\delta^{13}\text{C}$) chez le germon de l'Ouest de l'océan Indien

Les isotopes stables du carbone et de l'azote sont de bons traceurs des sources de matière organique des réseaux trophiques et des relations trophiques dans les écosystèmes (Michener and Shell 1994). Le principe de base est que la composition isotopique des tissus d'un consommateur reflète celle de sa nourriture de façon prédictible. Au cours des transferts trophiques, les processus de fractionnement isotopique engendrent des modifications plus ou moins importantes, selon l'élément considéré, de la composition en isotopes stables de la matière organique. C'est la connaissance de l'amplitude de ces variations qui est à la base de l'utilisation de l'outil isotopique pour appréhender les relations trophiques dans les écosystèmes. Il se produit généralement un enrichissement en isotope lourd entre un consommateur et sa nourriture. Dans le cas du carbone, cet enrichissement est faible, 1‰ en moyenne (Vander Zanden et Rasmussen 2001), résultant du fractionnement isotopique associé au métabolisme respiratoire. Par ailleurs, les principales sources de matière organique des réseaux trophiques dans les milieux côtiers marins (e.g. débris de végétaux terrestres, phytoplancton marin et phanérogames marines) ont des valeurs distinctes de $\delta^{13}\text{C}$. Celui-ci constitue donc un bon traceur de l'origine de la matière ingérée par les organismes marins. À la différence du carbone, la composition en isotopes stables de l'azote subit de plus larges variations dans les chaînes alimentaires. Le $\delta^{15}\text{N}$ d'un animal montre en moyenne un enrichissement de 3,4‰ par rapport à sa nourriture (Vander Zanden et Rasmussen 2001), qui résulte du fractionnement isotopique associé au métabolisme d'excrétion de l'azote. Le $\delta^{15}\text{N}$ permet d'estimer le niveau trophique des organismes et de déterminer ainsi la structure des réseaux trophiques.

L'analyse des isotopes stables a été réalisée sur un total de 418 échantillons de muscle de germons provenant de La Réunion (zone A), des Seychelles (zone B) et d'Afrique du Sud (zone C) (Tableau 32).

Tableau 32. Signatures isotopiques en carbone ($\delta^{13}\text{C}$, ‰) et en azote ($\delta^{15}\text{N}$, ‰) mesurées dans le muscle de germon prélevés à La Réunion (zone A) (RUN), aux Seychelles (zone B) (SEY) et en Afrique du Sud (zone C) (SA) en 2013 et 2014. Summer = été austral (Novembre-Décembre) ; Winter = hiver austral (Avril-Août) ; F = Femelle ; M = Mâle.

Zone	Saison	Année	Sexe	n	$\delta^{13}\text{C}$				$\delta^{15}\text{N}$			
					moyenne	ET	min	max	moyenne	ET	min	max
RUN	Summer	2013	F	25	-17,7	0,3	-18,4	-17,3	11,9	0,6	10,7	12,9
RUN	Summer	2013	M	25	-17,4	0,2	-17,6	-16,7	12,1	0,5	11,2	13,0
RUN	Winter	2014	F	25	-17,4	0,3	-18,2	-17,0	12,1	0,5	11,2	12,8
RUN	Winter	2014	M	25	-17,2	0,3	-18,2	-16,9	12,2	0,6	11,3	13,3
SA	Summer	2013	F	49	-17,6	0,4	-18,5	-16,3	13,7	0,5	12,8	14,9
SA	Summer	2013	M	50	-17,7	0,4	-18,8	-16,8	13,7	0,5	12,8	14,7
SA	Winter	2014	F	51	-17,4	0,4	-18,2	-16,3	13,9	0,5	13,0	15,1
SA	Winter	2014	M	49	-17,3	0,4	-18,1	-16,5	13,9	0,6	12,6	15,0
SEY	Winter	2013	F	33	-17,1	0,2	-17,6	-16,8	12,4	0,3	11,9	13,2
SEY	Winter	2013	M	38	-17,2	0,2	-17,5	-16,8	12,2	0,4	11,4	13,1
SEY	Winter	2014	F	28	-17,5	0,3	-18,1	-17,0	12,3	0,4	11,1	13,1
SEY	Winter	2014	M	20	-17,2	0,2	-17,8	-16,9	12,7	0,4	12,1	13,4

Un effet significatif de la zone de pêche a été mis en évidence sur les signatures isotopiques en azote ($K = 495,2$, $p < 2e^{-16}$) et en carbone ($K = 17,15$, $p = 7,0e^{-08}$; Figure 61). Les germons d’Afrique du Sud (zone C) présentent les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ les plus élevées ($\delta^{15}\text{N} = 13,8 \pm 0,4\text{‰}$), suivi de ceux des Seychelles (zone B) ($\delta^{15}\text{N} = 12,3 \pm 0,5\text{‰}$), et enfin ceux de La Réunion (zone A) ($\delta^{15}\text{N} = 12,1 \pm 0,5\text{‰}$). Concernant le $\delta^{13}\text{C}$, les valeurs les plus élevées sont observées chez les germons des Seychelles (zone B) ($\delta^{13}\text{C} = -17,2 \pm 0,3\text{‰}$), tandis que les individus de La Réunion (zone A) et d’Afrique du Sud (zone C) présentent des signatures en carbone similaires ($\delta^{13}\text{C} = -17,4 \pm 0,3\text{‰}$ et $-17,5 \pm 0,4\text{‰}$, respectivement). Les fractionnements isotopiques entre les zones restent faibles (de l’ordre de 0,2 à 1,8‰ pour l’azote et 0,2‰ pour le carbone) ne traduisant pas un changement de niveau trophique ou d’origine de la matière organique. Ils résultent probablement d’une différence de biodiversité des proies disponibles et/ou d’une différence de signatures isotopiques des producteurs primaires de l’écosystème considéré.

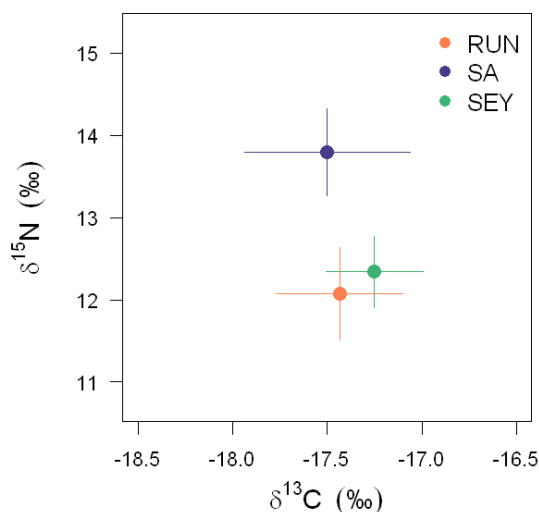


Figure 61. Moyenne (\pm écart-type) des signatures isotopiques en azote ($\delta^{15}\text{N}$, ‰) et carbone ($\delta^{13}\text{C}$, ‰) des germons de La Réunion (zone A) (RUN), des Seychelles (zone B) (SEY) et d’Afrique du Sud (zone C) (SA).

À La Réunion (zone A), les germons sont caractérisés par des signatures en $\delta^{15}\text{N}$ dans le muscle du même ordre de grandeur quelle que soit la saison de pêche et le sexe des poissons (Figure 62). À l’inverse, des différences significatives en $\delta^{13}\text{C}$ ont été observées, les femelles présentant des valeurs plus faibles que les mâles ($K = 17,822$; $p = 2,4e^{-05}$) et ce de façon plus marquée en été qu’en hiver ($K = 14,783$; $p = 0,0001$).

Aux Seychelles (zone B), les germons prélevés en hiver 2013 présentent des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ plus élevées ($K = 17,471$; $p = 2,9e^{-05}$) mais des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ plus faibles ($K = 6,985$; $p = 0,0082$) que ceux de l’hiver 2014 (Figure 62). De plus, un effet sexe n’est observé que sur les signatures en carbone des germons pêchés en hiver 2014, les femelles présentant des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ plus faibles que les mâles ($K = 7,3597$; $p = 0,0067$).

Enfin, aucun effet sexe n’a été mis en évidence sur les signatures isotopiques des germons d’Afrique du Sud (zone C), tandis qu’un fort effet saison est observé, les germons collectés en été présentant des valeurs en $\delta^{13}\text{C}$ ($K = 21,980$; $p = 2,8e^{-06}$) et $\delta^{15}\text{N}$ ($K = 7,959$; $p = 0,0048$) plus faibles que ceux pêchés en hiver (Figure 62).

Quelle que soit la zone considérée, la variabilité des signatures isotopiques en azote et carbone en fonction de la période de pêche et du sexe reste faible, reflétant davantage des différences de proies disponibles dans chaque région considérée qu'une réelle différence de comportement trophique du germon.

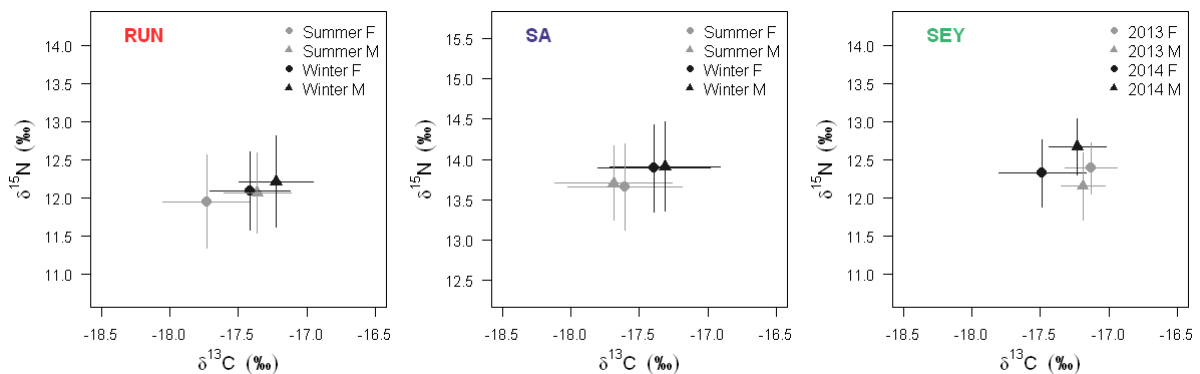


Figure 62. Moyenne (écart-type) des signatures isotopiques en azote ($\delta^{15}\text{N}$, ‰) et carbone ($\delta^{13}\text{C}$, ‰) en fonction du sexe et de la période de pêche (saison/année) chez les germons prélevés à La Réunion (zone A) (RUN), aux Seychelles (zone B) (SEY) et en Afrique du Sud (zone C) (SA) en 2013 et 2014. Summer = été austral (Novembre-Décembre) ; Winter = hiver austral (Avril-Août) ; F = Femelle ; M = Mâle.

7.3. CONCLUSION

L'analyse des contenus des estomacs et des traceurs trophiques montre qu'il existe des différences dans l'alimentation du thon germon suivant la région analysée. Ces différences semblent liées au comportement spécifique du thon germon dans les différentes zones étudiées. Dans la région du Cap et dans la zone MONS, le germon semble avoir un comportement grégaire et il est retrouvé en bancs libres capturés par la canne en Afrique du Sud (zone C) et par la senne dans la zone MONS. Dans la région du Cap, une forte saisonnalité existe avec un remplacement d'espèces proies entre l'été et l'hiver (Figure 63). Ces changements ne sont pas marqués lorsqu'on observe les valeurs isotopiques en $\delta^{15}\text{N}$ trouvées lors des deux saisons. Les proies semblent donc être du même niveau trophique. La biodiversité en proies est faible pour des poissons en bancs qui, en général, se nourrissent sur des concentrations de proies composées d'une ou deux espèces. C'est ce qui se passe en zone MONS où la biodiversité en proies dans les estomacs est faible et où une espèce proie (*C. pauciradiatus*) constitue la plus grande part du bol alimentaire tout au long de l'année.

Dans le Canal de Mozambique et en zone ISSG, les poissons semblent avoir un comportement grégaire moins prégnant et sont trouvés plus profonds en petits groupes. Ils sont capturés, en particulier, par les palangres. La biodiversité en proies est forte dans ces deux régions et aucune proie ne forme une part conséquente de l'alimentation.

Les comportements observés peuvent être liés à l'environnement existant dans ces zones, la zone MONS et la région du Cap sont des zones à fort potentiel productif favorisant des concentrations de proies propices à la formation de bancs de prédateurs alors que les le Canal de Mozambique et la zone ISSG sont des zones oligotrophes où les concentrations de proies sont plus rares et induisent des comportements individuels.

Le thon germon est, avec le thon jaune (*Thunnus albacares*), le prédateur qui présente la diversité en proies la plus élevée dans l'Ouest de l'océan Indien (75 à 78 proies pour un échantillon de 100 estomacs). Son alimentation est donc opportuniste et liée aux communautés de proies présentes dans chaque région échantillonnée.

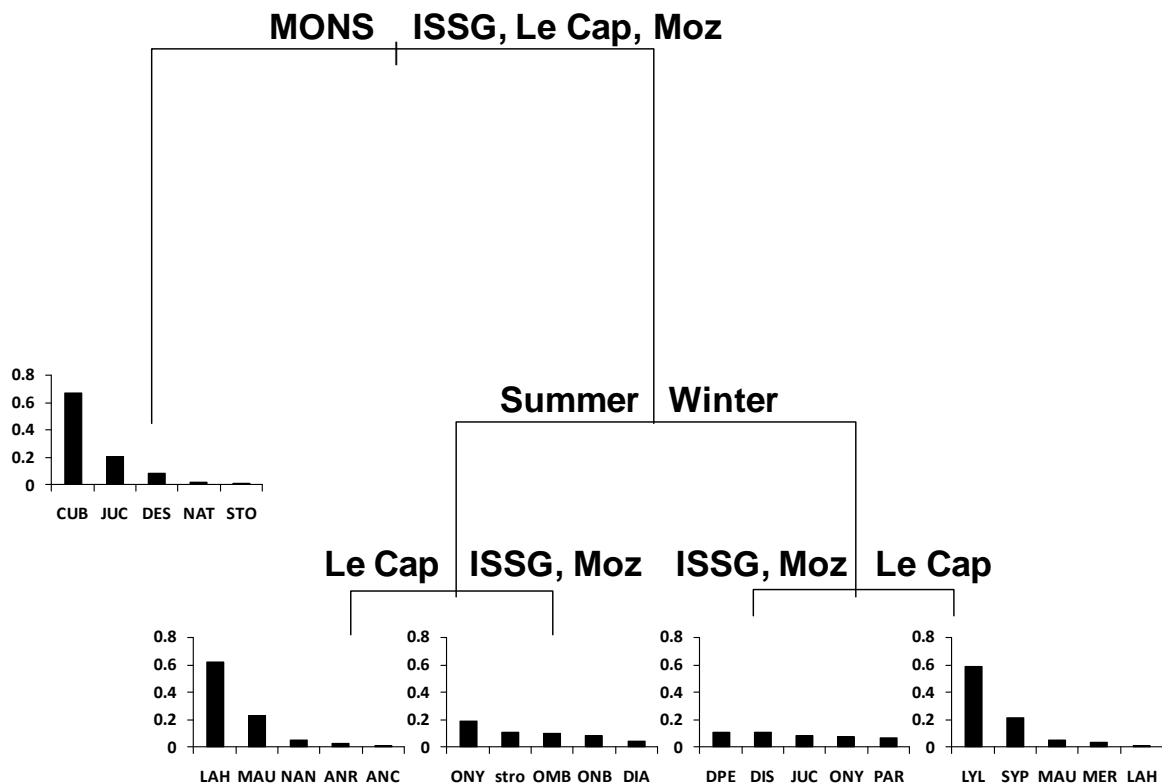


Figure 63. Résultat de l'arbre de régression établi sur le poids reconstitué des proies du thon germon. CUB (*Cubiceps pauciradiatus*), JUC (Juvéniles côtiers), DES (*Decapterus sp.*), NAT (*Natosquilla investigatoris*), STO (*Sthenoteuthis oualaniensis*), LAH (*Lampanyctodes hectoris*), MAU (*Maurolicus muelleri*), NAN (*Nansenia macrolepis*), ANR (*Antimora rostrata*), ANC (*Ancistrocheirus lesueurii*), ONY (*Callimachus rancureli*), stro (*Stromateidae*), OMB (*Ommastrephes bartramii*), ONB (*Onychoteuthis sp2*), DIA (*Diretmus argenteus*), DPE (*Diaphus perspicillatus*), DIS (*Diaphus sp.*), PAR (*Magnisudis atlantica*), LYL (*Lycoteuthis lorigera*), SYP (*Symbolophorus barnardi*), MER (*Merluccius*).

8. Action 5 – Étude préliminaire de la structure du thon germon en fonction de son habitat

Les caractéristiques biologiques (cycles de vie, migrations (flux génétiques), reproduction, croissance, mouvements trophiques et alimentaires, etc.) et les conséquences en termes de structure des stocks de tous les thonidés résultent en grande partie d'une évolution liée à l'environnement. Elles seraient ainsi le résultat de l'adaptation des caractéristiques éco-physiologiques de chaque espèce aux conditions environnementales propres à chaque océan et aux perturbations anthropiques. Alors que les traceurs trophiques (contenus stomacaux et isotopes stables) et les traceurs énergétiques (protéines et lipides) reflètent la disponibilité et/ou la qualité des ressources alimentaires du milieu et que les marqueurs génétiques caractérisent les individus, les traceurs chimiques (composés organiques et inorganiques d'origine naturelle et/ou anthropique mesurés dans le biote) peuvent être eux caractéristiques du milieu dans lequel l'organisme évolue et sont, pour certains composés, relativement conservatifs le long des chaînes trophiques. Ainsi, la sélection de traceurs les plus discriminants des principales zones traversées par le thon germon peut renseigner, via l'étude de la variabilité spatio-temporelle de ces traceurs, sur le comportement migratoire des individus, ainsi que sur les liens existants entre ceux-ci et leurs habitats.

Cette dernière action comporte les travaux préliminaires de la structure du thon germon en fonction de son habitat et se décline en trois volets. Les deux premiers volets s'attachent à décrire les niveaux et profils des PCBs et DDTs (composés organiques), et des éléments traces métalliques (ETM, composés inorganiques) mesurés chez le thon germon. Le dernier volet comprend les analyses génétiques sur des marqueurs dits non-neutres. Chaque partie comporte un rappel des objectifs à la suite de l'introduction. La dimension spatiale en lien avec les conditions environnementales est en cours et ces travaux feront l'objet d'une publication scientifique.

8.1. Niveaux et profils des PCBs et DDTs en fonction des régions

Les PCBs (PCB) et DDTs (DDT) font partie des Polluants Organiques Persistants (POP) inclus dans la Convention de Stockholm qui vise à "*protéger la santé humaine et l'environnement contre les incidences néfastes des POP*". Ce sont des composés synthétiques traceurs de l'activité humaine (origine industrielle pour les PCB et agricole pour le DDT). Leur persistance dans l'environnement, leur capacité à être bioaccumulés dans les organismes et à être bio-amplifiés dans la chaîne alimentaire, ainsi que leur toxicité, en font des contaminants d'intérêt pour l'environnement. Ce sont des composés hydrophobes qui ont une forte affinité pour les lipides des organismes. Ils sont susceptibles de se retrouver à de fortes concentrations chez les organismes marins situés à un haut niveau trophique (prédateurs supérieurs tels que le thon). Leur bioaccumulation est régie par leurs propriétés physico-chimiques, mais aussi par les paramètres biologiques, physiologiques, écologiques (sexe, âge, taux de lipides, statut reproducteur, régime alimentaire, niveau trophique) et environnementaux (température, courants océaniques et atmosphériques). Ces composés semi-volatils subissent un transport atmosphérique sur de longues distances et se retrouvent ainsi distribués globalement y compris dans des zones éloignées de leurs sources.

Les PCB comprennent 209 congénères théoriques et sont utilisés sous la forme de mélanges techniques dont le degré de chloration varie. Ils sont utilisés essentiellement en tant qu'isolants dans les condensateurs et transformateurs électriques, et en tant qu'additifs dans les peintures ou les

plastiques. Le DDT est utilisé comme insecticide en agriculture ou pour lutter contre les maladies telles que la malaria ou le typhus. Le mélange technique contient essentiellement le p,p'-DDT majoritaire (65-85%) et le o,p'-DDT (15-21%), les autres composés (p,p'-DDT, o,p'-DDT, o,p'-DDD, p,p'-DDD, p,p'-DDE) pouvant être présents de façon minoritaire (Qiu et al. 2005; Zhou et al. 2014). En condition aérobie, le DDT se dégrade en DDE (dichlorodiphényldichloroéthylène), alors qu'en condition anaérobie, il se dégrade en DDD (dichlorodiphényldichloroéthane). Les poissons possèdent la capacité de dégrader le DDT à la fois en DDE (majoritaire) et en DDD (Schmitt et al. 1990).

Malgré leur interdiction ou la réglementation de leurs usages dans de nombreux pays industrialisés depuis les années 70-80, la présence des PCB et DDT dans tous les compartiments de l'environnement marin a été mise en évidence à l'échelle planétaire. On estime la production mondiale des PCB à 1.3 millions de tonnes entre 1930 et 1993, avec un pic de production dans les années 1970 (Breivik et al. 2007). La production mondiale totale de DDT a été quant à elle estimée à 2 millions de tonnes (Fu et al. 2003). Par ailleurs, les sources continues de ces contaminants dans l'environnement demeurent, en particulier dans les régions en voie de développement telles que l'Afrique, l'Inde et la Chine (usages encore autorisés notamment dans la lutte contre la malaria, élimination des stocks, recyclage des matériaux électriques et électroniques) (Breivik et al. 2011 ; Ali et al. 2014 ; Bouwman et al. 2015).

Par ailleurs, les PCB font partie des réglementations Européennes relatives aux denrées alimentaires. Ainsi, à l'instar des dioxines et furannes, des facteurs d'équivalents toxiques (TEF) leur ont été attribués par l'Organisation Mondiale de la Santé (Van den Berg et al. 2006).

8.1.1. Rappel des objectifs

L'objectif de ce travail était de déterminer les niveaux et les profils de contamination en PCB (polychlorobiphényles) et DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane) chez le thon germon prélevé dans le Sud-ouest de l'océan Indien. Il s'agissait également d'évaluer la possibilité d'utiliser les contaminants organiques ciblés en tant que traceurs chimiques des populations de thon germon. La contamination chimique des thons a été caractérisée au niveau individuel et mise en relation avec les facteurs biologiques (paramètres biométriques et sexe). Une première étude du lien entre contamination chimique et taux de lipides totaux acquis sous la responsabilité du partenaire IRD Seychelles (zone B) a également été réalisée.

8.1.2. Echantillonnage et méthodes analytiques

8.1.2.1. Caractéristiques biologiques des poissons analysés pour les contaminants organiques

Les poissons sélectionnés pour les analyses des contaminants organiques ont été prélevés en été austral (novembre - décembre 2013, saison 1) sur les zones A (La Réunion - LR) et C (Afrique du Sud (zone C) - SA). Les zones B et D n'ont pu être étudiées en raison d'une absence d'échantillons en saison 1 (zone B) et d'une absence d'échantillons en zone D. Ainsi, au total 89 muscles de poissons prélevés individuellement ont été analysés (n = 44 en zone C et n = 45 en zone A, Tableau 33). L'ensemble de ces poissons a également été analysé pour les teneurs en contaminants métalliques.

Tableau 33. Echantillons analysés pour les traceurs organiques.

Mesures/traceurs	Saison	Zone	Nombre d'individus échantillonnés par saison et par zone	Tissu échantillonné	Nombre total de mesures/analyses
<i>Traceurs organiques PCB et OCP</i>	1	A, C	44, 45	Muscle (N°5)	89

Les poissons de la zone A comprenaient des mâles et des femelles adultes (MA et FA). Les mâles présentaient des longueurs significativement plus élevées que celles des femelles. Ceci concorde avec les connaissances sur la croissance du thon germon chez qui les mâles grandissent plus vite que les femelles (Karazulak et al. 2011). Les individus des deux sexes présentaient donc vraisemblablement le même âge. Les individus femelles montraient des RGS (Rapport Gonado-Somatique) et RHS (Rapport Hépat-Somatique) plus élevés que les mâles (voir paragraphe 7).

Les poissons de la zone C comprenaient des individus immatures mâles et femelles (MI et FI) et des adultes mâles et femelles (MA et FA). Les individus immatures présentaient des longueurs et des masses plus faibles que les adultes, et des indices de condition plus élevés. Pour un stade de maturité donné, aucune différence significative entre sexes n'est identifiée pour ces paramètres. Les femelles adultes présentaient des RGS significativement plus élevés que les femelles immatures, mais ces rapports restent faibles ($0,24 \pm 0,14$ pour les FA), indiquant dans l'ensemble des individus sexuellement peu matures.

La comparaison des paramètres biométriques des deux zones fait apparaître que les individus prélevés en Zone A présentaient des longueurs et des RGS plus élevés que ceux de la zone C, chez les mâles comme chez les femelles (Figure 64).

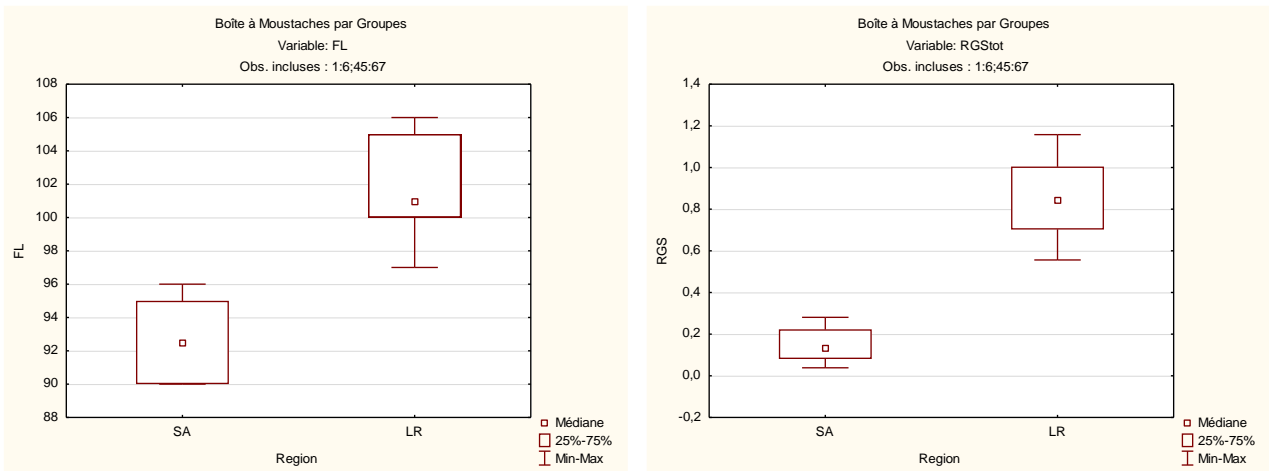
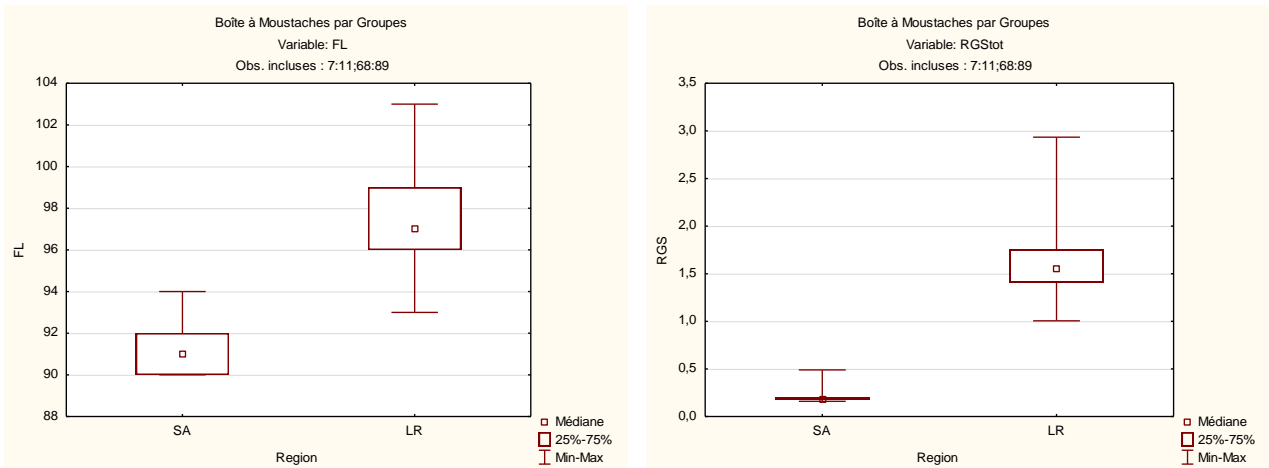
MÂLES**FEMELLES**

Figure 64. Longueur à la fourche (FL en cm) et RGS (%) chez les individus adultes prélevés en zone C (SA) et en zone A (LR) en novembre / décembre 2013

8.1.2.2. Analyses

Les échantillons de muscle lyophilisés ont été préparés selon des méthodes mises au point et validées en interne. Brièvement, environ 5 grammes d'échantillon lyophilisé sont extraits par le dichlorométhane à haute température et sous pression au moyen d'un extracteur automatique (ASE - Accelerated Solvent Extraction). Les extraits subissent ensuite une série de purifications et de fractionnements : i) chromatographie d'exclusion stérique pour l'élimination des macromolécules telles que les lipides, ii) chromatographie d'adsorption (colonne ouverte de silice/alumine) pour séparer les molécules d'intérêt selon leur polarité, puis iii) chromatographie liquide sur deux colonnes en série visant à séparer les molécules d'intérêt selon leur nombre de cycles aromatiques et leur planarité.

L'analyse quantitative est réalisée par dilution isotopique au moyen d'un CPG-SMHR (Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse à Haute Résolution). Cette technique permet d'atteindre des niveaux de quantification bas et assure

une grande sélectivité, critères nécessaires à l'identification et la quantification des composés recherchés.

Les molécules ciblées incluaient 18 congénères de PCB comprenant 2 à 7 atomes de chlore et 5 pesticides organochlorés (OCP). Parmi les PCB, les 6 PCB indicateurs (PCBi, CB-28; -52; -101; -138; -153; -180) et les 12 PCB dioxin-like (DL-PCB, CB-77; -81; -105; -114; -118; -123; -126; -156; -157; -167; -169; -189) ont été analysés. Les OCP incluaient les composés présents dans les mélanges techniques et leurs métabolites (p,p'-DDT, o,p'-DDT, o,p'-DDD, p,p'-DDD, p,p'-DDE). Dans la suite du document, les PCBi correspondent à la somme des 6 congénères, les DL-PCB à la somme des 12 congénères, les DDT à la somme des composés identifiés.

Les résultats présentés dans ce rapport sont exprimés en unités de poids sec (ps). La conversion en unité de poids humide (ph) est également présentée pour les comparaisons avec les données de la littérature. Elle est calculée en prenant un pourcentage d'humidité moyen de 70% déterminé sur l'ensemble des échantillons à partir de la différence entre les masses de tissus avant (humides) et après (secs) la lyophilisation.

8.1.3. Assurance Qualité des résultats

Différentes procédures sont mises en place pour assurer et contrôler la qualité des données. Des étalons marqués ajoutés au début du protocole analytique permettent de contrôler les rendements de récupération des composés recherchés (compris entre 61 ± 20 % pour le CB-81 et 93 ± 11 % pour le CB-169, n = 89).

Des blancs analytiques sont analysés au cours de chaque série d'échantillons afin de vérifier les contaminations inhérentes aux manipulations et de corriger les résultats le cas échéant. Les valeurs calculées dans les blancs sont comprises entre 0,072 pg/g ps (CB-169) et 7,26 pg/g ps (CB-52). Les concentrations calculées dans les échantillons sont corrigées par rapport au blanc moyen calculé sur toutes les séries.

Les limites de quantification sont comprises entre 0,64 pg/g ps (CB-169) et 2,83 pg/g ps (CB-123) pour les PCB-DL et entre 1,11 pg/g ps (CB-180) et 5,72 pg/g ps (CB 28) pour les PCB indicateurs. Pour les OCP, elles se situent entre 3,45 pg/g ps (p,p'-DDD) et 10,62 pg/g ps (p,p'-DDT).

Un matériau certifié est analysé à chaque série (CARP 2, National Research Council of Canada); il permet de contrôler la justesse des résultats et de suivre les déviations par rapport aux valeurs ciblées grâce à une carte de contrôle. La précision évaluée sur l'analyse de répliqués de ce matériau certifié est comprises entre 1,9% (CB-52) et 6,8% (CB-28) (n = 8).

Le LBCO participe par ailleurs à des essais inter-laboratoires dédiés au milieu marin (Quasimeme - Quality Assurance of Information for Marine Environmental Monitoring in Europe) et obtient des résultats satisfaisants (c'est à dire des Z scores compris entre -2 et +2). En 2014, les Z-scores obtenus pour les PCB et les OCP étaient compris entre -0,60 (p,p'-DDT) et 1,36 (CB-52), pour des valeurs ciblées comprises entre 0,015 et 3,65 ng/g ph.

8.1.4. Niveaux de contamination

8.1.4.1. Contamination par les PCB

Parmi les 12 DL-PCB et les 6 PCB_i recherchés, seul le CB-81 n'a pas été identifié dans les échantillons (< limite de quantification). Les PCB_i ont été détectés dans 76% (CB-28) à 100% (CB-138, -153, -180) des échantillons, alors que les DL-PCB présentaient des fréquences de détection comprises entre 89% et 100%.

Le Tableau 34 présente les concentrations (moyenne ± écart-type / minimum-maximum) en PCB (PCB_i et DL-PCB) dans les poissons prélevés dans les zones A et C au cours de la saison 1 (novembre-décembre 2013).

En zone A, les niveaux de contamination moyens en PCB sont compris entre 0,37 ng/g ps chez les femelles adultes (FA) et 0,93 ng/g ps chez les mâles adultes (MA), et entre 0,07 ng/g ps (FA) et 0,16 ng/g ps (MA) pour les PCB_i et les DL-PCB respectivement. Ces derniers présentent ainsi des niveaux de contamination en moyenne 6 fois inférieurs à ceux des PCB_i.

Les femelles présentent des niveaux de contamination en PCB_i et DL-PCB significativement plus faibles ($p < 0,05$) que ceux des mâles. Ainsi, les femelles présentant des tailles inférieures à celles des mâles, on observe pour les deux sexes une relation significative entre niveau de contamination et taille (FL) qui n'est pas observée lorsque chacun des sexes est considéré séparément (effet sexe plus important que effet taille). Chez les poissons, des niveaux plus faibles de contamination sont généralement observés chez les femelles en lien avec une décontamination par la ponte.

Par ailleurs, on observe une plus grande variabilité des niveaux de contamination chez les femelles que chez les mâles. Cette plus grande variabilité pourrait être liée à un stade reproducteur variable chez les femelles échantillonnées. Dans l'océan Pacifique Nord, le thon germon, qui pond principalement au printemps et en été (donc octobre-mars dans l'hémisphère sud ; Farley et al. 2014), présente des pontes fractionnées rapprochées (de l'ordre de 1.7 jours) (Chen et al. 2010). Ceci pourrait expliquer la variabilité individuelle importante des niveaux de contamination observée chez les femelles.

En zone C, les concentrations moyennes varient entre 1.82 ng/g ps chez les femelles immatures et 2.38 ng/g ps chez les femelles adultes pour les PCB_i. Les DL-PCB présentent des niveaux de contamination en moyenne 4 fois inférieurs à ceux des PCB_i, entre 0,43 ng/g ps (FI) et 0,57 ng/g ps (FA). On n'observe pas de relation significative entre niveau de contamination en PCB et taille des individus : les individus classés comme adultes, bien que plus grands (et donc plus âgés), présentent des niveaux de contamination similaires à ceux des poissons immatures. On n'observe pas non plus de différences de niveaux de contamination entre sexes.

Tableau 34. Concentrations (moyenne \pm écart-type / min-max) en ng/g poids sec pour la somme des 6 PCB indicateurs (PCBi) et la somme des 12 PCB dioxin-like (DL-PCB) pour les différentes classes de poisson prélevés en zones A et C. MA = mâles adultes, FA = femelles adultes, MI = mâles immatures, FI = femelles immatures.

Zone A		MA (n = 23)		FA (n = 22)					
PCBi		0,932 \pm 0,386 / 0,252-1,728		0,366 \pm 0,389 / 0,068-1,514					
DL-PCB		0,156 \pm 0,061 / 0,045-0,265		0,067 \pm 0,076 / 0,017-0,290					
Zone C		MI (n = 16)		MA (n = 6)		FI (n = 17)		FA (n = 5)	
PCBi		1,883 \pm 0,701 / 1,068-4,172		1,893 \pm 0,661 / 0,858-2,530		1,819 \pm 0,796 / 0,709-4,226		2,385 \pm 0,670 / 1,701-3,440	
DL-PCB		0,448 \pm 0,186 / 0,252-1,063		0,472 \pm 0,184 / 0,183-0,704		0,434 \pm 0,207 / 0,179-1,105		0,567 \pm 0,165 / 0,414-0,813	

Ces niveaux sont pour les deux zones très inférieurs à ceux rapportés chez différentes espèces de thons provenant de différentes régions du globe, en particulier chez les espèces provenant de l'hémisphère nord. Les données disponibles dans la littérature sur la contamination des thons par les PCB et DDT concernent essentiellement le thon rouge (*Thunnus thynnus*), en particulier dans l'hémisphère nord.

Quelques données se rapportant à la contamination des thons dans la zone étudiée dans ce projet sont toutefois disponibles. Ainsi, les niveaux déterminés au cours de cette étude au niveau de la zone A sont du même ordre de grandeur que ceux déterminés antérieurement chez des individus mâles de thon jaune (*Thunnus albacares*) prélevés en décembre 2007 au large de La Réunion (zone A) dont les tailles étaient toutefois inférieures (FL 53-78 cm) (Torres et al. 2009). De même, ils sont similaires à ceux déterminés dans le foie de la bonite à ventre rayé (*Katsuwonus pelamis*) prélevée en 1999 au large des Seychelles (zone B) (1,3-26 ng/g pl (poids de lipides) ; Ueno et al. 2003). Les niveaux sont comparables à ceux de zones très peu contaminées, telles qu'en Antarctique ou des concentrations de 0,29 à 1,71 ng/g ph ont été détectés dans des poissons démersaux côtiers (Lana et al. 2014).

Les données sur la contamination du thon germon disponibles dans la littérature sont quant à elles très réduites : Hisamichi et al. (2010) rapportent des concentrations en PCB (13 congénères) de 1,32 \pm 2,10 ng/g ph (0,02-11,61 ng/g ph) dans des individus prélevés au large du Japon, supérieures à celles déterminées dans notre étude (PCBi = 0,38 \pm 0,26 ng/g ph, 0,02-1,27 ng/g ph pour l'ensemble des poissons).

8.1.4.2. Contamination par les DDT

Le Tableau 35 présente les concentrations (moyenne \pm écart-type / minimum-maximum) en OCP dans les poissons prélevés dans les zones A et C au cours de la saison 1 (novembre-décembre 2013). En zone A, les niveaux de contamination moyens en OCP exprimés comme la somme de tous les composés (DDT et leurs métabolites) sont compris entre 1,523 ng/g ps chez les femelles adultes (FA) et 2,370 ng/g ps chez les mâles adultes (MA) qui, comme pour les PCB, sont significativement plus contaminés que les femelles.

En zone C, ces niveaux sont compris entre 6,134 ng/g ps chez les MI et 8,393 ng/g ps chez les FA. Les FA présentent des niveaux de contamination supérieurs à ceux des FI, alors que cette différence n'existe pas chez les mâles. Globalement, les adultes montrent des niveaux de contamination plus élevés que les immatures.

Comme pour les PCB, ces niveaux sont inférieurs à ceux rapportés dans la littérature pour d'autres espèces de thons de l'hémisphère nord. Les thons de la zone A présentent des niveaux de contamination en moyenne 10 fois supérieurs à ceux déterminés chez le thon jaune prélevé dans la même région en décembre 2007 (Torres et al. 2009). Ces niveaux sont du même ordre que ceux des thons germans prélevés en 2003-2007 au large du Japon (Hisamichi et al. 2010). Il sont comparables à ceux déterminés dans le foie de la bonite à ventre rayé (*Katsuwonus pelamis*) prélevée en 1999 au large des Seychelles (zone B) (20-70 ng/g pl ; Ueno et al. 2003). Les concentrations des thons de la zone C sont du même ordre de grandeur que celles déterminées dans le muscle de requins blancs juvéniles prélevés le long des côtes Sud-africaines (7,6-20,1 ng/g ph ; Schlenk et al. 2005).

Tableau 35. Concentrations (moyenne +/- écart-type / min-max) en ng/g poids sec pour les DDT dans les différentes classes de thons germans prélevés en zones A et C. MA = mâles adultes, FA = femelles adultes, MI = mâles immatures, FI = femelles immatures.

Zone A	MA (n = 23)		FA (n = 22)	
<i>p,p'</i> -DDT	0,345 ± 0,276 / 0,047-0,921		0,384 ± 0,494 / 0,027-2,191	
<i>o,p'</i> -DDT	0,094 ± 0,068 / 0,023-0,279		0,081 ± 0,068 / 0,014-0,250	
<i>p,p'</i> -DDE	1,810 ± 1,172 / 0,287-5,393		0,933 ± 0,952 / 0,172-3,998	
<i>o,p'</i> -DDD	0,025 ± 0,018 / 0,004-0,080		0,015 ± 0,014 / 0,003-0,049	
<i>p,p'</i> -DDD	0,099 ± 0,070 / 0,014-0,253		0,109 ± 0,170 / 0,012-0,794	
DDT	2,370 ± 1,438 / 0,575-6,358		1,523 ± 1,672 / 0,267-7,282	
Zone C	MI (n = 16)	MA (n = 6)	FI (n = 17)	FA (n = 5)
<i>p,p'</i> -DDT	1,546 ± 0,610 / 1,011-2,849	1,707 ± 0,805 / 0,646-2,853	1,757 ± 0,635 / 0,575-3,249	1,959 ± 0,543 / 1,401-2,728
<i>o,p'</i> -DDT	0,248 ± 0,101 / 0,149-0,476	0,272 ± 0,097 / 0,153-0,405	0,292 ± 0,095 / 0,100-0,489	0,352 ± 0,110 / 0,212-0,449
<i>p,p'</i> -DDE	3,877 ± 1,370 / 2,227-7,763	4,531 ± 1,939 / 1,739-6,761	4,392 ± 1,630 / 1,507-8,813	5,385 ± 0,824 / 4,753-6,800
<i>o,p'</i> -DDD	0,060 ± 0,027 / 0,031-0,138	0,071 ± 0,033 / 0,020-0,112	0,073 ± 0,028 / 0,027-0,145	0,093 ± 0,021 / 0,062-0,116
<i>p,p'</i> -DDD	0,402 ± 0,167 / 0,195-0,858	0,474 ± 0,234 / 0,118-0,738	0,491 ± 0,201 / 0,157-0,952	0,604 ± 0,104 / 0,442-0,729
DDT	6,134 ± 2,217 / 3,678-12,085	7,056 ± 3,015 / 2,677-10,627	7,005 ± 2,530 / 2,366-13,649	8,393 ± 1,290 / 6,967-10,197

8.1.4.3. Normes sanitaires et environnementales

Les niveaux de contamination en DL-PCB déterminés chez le thon germon du Sud de l'océan Indien sont compris entre 0,002 et 0,274 pg TEQ/g ph. A titre de comparaison, les concentrations en DL-PCB déterminées dans le muscle de la bonite à ventre rayée (*Katsuwonus pelamis*) au large des Seychelles (zone B) en 1999 était de 0,044 pg TEQ/g ph (Ueno et al. 2005). Ces niveaux sont bien inférieurs aux seuils fixés par la Commission Européenne pour les DL-PCB (3 pg/g TEQ poids frais) et pour les PCB_i (75 ng/g poids frais) dans les denrées alimentaires (European Commission 2011) (Figure 65).

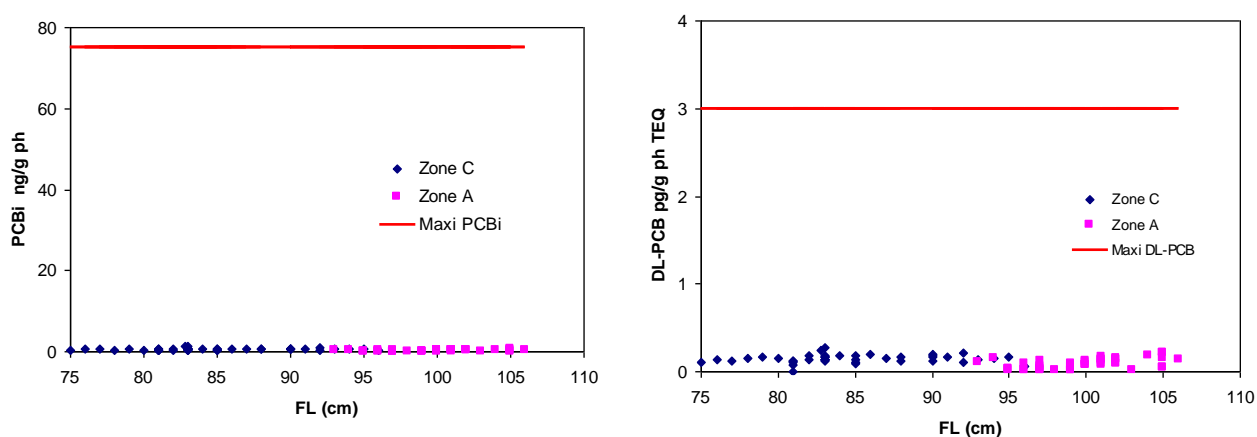


Figure 65. Concentrations en PCB_i (ng/g ph) et DL-PCB (pg TEQ/g ph) comparées aux normes sanitaires Européennes (ligne rouge).

Le Canada a quant à lui mis en place une valeur de 0,79 pg TEQ /g ph pour la protection du consommateur de biote aquatique (Canadian Council of Ministers of the Environment 2001) qui reste toutefois supérieure aux valeurs déterminées chez le thon germon dans notre étude. La valeur fixée pour les DDT est de 14 ng/g ph (Canadian Council of Ministers of the Environment 1999), qui est proche des valeurs maximales déterminée dans le thon germon prélevé en zone C. Les concentrations en p,p'-DDE sont bien inférieures aux seuils fixés par les gouvernements japonais (3000 ng/g ph) et australien (1000 ng/g ph) (Vizzini et al. 2010).

D'un point de vue environnemental, le seuil fixé pour les PCB dans les denrées alimentaires est également celui choisi par l'Union Européenne pour la Norme de Qualité Environnementale dans le biote (poisson). Par ailleurs, la Commission OSPAR a défini des critères d'évaluation de la qualité du milieu -BAC (Background Assessment Concentration) et EAC (Environmental Assessment Criteria)- pour 7 congénères de PCB, compris entre 0,08 et 0,11 ng/g ph par congénère pour les BAC et entre 24 et 1600 ng/g pl par congénère pour les EAC (Webster et al. 2014). Les valeurs moyennes déterminées dans le thon germon du sud de l'océan Indien (0,011-0,140 ng/g ph sur les deux zones) sont proches des BAC ; toutefois, elles sont supérieures à la BAC du CB-153 (0,10 ng/g ph) en zone C (0,22 ng/g ph). Elles ne dépassent pas les EAC.

8.1.4.4. Comparaison des niveaux de contamination sur les deux zones A et B

Les différences pouvant être observées dans les niveaux de contamination des poissons peuvent être liées à plusieurs facteurs tels que les sources de contamination, la biologie et à la physiologie des poissons ou encore leur régime alimentaire.

Bien que les poissons de la zone C soient plus petits (et donc moins âgés) que ceux de la zone A, ils montrent des niveaux de contamination en PCBi significativement ($p < 0,05$) supérieurs à ceux des poissons de la zone A (Figure 66).

Les mêmes observations sont faites pour les OCP (Figure 67). Les niveaux de contamination en OCP sont fortement corrélés (positivement, $p < 0,05$) aux niveaux de contamination en PCBi et DL-PCB, suggérant des sources conjointes et un comportement similaire de ces molécules en fonction de la biologie des poissons.

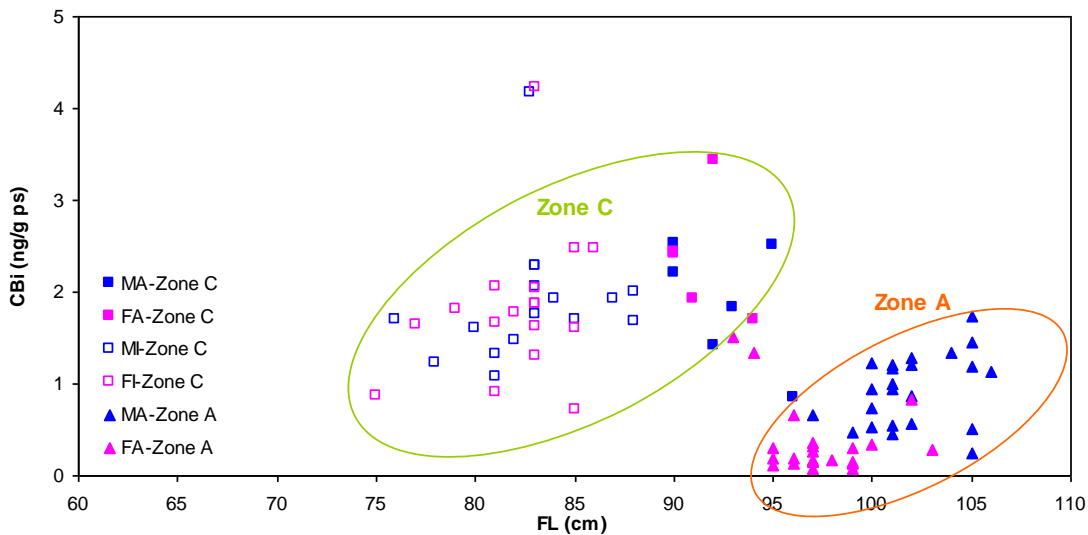


Figure 66. Niveaux de contamination en PCBi (ng/g ps) chez le thon germon prélevé en zones A et C au cours de la saison 1.

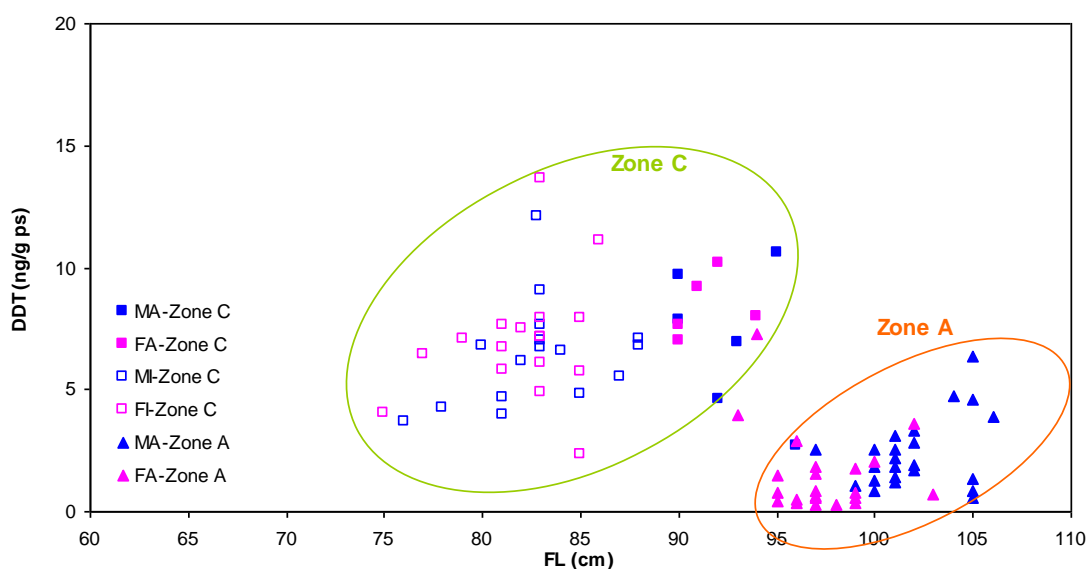


Figure 67. Niveaux de contamination en DDT (ng/g ps) chez le thon germon prélevé en zones A et C au cours de la saison 1.

Sur les deux zones, les niveaux de contamination en DDT sont 3 à 4 fois plus élevés que ceux des PCBi (Figure 68), ce qui suggère une origine de contamination marquée par un usage de pesticides (DDT) plutôt que par des usages industriels (PCB) (voir aussi discussion sur les empreintes). Alors que dans l'hémisphère nord, le DDT a été interdit d'usage depuis les années 1970/1980, son usage persiste en effet en tant qu'insecticide dans certaines régions du globe comme en Asie du Sud et en Afrique (Kalantzi et al. 2001 ; Ali et al. 2014 ; Bouwman et al. 2015).

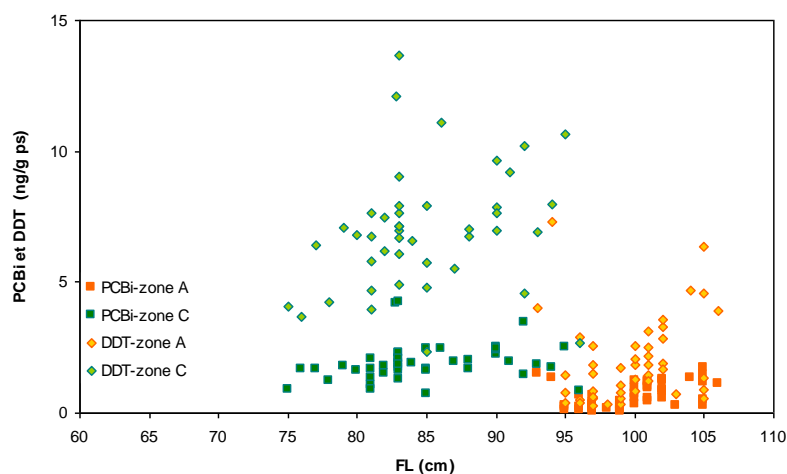


Figure 68. Niveaux de contamination en PCBi et DDT (ng g⁻¹ ps) chez le thon germon prélevé en zones A et C au cours de la saison 1.

8.1.4.5. Influence des taux de lipides totaux

Un des facteurs importants influant sur l'accumulation des contaminants organiques hydrophobes chez un organisme est son taux de lipides. Les niveaux de contamination en PCB et OCP présentent une corrélation significative ($r = 0,69$) avec les taux de lipides totaux (voir paragraphe 7) significativement plus élevés chez les individus de la zone C (Figure 69).

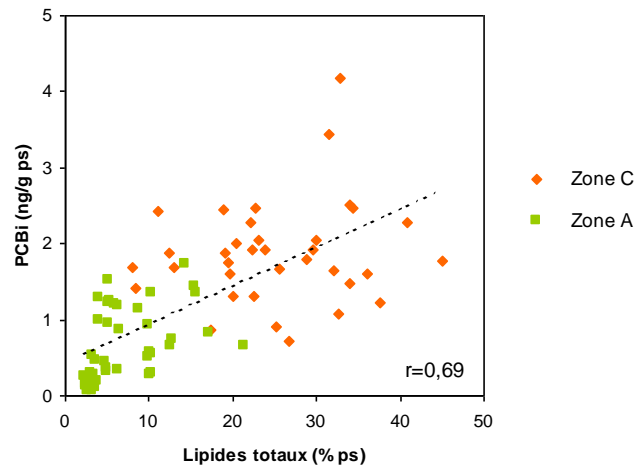


Figure 69. Niveaux de contamination en PCBi (ng/g ps) en fonction des taux de lipides totaux (% ps) chez le thon germon prélevé en zones A et C au cours de la saison 1

Ainsi, si l'on normalise les concentrations en PCB et OCP aux taux de lipides totaux, les niveaux de contamination des thons de la zone A sont statistiquement plus forts que chez les individus de la zone C pour les mâles, et plus faibles pour les femelles (Figure 70 et Figure 71).

En zone A, on observe une variabilité des concentrations plus importante, essentiellement liée aux mâles qui montrent des niveaux de contamination normalisés plus importants ($p < 0,05$) que les femelles. La variabilité plus importante observée pour les niveaux de contamination non normalisés aux lipides chez les femelles de la zone A (niveaux plus forts) est donc expliquée par des taux de lipides totaux plus forts.

En zone C, les concentrations normalisées aux lipides sont plus importantes chez les adultes que chez les immatures ($p < 0,05$) toutefois pour un nombre réduit d'adultes ($n = 6$).

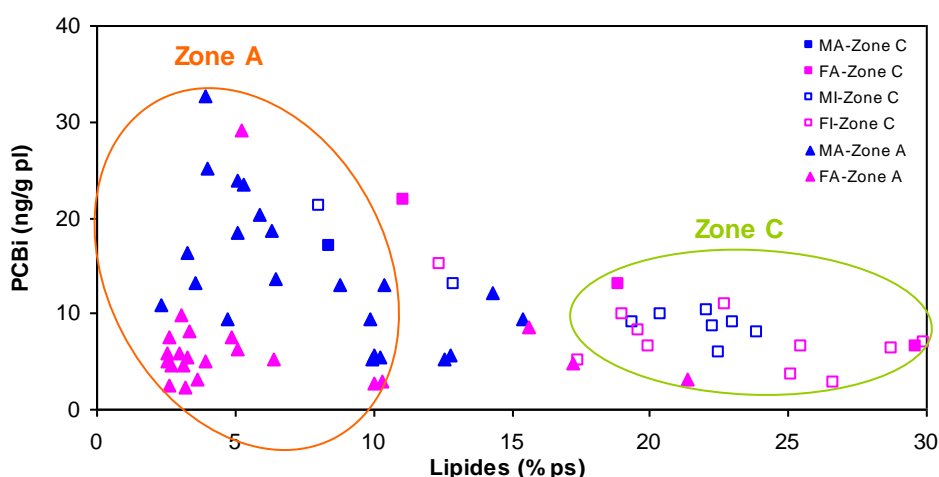


Figure 70. Niveaux de contamination en PCBi normalisés aux taux de lipides (ng/g pl) chez le thon germon prélevé en zones A et C au cours de la saison 1

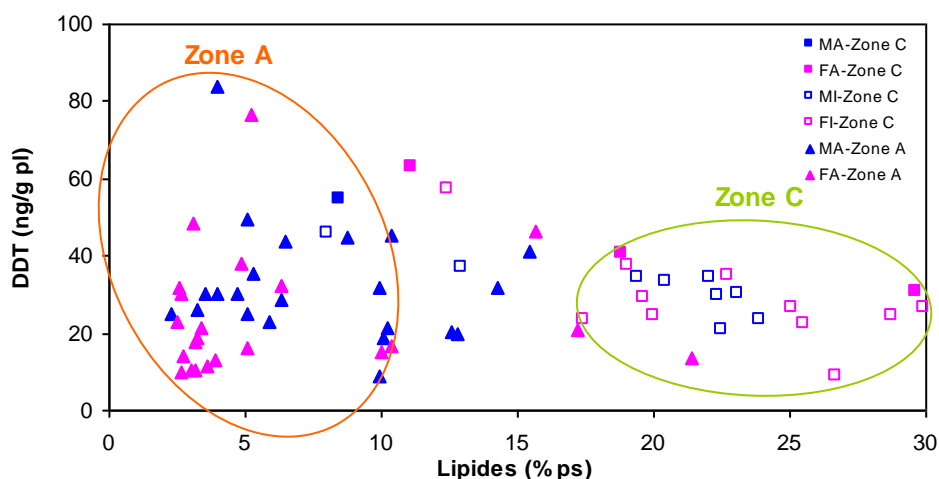


Figure 71. Niveaux de contamination en DDT normalisés aux taux de lipides totaux (ng/g pl) en fonction des taux de lipides totaux chez le thon germon prélevé en zones A et C au cours de la saison 1

8.1.4.6. Profils de contamination en PCB et DDT

L'examen des profils de contamination permet de s'affranchir des différences de niveaux de contamination entre individus et/ou entre zones dues respectivement à des différences de sexes, taille-âge, taux de lipides et de niveaux d'exposition. Ce type de paramètre peut donc apporter des informations pertinentes pour distinguer des groupes d'individus.

Les profils de contamination en PCBi sont dominés par les congénères hexa- et heptachlorés CB-153 > CB-138 > CB-180. Ces 3 congénères représentent en moyenne 82% des PCBi sur l'ensemble des échantillons. Les congénères penta- à hepta-chlorés dominent généralement les profils retrouvés dans les tissus de thons (Corsolini et al. 2007 ; Storelli et al. 2008 ; Ueno et al. 2005) car leurs caractéristiques physico-chimiques leur confèrent des propriétés de persistance et de bioaccumulation plus importantes. Parmi les DL-PCB, le CB-118 (mono-ortho substitué) est majoritaire, comptant en moyenne pour 48% des DL-PCB.

Les profils de contamination en DDT sont dominés de façon récurrente par le p,p'-DDE, qui représente en moyenne 67% de la somme des composés, suivi par le p,p'-DDT (22%). Les profils de contamination en DDT chez les poissons montrent généralement la prédominance du p,p'-DDE (dont la demi-vie est estimée à 7 ans), le second composé le plus abondant étant le p,p'-DDD (Covaci et al. 2006 ; Jürgens et al. 2015). Dans le thon rouge (*Thunnus thynnus*) de Méditerranée, la contribution du p,p'-DDE était de 91,9% suivi du o,p'-DDT, le p,p'-DDT étant détecté à 1,3% et dans seulement dans 17% des échantillons (Storelli et al. 2008). Le profil déterminé dans les thons germes du sud de l'océan Indien est ainsi marqué par une contribution relative assez importante du p,p'-DDT comparativement au p,p'-DDD, ce qui suggère une utilisation récente du DDT dont la demi-vie est estimée à 8 mois. Le pourcentage de p,p'-DDT retrouvé dans les thons germes est plus élevé que celui déterminé dans différents organismes marins prélevés le long des côtes Sud-africaines (13,7% chez le requin blanc, Schlenk et al. 2005 ; 1,2 à 1,8% dans les œufs de pingouin, Bouwman et al. 2005). Des profils de contamination en DDT montrant une abondance p,p'-DDE > p,p'-DDT > p,p'-DDD ont déjà été détectés dans les poissons comme par exemple en Chine en lien avec une utilisation de DDT dans les peintures antifouling (Guo et al. 2008).

En zone A, des différences significatives des profils en PCB sont déterminées entre les individus des différents sexes. Ainsi, les femelles adultes montrent un enrichissement en congénères les moins chlorés alors que les mâles présentent une empreinte plus marquée que les femelles en congénères plus chlorés (PCBi et DL-PCB). Ces différences peuvent s'expliquer par les cinétiques d'élimination et/ou de dégradation des différents congénères : chez la sardine, il a été montré que certains PCB (comprenant 2 à 4 atomes de chlore en position ortho) étaient éliminés moins rapidement chez les mâles que chez les femelles (Antunes et al. 2007). Par ailleurs, les congénères les moins chlorés ont également été identifiés comme prédominants chez les anguilles femelles en phase de pré-ponte (Barni et al. 2014).

Par ailleurs, certaines femelles de la zone A montrent des profils singuliers avec des niveaux en CB-28 et CB-52 élevés, et des contributions relatives plus élevées en ces congénères parfois même supérieures à celle du CB-153. Ce type de profil où dominent les congénères les moins chlorés peut être lié à l'exposition (sources) ou à la physiologie des organismes. Cependant, la présence de ces congénères est généralement plus importante aux plus hautes latitudes, en raison du transport atmosphérique des POP qui privilégie l'évaporation des congénères les plus volatils aux latitudes tropicales et leur redéposition aux hautes latitudes (Wania et Mackay 1996). Ils sont également moins persistants, pouvant ainsi indiquer une exposition plus récente. Dans notre cas, les profils particuliers sont observés principalement chez les femelles, et pourraient être plutôt mis en lien avec une dynamique différente des contaminants selon le sexe au cours de la reproduction.

De même, des différences significatives sont identifiées entre mâles et femelles pour les DDT (en particulier pour le p,p'-DDE qui est plus élevé chez les mâles). Le rapport utilisé pour tracer l'origine du DDT ($\text{o,p'-DDT} / \text{p,p'-DDT}$) est similaire chez les mâles et les femelles, suggérant une même source de contamination pour ces deux groupes. Il est en moyenne de 0,3, proche de celui retrouvé dans le mélange technique (0,2). Le rapport utilisé pour caractériser le degré de dégradation du DDT ($\text{p,p'-DDE} + \text{o,p'-DDD} + \text{p,p'-DDD} / \text{o,p'-DDT} + \text{p,p'-DDT}$) est plus élevé

chez les mâles que chez les femelles, suggérant une activité métabolique plus importante chez les mâles, ou une élimination différente selon le sexe.

En zone C, les femelles adultes montrent un enrichissement en PCB les moins chlorés par rapport aux femelles immatures, ce qui corrobore les observations faites sur les femelles adultes de la zone A. Chez les mâles, aucune différence n'est observée entre les différents groupes. Pour les OCP, on n'identifie pas de différences de profils entre les différents groupes, ni de différence des rapports utilisés comme traceurs de l'origine ou de la dégradation du DDT, indiquant une homogénéité de sources et de degré de dégradation chez les différents individus de la zone.

8.1.4.7. Comparaison des deux zones : identification d'empreintes

Chez les mâles comme chez les femelles, des différences de profils en PCB sont observées entre les poissons des deux zones (Figure 72). Ainsi, les individus de la zone A des deux sexes se caractérisent par un profil enrichi en congénères plus chlorés à 6 et 7 atomes de chlore (CB-167, -156, -157, -169, -189, -180) qui possèdent un log Kow (indicateur de leur hydrophobicité) supérieur à 7. Cet enrichissement peut s'expliquer en partie par le fait que les individus de la zone A sont plus âgés que ceux de la zone C, et ont donc accumulé les congénères les plus persistants et résistants à la biotransformation et à l'élimination (Fernandez et al. 2004). Ces différences peuvent aussi s'expliquer par des profils d'exposition différents (proies et milieu environnant) en lien avec le fractionnement latitudinal des POP (congénères les moins chlorés plus abondants aux hautes latitudes), ou à des sources de contamination différentes.

Les profils en DDT déterminés chez les mâles adultes de la zone A montrent une contribution plus importante du p,p'-DDE que chez ceux de la zone C, alors que ceci n'est pas observé chez les femelles. De même, le rapport $(p,p'\text{-DDE} + o,p'\text{-DDD} + p,p'\text{-DDD}) / (o,p'\text{-DDT} + p,p'\text{-DDT})$ est plus élevé chez les mâles de la zone A ($5,5 \pm 2,7$) que chez les individus de la zone C ($2,5 \pm 0,4$) : ceci peut-être lié à un métabolisme plus important chez les mâles adultes que chez les immatures. Ceci n'est toutefois pas observé chez les femelles. Le rapport $o,p'\text{-DDT} / p,p'\text{-DDT}$ montre des valeurs significativement plus élevées chez les poissons des deux sexes de la zone A ($0,3 \pm 0,1$) que chez ceux de la zone C ($0,2 \pm 0,02$), pouvant suggérer une source de contamination distincte.

Le rapport DDT / PCB peut également être utilisé pour distinguer l'influence des sources d'origine agricole (pesticides - DDT) de celles d'origine industrielle (PCB). Dans les deux zones, ce rapport est de $3,3 \pm 1,4$ dans la zone A et de $3,7 \pm 0,8$ dans la zone C, indiquant une contamination dominée par les usages agricoles. Il n'existe pas de différence significative de ce rapport entre les deux zones, ce qui indique que cette observation s'applique sur une assez large échelle (la région échantillonnée) et que l'on ne distingue pas d'influence locale en considérant ce paramètre. Cette contamination par le DDT pourrait avoir comme origine l'utilisation et la production de ce composé en Afrique de l'Est et dans les pays limitrophes du Nord de l'océan Indien (Bouwman et al. 2015). Ces résultats contrastent avec les observations faites sur les œufs de pingouins d'Afrique du Sud (zone C) dans lesquels le rapport PCB / DDT était de l'ordre de 1,3 à 1,7 (Bouwman et al. 2015).

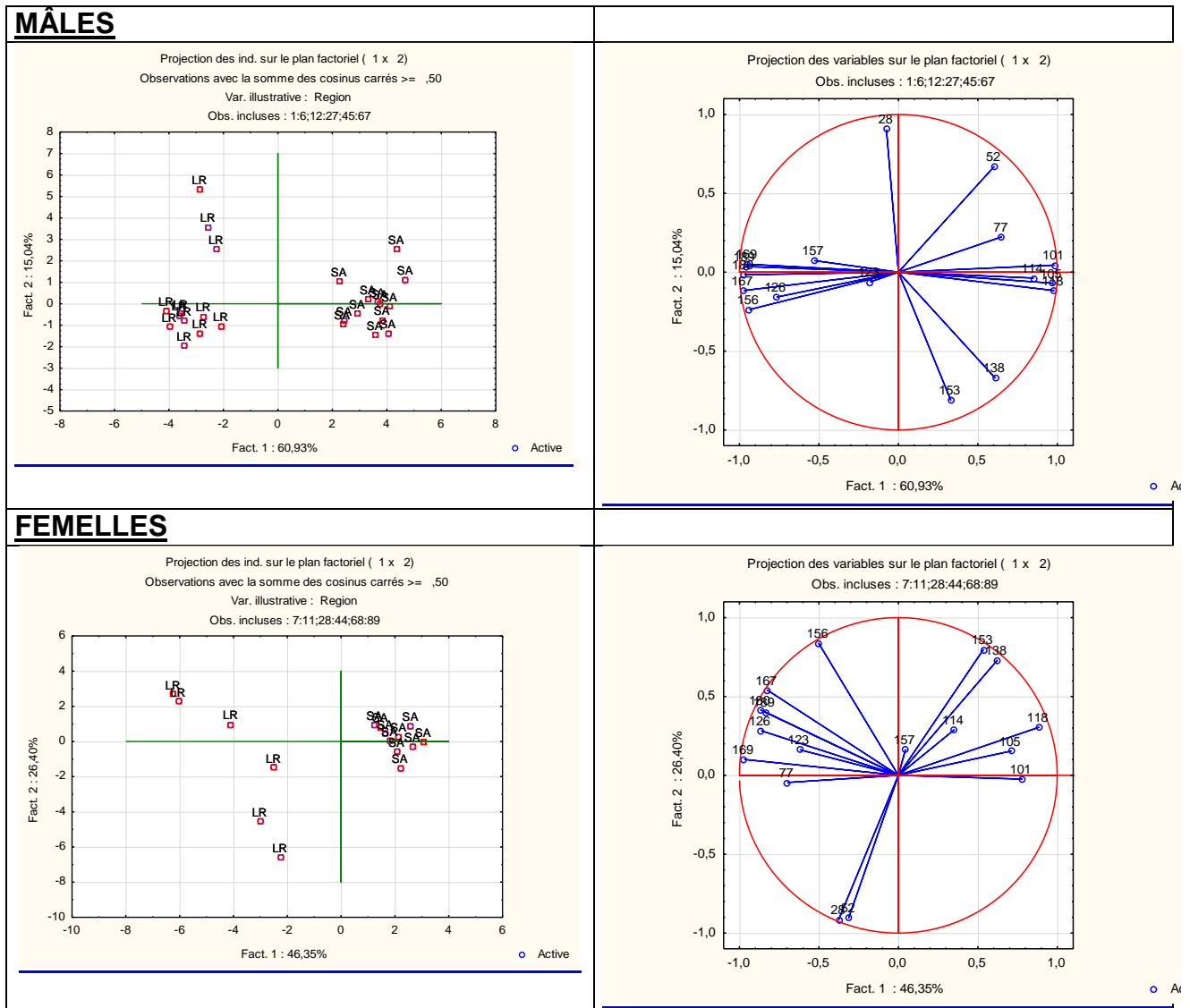


Figure 72. Analyse en composantes principales des profils de contamination en PCB chez les mâles et les femelles de la zone A (LR) et de la zone C (SA).

8.1.5. Conclusion

L'étude de la contamination des thons germon de la partie sud de l'océan Indien, combinée à un premier examen des lipides totaux chez les mêmes individus (voir paragraphe 7. Action 4), a permis de mettre en évidence des différences de niveaux et de profils de contamination entre les deux zones étudiées (La Réunion (zone A) et l'Afrique du Sud (zone C)). Ainsi, les individus issus de la zone A, bien que plus âgés, montrent des niveaux de contamination inférieurs à ceux de la zone C. Ce résultat est en partie expliqué par leurs taux de lipides totaux plus faibles.

Globalement, les poissons prélevés dans la zone C montrent une plus grande homogénéité de leurs niveaux et profils de contamination que ceux de la zone A. L'âge plus important de ces derniers pourrait expliquer cette plus grande variabilité. En zone A, des différences ont également été mises en évidence entre sexes. La plus grande variabilité des niveaux et profils

de contamination observées, en particulier chez les femelles de la zone A, pourraient être liées à des différences de leur état physiologique vis à vis de la reproduction.

Les thons germon étudiés montrent des niveaux de contamination faibles par rapport aux données de la littérature chez différentes espèces de thon au niveau mondial. Ces niveaux sont bien en deçà des normes sanitaires fixées pour les PCB dans les denrées alimentaires. Cette étude fait apparaître une contamination liée aux pesticides (insecticides - DDT) plus importante que celle liée aux apports industriels sur les deux zones étudiées.

L'identification de ces contaminants dans tous les échantillons analysés confirme la contamination de ces prédateurs supérieurs dans des zones éloignées des sources principales - historiques ou contemporaines - de ces contaminants et souligne la dispersion de la contamination à un niveau global.

L'ensemble de ces résultats pourra être interprété de façon plus intégrée dans un second temps avec l'examen détaillé des paramètres lipidiques (lipides totaux et classes de lipides) et trophiques (isotopes stables, contenus stomacaux) des poissons.

8.2. Niveaux et profils de contamination en éléments traces métalliques (ETM)

Les éléments traces métalliques (ETM) sont présents sur Terre à l'état naturel et sont depuis très longtemps exploités et utilisés par l'Homme pour leurs diverses propriétés (e.g. résistance mécanique, conductivité électrique et thermique, propriétés biocides, etc.). Cependant, le début de l'ère industrielle (XIX^{ème} siècle) a entraîné une utilisation croissante des ETM par les activités humaines, favorisant ainsi une augmentation des concentrations naturellement retrouvées dans l'environnement pour de nombreux éléments. De nos jours, les ETM retrouvés dans l'environnement sont ainsi émis à partir de sources naturelles (e.g. volcanisme) et anthropiques (sources industrielles, urbaines, agricoles). Ils atteignent les eaux marines par voie fluviale ou par déposition atmosphérique, l'atmosphère restant un vecteur principal pour nombre d'entre eux (e.g. le mercure) et permettant leur transport dans des zones parfois très éloignées des sources d'émission. Par ailleurs, certains ETM sont connus pour jouer un rôle biologique fondamental car impliqués dans des processus biochimiques (nous parlerons ici d'éléments « essentiels », appelés aussi oligo-éléments) ; d'autres n'ont aucun rôle biologique reconnu (éléments « non essentiels ») et présentent de ce fait un risque de toxicité non négligeable pour les organismes vivants.

Les ETM ou contaminants métalliques qui ont été privilégiés dans cette étude sont le mercure (Hg), le cadmium (Cd), le plomb (Pb), le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le nickel (Ni) et le chrome (Cr). Ces éléments sont effectivement fréquemment retenus dans les textes réglementaires visant la protection de l'environnement marin (e.g. OSPAR, DCE) ou la santé humaine (i.e. risque sanitaire lié à la consommation de certains produits de la mer contaminés). Par ailleurs, ces ETM présentent des caractéristiques différentes en termes i) de voies / sources principales de contamination (atmosphère, rejets directs en eaux estuariennes / sources industrielles, agricoles, urbaines) ; ii) de rôle biologique potentiel ; et iii) de bioaccumulation avérée (ou non) dans les organismes et les réseaux trophiques. Ainsi le Cd, le Pb et le Hg sont considérés

comme des contaminants prioritaires pour la surveillance : aucun rôle biologique n'est reconnu pour ces contaminants chez les organismes supérieurs tels que les poissons. De plus, la bioaccumulation et la bioamplification du Hg et de sa forme organique en particulier (methyl-Hg, très toxique) dans les réseaux trophiques sont largement documentées (Boening 2000 ; Gray 2002). Le Cu, le Zn, le Ni et le Cr sont quant à eux considérés comme des éléments ayant un rôle biologique (impliqués dans des enzymes pour la plupart), mais présentant néanmoins un optimum d'action dans une certaine fenêtre de concentrations, et devenant ainsi déficients ou toxiques à des concentrations faibles ou élevées.

Les concentrations en ETM (qu'ils soient essentiels ou non essentiels) mesurées dans les organismes vivants sont en fait le résultat net de ce qui est entré dans l'organisme et/ou dans le tissu analysé, moins ce qui a été éliminé via les processus de régulation mis en place chez ces organismes au cours de l'évolution – pour contrecarrer par exemple la toxicité de certains ETM. L'accumulation d'un métal par un organisme et/ou son transfert (voire sa bioamplification) dans les réseaux trophiques dépend enfin de sa spéciation ou forme physico-chimique (et donc de sa biodisponibilité) dans les environnements abiotique (e.g. habitat) et biotique (e.g. nourriture) de l'organisme (Neff 2002 ; Rainbow 2002).

Chez les organismes supérieurs, la voie trophique est la principale voie d'exposition et d'incorporation pour de nombreux ETM (Wang 2002). En plus du métabolisme (processus de régulation, accumulation/concentration avec l'âge vs. dilution via la croissance en taille, etc.), l'écologie trophique d'un individu ou d'une espèce va donc largement conditionner les concentrations en ETM mesurées dans les tissus de prédateurs supérieurs tels que le thon germon. Cela intègre aussi bien la zone d'alimentation que le niveau trophique du prédateur, ou encore le type de proies ingérées par le prédateur (e.g. Bustamante et al. 1998 ; Lahaye et al. 2005 ; Choy et al. 2009 ; Ruelas-Inzunza et al. 2014 ; Teffer et al. 2014). Certains types de proies accumulent effectivement davantage certains ETM que d'autres ; ceci dépend des capacités de régulation des différentes espèces proies, etc. L'importance de la voie trophique dans l'exposition des prédateurs aux ETM a par ailleurs incité certains auteurs à étudier leur potentiel en tant que « traceurs écologiques », sur la base du postulat « je suis ce que je mange ». Les teneurs mesurées peuvent en effet refléter, a priori, la position trophique des consommateurs étudiés, et/ou leurs habitudes et préférences alimentaires, et/ou encore leur zone d'alimentation (e.g. Thompson et al. 1998 ; Ochoa-Acuña et al. 2002 ; Lahaye et al. 2005).

Enfin, chez les prédateurs supérieurs tels que le thon, et en association avec d'autres paramètres (e.g. traceurs trophiques), les ETM sont également susceptibles de pouvoir être utilisés comme traceurs de la structure des populations et/ou servir à définir des unités de gestion. La combinaison des informations provenant de différents types de traceurs écologiques peut effectivement permettre de distinguer une utilisation différente des ressources et/ou des habitats par les différents stocks d'une même espèce, à des échelles de temps qui sont a priori plus pertinentes pour la gestion que la génétique, notamment. Une application récente au cas du dauphin commun en Atlantique Nord-est en est un exemple. En confrontant à une échelle interrégionale les résultats issus de l'analyse des contenus stomacaux, de l'analyse de différents traceurs écologiques (métaux, isotopes, lipides) et les résultats issus de l'analyse génétique, trois unités de gestion possibles pour cette espèce de petit cétacé en Atlantique Nord-est ont ainsi été identifiées (Caurant et al. 2009).

8.2.1. Rappel des objectifs

Les objectifs de ce travail étaient i) de déterminer les niveaux et profils de contamination en certains éléments traces métalliques (ETM) chez des individus de thon germon capturés au Sud-ouest de l’océan Indien (La Réunion (zone A), Seychelles (zone B)) et en Afrique du Sud (zone C) ; ii) d’étudier la possibilité d’utiliser les ETM analysés comme traceurs chimiques des populations de thon germon dans ces zones. La contamination chimique a été caractérisée au niveau individuel. Pour l’interprétation préliminaire des données obtenues et faisant l’objet de ce rapport, une mise en relation avec les paramètres biologiques relevés lors du prélèvement des individus (biométrie, sexe) a été réalisée.

8.2.2. Echantillonnage et méthodes analytiques

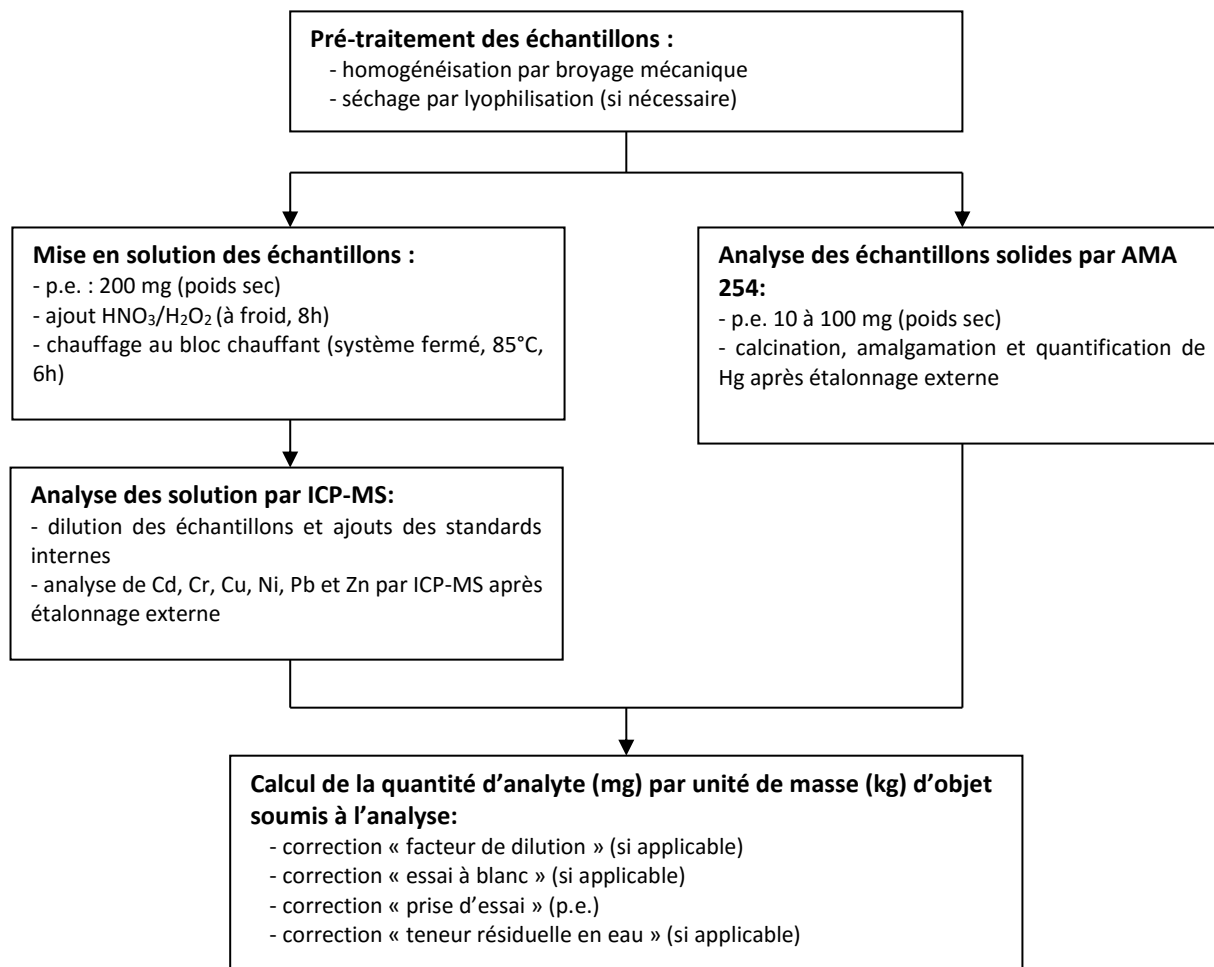
Au total, le LBCM a reçu 451 échantillons de muscle de thon germon mâles et femelles capturés à différentes saisons et dans différentes zones du Sud-ouest de l’océan Indien (La Réunion (zone A), Seychelles (zone B)) et en Afrique du Sud (zone C), pour analyse des concentrations totales en Cu, Zn, Ni, Cr (éléments essentiels) et Hg, Cd et Pb (éléments non essentiels) (Tableau 36).

Tableau 36. Échantillons reçus pour analyses de leurs teneurs en éléments traces métalliques (ETM).

Mesures/traceurs	Saison	Zone	Tissu échantillonné	Nombre total d'échantillons reçus et analysés
<i>Traceurs inorganiques (ETM)</i>	1, 2	A, B, C	Muscle (N°4)	451

8.2.2.1. Procédures et méthodes analytiques

Les traceurs chimiques inorganiques recherchés au cours de cette étude comprennent les éléments suivants : Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn et Hg. Les protocoles analytiques utilisés sont présentés de manière schématique ci-dessous :



Les concentrations en Hg total sont déterminées par spectrométrie d'absorption atomique avec une amalgamation par un piège d'or (AMA-254, Altec Ltd.) suivant une méthode interne adaptée de la méthode décrite par Cossa et al. (2002). La procédure se compose des séquences suivantes : (1) la combustion à haute température de l'échantillon (550°C) qui le réduit en cendre et volatilise le mercure qu'il contient, (2) l'amalgamation du mercure sur un piège d'or et (3) la mesure par spectrophotométrie d'absorption atomique du mercure collecté après le chauffage du piège à 800°C. La limite de quantification est de 0,02 mg/kg poids (ps) pour le Hg.

Les teneurs totales en Cd, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn sont déterminées suivant une adaptation de la méthode interne « Dosage des métaux dans la matière vivante par ICP-MS ». Elle repose sur une quantification des éléments ciblés par spectrométrie de masse couplée à un plasma induit (ICP-MS, X series ou iCAP Q – Thermo Fisher Scientific) après une étape de solubilisation des échantillons par voie humide et à chaud au moyen d'un mélange d'acide nitrique à 65% (HNO₃) et de peroxyde d'hydrogène à 30% (H₂O₂). Les limites de quantification sont de 0,05 mg/kg poids (ps) pour le Cd, 0,03 mg/kg ps pour le Cr, 0,25 mg/kg ps pour le Cu, 0,03 mg/kg ps pour le Ni, 0,05 mg/kg ps pour le Pb et 2,50 mg/kg ps pour le Zn.

8.2.2.2. Assurance qualité des résultats

Les pratiques du laboratoire contribuent à assurer la qualité des résultats. Elles consistent à utiliser des méthodes d'essais suffisamment caractérisées, à documenter ses modes opératoires, à utiliser des équipements étalonnés et contrôlés et à conserver des enregistrements de la réalisation de ses activités.

Ces pratiques sont complétées par des actions de maîtrise de la qualité afin de surveiller la validité des essais entrepris. Par exemple le laboratoire intercale systématiquement des matériaux de référence certifiés au cours des séries d'analyse (IAEA 407 et DOLT-3 pour les métaux par ICP-MS et IAEA-142 et 407 pour Hg par AMA-254). Ces contrôles internes permettent d'une part de s'assurer du bon fonctionnement des appareillages, et d'autre part du bon déroulement des essais. Les résultats de ces contrôles internes se sont tous montrés conformes aux performances attendues.

Le laboratoire participe périodiquement à des programmes de comparaisons entre laboratoires ou à des essais d'aptitude (Circuits « Quality Assurance of Information for Marine Environmental Monitoring in Europe » et « International Atomic Energy Agency-Marine Environmental Studies Laboratory ») afin d'évaluer sa capacité à mettre en œuvre les méthodes d'essai relevant de son domaine d'activité. Les Z-scores du laboratoire au cours de la période concernée par les travaux GERMON se sont avérés pleinement satisfaisants.

8.2.2.3. Traitement statistique des données

Pour l'étude de la contamination chimique et le traitement des données de concentrations en ETM sur les thons germon analysés et faisant l'objet de ce rapport, 430 individus (sur les 451 reçus et analysés) ont été retenus. Il s'agit des individus pour lesquels toutes les données biométriques (taille, sexe, rapport gonado-somatique) et en ETM ciblés étaient disponibles au 15/04/2015, et pour lesquels aucune valeur aberrante n'a par ailleurs été détectée. Cela fut le cas de 5 individus (sur 451), considérés comme « outliers » et ainsi retirés du traitement statistique. Pour certains ETM (notamment Ni ou Pb), ces individus présentaient effectivement des valeurs d'un ordre de grandeur plus de cent fois supérieur à celui des autres échantillons. Il est à noter pour la suite que le même code couleur sera systématiquement utilisé pour la présentation graphique des données. Les individus provenant de La Réunion (zone A) apparaîtront en vert, ceux des Seychelles (zone B) en bleu et ceux d'Afrique du Sud (zone C) en rouge. Les femelles seront également systématiquement représentées dans une nuance plus claire que celle des mâles.

Le traitement statistique des données a été effectué avec le logiciel R (R Development Core Team, 2012). Tous les lots d'individus comparés entre eux (i.e. pour les différences entre sexes, saisons et/ou années, zone de capture) ont tout d'abord été testés pour la normalité des données et l'homogénéité des variances entre lots. En fonction, des tests statistiques paramétriques ou non paramétriques ont ensuite été utilisés pour comparer les différents lots d'individus. Le seuil utilisé pour la significativité des tests a toujours été fixé à $\alpha = 0,05$.

8.2.2.4. Caractéristiques biologiques des poissons analysés et traités statistiquement pour leurs teneurs en ETM

Les caractéristiques biologiques (zone de capture, saison et/ou année, sexe, longueur à la fourche (FL en cm) et rapport gonado-somatique (RGS en %) des 430 individus analysés et utilisés dans le traitement statistique des données pour ce rapport sont présentées dans le Tableau 37.

Tableau 37. Moyenne \pm écart-type de la longueur à la fourche (FL en cm) et du rapport gonado-somatique (RGS en %) chez les individus analysés et traités statistiquement pour leurs teneurs en éléments traces métalliques (ETM), capturés dans les différentes zones et à différentes saisons (La Réunion (zone A), Afrique du Sud (zone C)) et/ou années (Seychelles, Zone B). N = nombre d'individus ; total 430.

Zone, Saison et /ou année de prélèvement, Sexe	N	Longueur à la fourche (FL) (cm)	RGS (%)
La Réunion (Zone A)	128	102 \pm 5 (90 – 113)	0,8 \pm 0,7 (0,0 – 3,5)
Saison 1 (Nov-Déc 2013)	64	104 \pm 4 (91 – 113)	1,4 \pm 0,6 (0,6 – 3,5)
Femelles	31	101 \pm 3 (91 – 108)	1,9 \pm 0,5 (1,2 – 3,5)
Mâles	33	107 \pm 3 (102 – 113)	1,0 \pm 0,2 (0,6 – 1,4)
Saison 2 (Mai-Juil 2014)	64	101 \pm 5 (90 – 110)	0,3 \pm 0,2 (0,0 – 0,7)
Femelles	32	99 \pm 4 (90 – 105)	0,4 \pm 0,1 (0,1 – 0,7)
Mâles	32	104 \pm 4 (91 – 110)	0,2 \pm 0,1 (0,0 – 0,7)
Seychelles (Zone B)	105	97 \pm 5 (82 - 108)	0,2 \pm 0,1 (0,0 – 0,7)
Saison 2 Année 1 (Juin-Juil 2013)	50	96 \pm 5 (82 – 105)	0,2 \pm 0,2 (0,0 – 0,7)
Femelles	20	95 \pm 4 (86 – 102)	0,4 \pm 0,1 (0,2 – 0,7)
Mâles	30	98 \pm 5 (82 – 105)	0,1 \pm 0,1 (0,0 – 0,3)
Saison 2 Année 2 (Avril 2014)	55	97 \pm 5 (84 – 108)	0,2 \pm 0,1 (0,0 – 0,4)
Femelles	31	95 \pm 5 (84 – 103)	0,3 \pm 0,1 (0,0 – 0,4)
Mâles	24	100 \pm 4 (89 – 108)	0,1 \pm 0,1 (0,0 – 0,3)
Afrique du Sud (Zone C)	197	87 \pm 8 (74-118)	0,2 \pm 0,1 (0,0 – 1,3)
Saison 1 (Nov-Déc 2013)	98	83 \pm 4 (75 - 96)	0,1 \pm 0,1 (0,0 – 1,3)
Femelles	50	83 \pm 4 (75 – 94)	0,2 \pm 0,2 (0,0 – 1,3)
Mâles	48	83 \pm 4 (76 – 96)	0,1 \pm 0,1 (0,0 – 0,4)
Saison 2 (Avril-Mai 2014)	99	90 \pm 9 (74 – 118)	0,2 \pm 0,1 (0,0 – 0,5)

Femelles	51	90 ± 9 (74 – 110)	0,2 ± 0,1 (0,0 – 0,5)
Mâles	48	91 ± 10 (76 – 118)	0,2 ± 0,1 (0,0 – 0,4)

Au sein de chaque zone considérée (A, B et C), le nombre d'individus analysés par saison et/ou année (cas des Seychelles (zone B) où une seule saison a été échantillonnée mais sur 2 années) était ainsi relativement bien équilibré, de même que le sexe ratio au sein d'une même saison et/ou année (Tableau 37).

Pour La Réunion (zone A) et les Seychelles (zone B), et pour les 2 saisons et/ou années considérées, les femelles analysées présentaient systématiquement des longueurs à la fourche (FL) significativement plus faibles que les mâles (Figure 73). Ceci est cohérent avec le dimorphisme sexuel connu chez cette espèce de Thonidés (e.g. Karazulak et al. 2011). Malgré des tailles différentes, les individus mâles et femelles prélevés sur une même zone et à une même saison avaient donc vraisemblablement le même âge, et correspondaient en grande majorité à des individus adultes et matures pour ces 2 zones A et B (FL > 90 cm pour cette espèce dans la zone Pacifique ; Chen et al. 2010, 2012 ; Farley et al. 2014). Les individus provenant d'Afrique du Sud (zone C) avaient en revanche des tailles significativement plus faibles que ceux de La Réunion (zone A) et des Seychelles (zone B). La quasi-totalité des individus analysés pour la saison 1 présentaient ainsi une FL < 90 cm (individus immatures, juvéniles), alors que les individus prélevés en saison 2 contenaient également des individus adultes de FL > 90 cm (Figure 73).

Le rapport gonado-somatique (RGS en %), apportant une information sur le cycle sexuel et/ou le statut reproducteur des organismes, était systématiquement plus élevé pour les femelles que pour les mâles, sauf pour les individus de la saison 2 en Afrique du Sud (zone C). De plus, le RGS des individus capturés à La Réunion (zone A) en saison 1 était significativement plus élevé que celui de ceux prélevés en saison 2, et que celui de ceux prélevés dans les autres zones, toutes saisons et/ou années confondues (Figure 73).

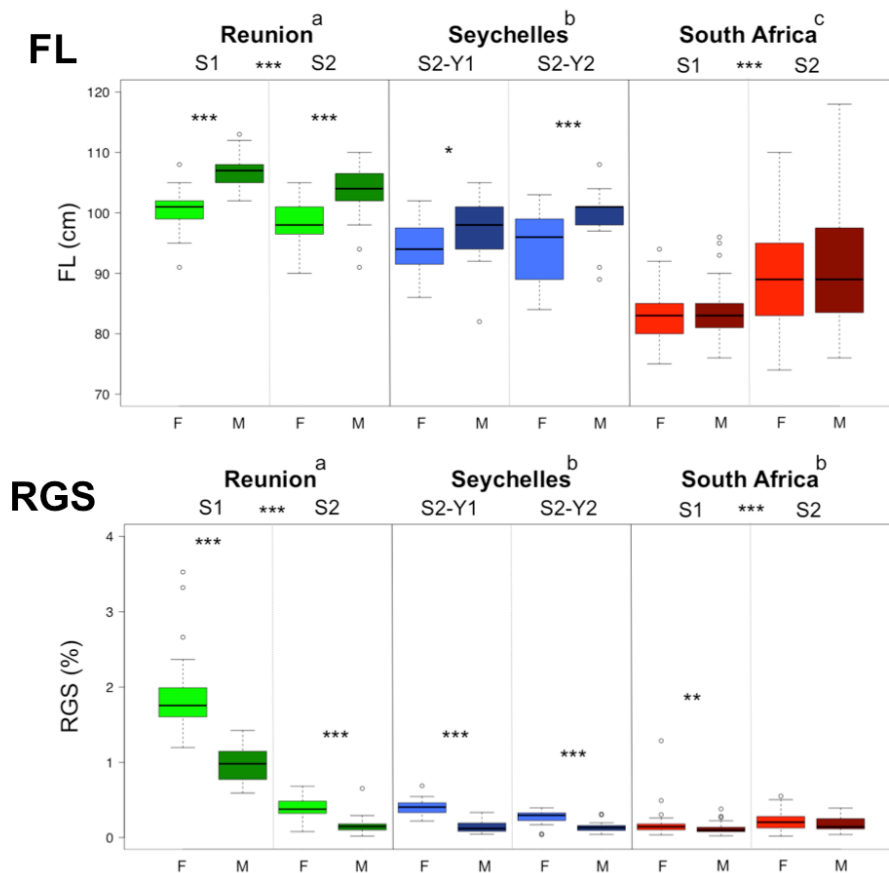


Figure 73. Longueur à la fourche (FL en cm) et rapport gonado-somatique (RGS en %) chez les individus (430) analysés pour leurs concentrations en ETM dans le muscle, et capturés dans les différentes zones et à différentes saisons (La Réunion (zone A), Afrique du Sud (zone C)) et/ou années (Seychelles (zone B)). Une même lettre regroupe les zones pour lesquelles la différence n'est pas significative ($p > 0,05$) en termes de FL ou de RGS. Les étoiles indiquent une différence significative (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$) entre sexes (M = Mâles ; F = Femelles), ou entre saisons et/ou années (S1 = Saison 1 ; S2 = Saison 2 pour La Réunion (zone A) et l'Afrique du Sud (zone C); S2-Y1 = Saison 2, Année 1 et S2-Y2 = Saison 2, Année 2 pour les Seychelles (zone B)). Le nombre d'individus par lot est indiqué dans le Tableau 36.

8.2.3. Interprétation préliminaire des données

8.2.3.1. Niveaux de contamination en ETM dans le muscle

Les résultats obtenus dans cette étude pour les concentrations en ETM dans le muscle des individus traités statistiquement sont décrits dans le Tableau 38.

Les concentrations retrouvées varient ainsi en moyenne entre $0,64 \pm 0,12$ mg/kg poids sec (ps) (Seychelles (zone B)) et $1,55 \pm 0,38$ mg/kg ps (Afrique du Sud (zone C)) pour le Cu, entre $11,43 \pm 2,28$ mg/kg ps (Seychelles (zone B)) et $23,28 \pm 8,31$ mg/kg ps (Afrique du Sud (zone C)) pour le Zn, entre $0,01 \pm 0,01$ mg/kg ps (La Réunion (zone A) et Seychelles (zone B)) et $0,04 \pm 0,04$ mg/kg ps (Afrique du Sud (zone C)) pour le Ni, et entre $0,52 \pm 0,04$ mg/kg ps (Seychelles

(zone B)) et $0,53 \pm 0,08$ mg/kg ps (Afrique du Sud (zone C)) pour le Cr, concernant les éléments essentiels. En ce qui concerne les éléments non essentiels, les concentrations varient entre $0,96 \pm 0,44$ mg/kg ps (Afrique du Sud (zone C)) et $1,71 \pm 0,63$ mg/kg ps (La Réunion (zone A)) pour le Hg, entre $0,07 \pm 0,03$ mg/kg ps (La Réunion (zone A)) et $0,34 \pm 0,26$ mg/kg ps (Afrique du Sud (zone C)) pour le Cd et entre $0,00 \pm 0,00$ mg/kg ps (Seychelles (zone B)) et $0,01 \pm 0,03$ mg/kg ps (La Réunion (zone A)) pour le Pb (Tableau 38).

Mis à part pour le Hg, d'un point de vue analytique les teneurs en ETM mesurées sont donc généralement faibles (voire nulles pour certains ETM) dans le muscle des individus analysés. Elles sont effectivement parfois très proches voire inférieures (et alors données à titre indicatif) aux limites de quantification des appareils et méthodes utilisés pour le Cd, le Pb et le Ni en particulier.

Dans l'ensemble, ces concentrations sont du même ordre de grandeur que celles retrouvées dans la littérature concernant les Thonidés (dont le thon germon), et provenant de différentes régions marines dans le monde (e.g. Das et al. 2000 ; Storelli et al. 2005 ; Choy et al. 2009 ; Kojadinovic et al. 2006, 2007 ; Ruelas-Inzunza et al. 2014 ; Chen et al. 2014 et références associées). Les données sur le thon germon en particulier restent tout de même rares (e.g. Das et al. 2000 pour l'Atlantique Nord ; Chen et al. 2010 et Hisamichi et al. 2010 pour le Pacifique Nord). L'espèce *Thunnus albacares* (thon à nageoire jaune) est effectivement généralement celle pour lesquelles des concentrations en ETM sont reportées dans les zones ciblées par la présente étude (e.g. Kojadinovic et al. 2006, 2007).

Chez les organismes aquatiques et notamment chez les poissons, l'élimination ou l'excrétion du Hg accumulé dans le muscle (principalement sous forme de méthyl-Hg) dans le temps est en fait très lente, voire nulle (Wang et Wong 2003), du fait de son affinité avec les groupements thiols des protéines musculaires. Pour les autres ETM, les dynamiques ou cinétiques d'accumulation et d'élimination dans le muscle sont très variables, et les résultats issus de la littérature sont parfois contradictoires. Ces cinétiques dépendent effectivement de l'espèce, de la voie d'exposition (dissoute vs. trophique), de la dose d'exposition, etc. De plus, les études expérimentales sont généralement réalisées sur de petites espèces, sur une seule espèce à la fois ou encore sur des durées assez courtes. Ceci rend difficile l'extrapolation pour des prédateurs supérieurs et espèces longévives et prélevées *in situ* tels que les thons analysés ici, d'autant plus que de multiples facteurs vont intervenir et interagir sur les paramètres de bioaccumulation des ETM *in situ* (Luoma et Rainbow 2005). D'une façon générale, chez ce type d'organisme, le muscle peut néanmoins être considéré comme un intégrateur de l'exposition des organismes aux ETM sur le long terme (i.e. de l'ordre de plusieurs semaines ou mois). Les tissus tels que les reins ou le foie sont effectivement davantage associés au devenir plus ou moins direct du métal suivant son incorporation, c'est-à-dire à sa détoxification, son stockage et/ou son élimination ; ils reflètent ainsi une exposition à plus court terme que le muscle aux ETM en général (Reinfelder et al. 1998).

Tableau 38. Moyennes \pm écart-type des concentrations totales en éléments traces métalliques (ETM : Cu, Zn, Ni, Cr, Hg, Cd et Pb en mg/kg poids sec (ps)) mesurées chez les individus (430) de thon germon analysés et capturés dans les différentes zones et à différentes saisons (La Réunion (zone A), Afrique du Sud (zone C) et/ou années (Seychelles (zone B)). N = nombre d'individus ; total 430.

Zone, Saison et /ou année de prélèvement, Sexe	N	[Cu] (mg/kg ps)	[Zn] (mg/kg ps)	[Ni] (mg/kg ps)	[Cr] (mg/kg ps)	[Hg] (mg/kg ps)	[Cd] (mg/kg ps)	[Pb] (mg/kg ps)
La Réunion (Zone A)	128	0,84 \pm 0,20 (0,38 – 1,36)	14,45 \pm 7,10 (6,69 – 77,45)	0,01 \pm 0,01 (0,00 – 0,12)	0,53 \pm 0,06 (0,32 – 0,70)	1,71 \pm 0,63 (0,73 – 4,66)	0,07 \pm 0,03 (0,03 – 0,16)	0,01 \pm 0,03 (0,00 – 0,29)
Saison 1 (Nov-Déc 2013)	64	0,71 \pm 0,15 (0,38 – 1,36)	11,21 \pm 2,17 (6,69 – 20,45)	0,02 \pm 0,02 (0,00 – 0,12)	0,51 \pm 0,06 (0,32 – 0,61)	1,77 \pm 0,68 (0,73 – 4,66)	0,06 \pm 0,02 (0,03 – 0,13)	0,01 \pm 0,01 (0,00 – 0,04)
Femelles	31	0,74 \pm 0,18 (0,47 – 1,36)	10,96 \pm 2,10 (7,12 – 18,53)	0,02 \pm 0,02 (0,01 – 0,10)	0,52 \pm 0,05 (0,43 – 0,61)	1,72 \pm 0,63 (0,73 – 4,14)	0,06 \pm 0,02 (0,03 – 0,13)	0,01 \pm 0,01 (0,00 – 0,03)
Mâles	33	0,69 \pm 0,13 (0,38 – 0,90)	11,45 \pm 2,23 (6,69 – 20,45)	0,02 \pm 0,02 (0,00 – 0,12)	0,50 \pm 0,07 (0,32 – 0,59)	1,82 \pm 0,73 (1,19 – 4,66)	0,06 \pm 0,02 (0,03 – 0,11)	0,01 \pm 0,01 (0,00 – 0,04)
Saison 2 (Mai-Juil 2014)	64	0,98 \pm 0,14 (0,60 – 1,35)	17,69 \pm 8,69 (10,92 – 77,45)	\pm 0,00 (0,01 – 0,02)	0,54 \pm 0,05 (0,45 – 0,70)	1,64 \pm 0,57 (0,84 – 3,67)	0,08 \pm 0,03 (0,03 – 0,16)	0,01 \pm 0,04 (0,00 – 0,29)
Femelles	32	0,96 \pm 0,15 (0,60 – 1,26)	19,96 \pm 11,63 (10,92 – 77,45)	\pm 0,00 (0,01 – 0,02)	0,54 \pm 0,05 (0,46 – 0,70)	1,40 \pm 0,39 (0,84 – 2,64)	0,07 \pm 0,02 (0,04 – 0,12)	0,00 \pm 0,00 (0,00 – 0,01)
Mâles	32	1,00 \pm 0,12 (0,80 – 1,35)	15,42 \pm 2,75 (11,72 – 23,42)	\pm 0,00 (0,01 – 0,02)	0,55 \pm 0,05 (0,45 – 0,68)	1,88 \pm 0,63 (1,00 – 3,67)	0,08 \pm 0,03 (0,03 – 0,16)	0,01 \pm 0,05 (0,00 – 0,29)
Seychelles (Zone B)	105	0,64 \pm 0,12 (0,44 – 1,16)	11,43 \pm 2,28 (8,74 – 26,25)	0,01 \pm 0,01 (0,00 – 0,04)	0,52 \pm 0,04 (0,44 – 0,68)	1,43 \pm 0,41 (0,66 – 2,72)	0,10 \pm 0,16 (0,02 – 1,38)	0,00 \pm 0,00 (0,00 – 0,02)
Saison 2 Année 1 (Juin-Juil 2013)	50	0,67 \pm 0,14 (0,44 – 1,16)	12,34 \pm 2,92 (8,99 – 26,25)	0,01 \pm 0,01 (0,00 – 0,03)	0,50 \pm 0,04 (0,44 – 0,68)	1,31 \pm 0,31 (0,83 – 2,27)	0,16 \pm 0,22 (0,03 – 1,38)	0,01 \pm 0,00 (0,00 – 0,02)
Femelles	20	0,64 \pm 0,12 (0,44 – 0,85)	12,47 \pm 1,95 (9,83 – 16,05)	0,01 \pm 0,01 (0,01 – 0,03)	0,51 \pm 0,05 (0,45 – 0,68)	1,30 \pm 0,22 (0,90 – 1,71)	0,15 \pm 0,13 (0,04 – 0,48)	0,01 \pm 0,00 (0,00 – 0,02)
Mâles	30	0,68 \pm 0,15 (0,49 – 1,16)	12,25 \pm 3,44 (8,99 – 26,25)	0,01 \pm 0,01 (0,00 – 0,03)	0,50 \pm 0,03 (0,44 – 0,58)	1,32 \pm 0,36 (0,83 – 2,27)	0,17 \pm 0,27 (0,03 – 1,38)	0,01 \pm 0,01 (0,00 – 0,02)
Saison 2 Année 2 (Avril 2014)	55	0,62 \pm 0,09 (0,47 – 0,89)	10,60 \pm 0,91 (8,74 – 12,14)	0,01 \pm 0,01 (0,00 – 0,04)	0,53 \pm 0,03 (0,46 – 0,61)	1,54 \pm 0,47 (0,66 – 2,72)	0,04 \pm 0,01 (0,02 – 0,08)	0,00 \pm 0,00 (0,00 – 0,01)
Femelles	31	0,61 \pm 0,09 (0,47 – 0,89)	10,62 \pm 0,92 (8,74 – 12,12)	0,01 \pm 0,01 (0,00 – 0,03)	0,53 \pm 0,03 (0,47 – 0,57)	1,41 \pm 0,44 (0,66 – 2,72)	0,04 \pm 0,01 (0,02 – 0,07)	0,00 \pm 0,00 (0,00 – 0,00)
Mâles	24	0,63 \pm 0,09	10,58 \pm 0,92	0,01 \pm 0,01	0,54 \pm 0,04	1,71 \pm 0,46	0,04 \pm 0,01	0,00 \pm 0,00

Action 5 – Étude préliminaire de la structure du thon germon en fonction de son habitat

		(0,51 – 0,83)	(8,80 – 12,14)	(0,00 – 0,04)	(0,46 – 0,61)	(1,01 – 2,63)	(0,02 – 0,08)	(0,00 – 0,01)
Afrique du Sud (Zone C)	197	1,55 ± 0,38 (0,83-3,67)	23,28 ± 8,31 (10,80 – 62,58)	0,04 ± 0,04 (0,01 – 0,28)	0,53 ± 0,08 (0,37 – 0,74)	0,96 ± 0,44 (0,39 – 3,92)	0,34 ± 0,26 (0,06 – 1,55)	0,01 ± 0,02 (0,00 – 0,17)
<i>Saison 1 (Nov-Déc 2013)</i>	98	1,69 ± 0,43 (1,11 – 3,67)	26,43 ± 9,48 (12,78 – 62,58)	0,04 ± 0,04 (0,01 – 0,23)	0,46 ± 0,04 (0,37 – 0,54)	0,80 ± 0,15 (0,39 – 1,35)	0,37 ± 0,25 (0,08 – 1,24)	0,01 ± 0,02 (0,00 – 0,17)
Femelles	50	1,70 ± 0,42 (1,11 – 3,39)	25,00 ± 7,73 (12,78 – 50,38)	0,04 ± 0,04 (0,01 – 0,23)	0,46 ± 0,04 (0,37 – 0,54)	0,76 ± 0,14 (0,39 – 1,09)	0,37 ± 0,26 (0,12 – 1,24)	0,01 ± 0,02 (0,00 – 0,17)
Mâles	48	1,69 ± 0,45 (1,28 – 3,67)	27,91 ± 10,90 (13,15 – 62,58)	0,03 ± 0,03 (0,01 – 0,19)	0,45 ± 0,04 (0,38 – 0,54)	0,83 ± 0,15 (0,52 – 1,35)	0,38 ± 0,23 (0,08 – 1,24)	0,01 ± 0,02 (0,00 – 0,11)
<i>Saison 2 (Avril-Mai 2014)</i>	99	1,42 ± 0,25 (0,83 – 2,13)	20,16 ± 5,42 (10,80 – 55,26)	0,04 ± 0,04 (0,01 – 0,28)	0,59 ± 0,05 (0,49 – 0,74)	1,12 ± 0,56 (0,50 – 3,92)	0,30 ± 0,26 (0,06 – 1,55)	0,02 ± 0,02 (0,00 – 0,13)
Femelles	51	1,44 ± 0,23 (0,85 – 1,99)	20,81 ± 6,76 (10,80 – 55,26)	0,04 ± 0,05 (0,01 – 0,28)	0,60 ± 0,05 (0,49 – 0,74)	1,09 ± 0,44 (0,50 – 2,74)	0,30 ± 0,22 (0,07 – 1,10)	0,01 ± 0,01 (0,00 – 0,08)
Mâles	48	1,40 ± 0,27 (0,83 – 2,13)	19,46 ± 3,43 (12,37 – 26,10)	0,03 ± 0,02 (0,01 – 0,13)	0,59 ± 0,05 (0,49 – 0,72)	1,15 ± 0,67 (0,57 – 3,92)	0,30 ± 0,30 (0,06 – 1,55)	0,02 ± 0,02 (0,00 – 0,13)

8.2.3.2. Différence entre sexes, saisons, années et zones de capture

Les teneurs et différences significatives observées dans les concentrations en ETM mesurées entre sexes, saisons et/ou années et zones de capture sont illustrées pour les 4 éléments essentiels analysés (Cu, Zn, Ni, Cr) d'une part (Figure 74), et les 3 éléments non essentiels (Hg, Cd et Pb) d'autre part (Figure 75).

Concernant les éléments essentiels, la seule différence significative ($p < 0,05$) entre sexes a été obtenue pour le Zn des individus capturés à La Réunion (zone A) en saison 1, avec les femelles présentant des niveaux moyens de Zn supérieurs aux mâles (néanmoins faibles également ; Figure 74). Concernant les éléments non essentiels, seules des différences significatives entre sexes ont été obtenues pour le Hg, avec des concentrations toujours significativement supérieures chez les mâles par rapport aux femelles, et ceci pour les individus capturés à La Réunion (zone A) en saison 2, aux Seychelles (zone B) en saison 2 – année 2, et en Afrique du Sud (zone C) en saison 1 (Figure 75). Dans l'ensemble, cela suggère que l'effet sexe est peu important pour expliquer la variabilité des concentrations en ETM mesurées chez le thon germon. De plus, cela montre qu'une décontamination en ETM via la reproduction (pour les femelles adultes notamment) est peu probable, contrairement aux contaminants organiques pour lesquels le phénomène est bien documenté (e.g. Jones et de Voogt 1999). Cette affirmation est peut-être à nuancer pour le Hg qui montre davantage de différences entre sexes, cependant des différences d'écologie trophique (cf. introduction) entre mâles et femelles peuvent également être un facteur explicatif de ces différences.

Pour les deux types d'éléments (essentiels et non essentiels), les différences entre saisons d'échantillonnage (au sein d'une même zone de capture) se sont révélées être plus souvent significatives que les différences entre sexes (Figure 74 et Figure 75). Cependant, aucun schéma général n'est vraiment apparu, si ce n'est pour l'Afrique du Sud (zone C) où les valeurs (p) étaient toujours très faibles ($p < 0,001$, sauf pour le Ni dont la différence entre saisons n'est pas significative). Dans cette zone C, les individus prélevés en saison 1 présentaient ainsi des concentrations significativement plus élevées en Cu, Zn et Cd, et des concentrations significativement plus faibles en Cr, Hg et Pb que les individus prélevés en saison 2. Il est à noter que ce lot d'individus (Afrique du Sud (zone C) saison 1) est en fait le seul à ne contenir que des individus immatures / juvéniles de FL < 90 cm, par rapport à la saison 2 où quelques individus adultes matures ont tout de même été capturés, et par rapport à La Réunion (zone A) et aux Seychelles (zone B) où les individus prélevés et analysés sont quasiment tous des adultes matures (FL > 90 cm). Ces résultats suggèrent un effet potentiel de l'âge et/ou de la taille sur les concentrations mesurées. Le seul ETM pour lequel une corrélation significative a été obtenue et/ou pour lequel une relation entre concentrations et taille des organismes est apparue reste cependant le Hg (Figure 76 ; résultats non illustrés pour les autres ETM).

L'influence de l'âge sur la bioaccumulation du Hg dans le muscle des organismes marins et notamment des poissons est effectivement un phénomène bien connu (Monteiro et Lopes 1990 ; Rossi et al. 1993 ; Cronin et al. 1998), dû probablement à sa faible élimination au cours de la vie une fois lié aux protéines musculaires (Wang et Wong 2003). La position trophique des individus, augmentant généralement avec l'âge et la croissance en taille des organismes, joue sans doute un rôle également du fait de la bioamplification du Hg dans les réseaux

trophiques, bien documentée également (Gray 2002 ; Chen et al. 2008). Pour les autres ETM et notamment le Cd, une augmentation des teneurs observées avec l'âge ou le niveau trophique des organismes, ou encore leur bioamplification dans les réseaux trophiques n'est effectivement pas bien établie comme dans le cas du Hg, même si des auteurs ont montré que cela pouvait être le cas pour certaines « chaînes » trophiques (Wang 2002 ; Croteau et al. 2005 ; Cheung et Wang 2008) ou même chez certaines espèces de Thonidés (Ruelas-Inzunza et al. 2014). Ici, pour les autres ETM que le Hg, les résultats suggèrent donc plutôt une dilution probable des teneurs avec la croissance en taille (et en masse musculaire) des individus, et/ou que les teneurs mesurées et les différences observées sont davantage liées à des différences d'écologie trophique entre les individus et/ou les saisons, et bien sûr entre les zones de capture.

L'effet zone de capture est effectivement apparu comme le plus important en termes de différences entre les lots d'individus. Les concentrations en Cu, Zn et Hg mesurées se sont ainsi révélées être significativement différentes entre les 3 zones (Figure 74 et Figure 75). Les concentrations en Cd et Ni sont apparues quant à elles significativement différentes entre les individus prélevés dans l'océan Indien d'une part (La Réunion (zone A) et les Seychelles (zone B) – non significativement différentes) et ceux prélevés en Afrique du Sud (zone C), et ceci malgré des teneurs mesurées vraiment faibles pour ces éléments. Enfin, le Pb et le Cr montraient peu ou aucune différence statistique entre les zones, les niveaux pour ces éléments étant par ailleurs aussi très faibles pour l'ensemble des lots testés statistiquement. La différence d'écologie trophique et de types de proies à disposition dans les différentes zones (i.e. différences d'exposition aux ETM via la voie trophique) (paragraphe 7.2.2.3) peut expliquer en partie les différences de teneurs observées pour ces prédateurs supérieurs. Le lien entre différences de concentrations en ETM et écologie trophique a déjà été démontré par Kojadinovic et al. (2007) sur des grands poissons pélagiques de même type et provenant de la même zone d'étude (Ouest de l'océan Indien, dont La Réunion (zone A). Idéalement, la mesure des teneurs observées dans les proies potentielles disponibles sur chaque zone aurait pu permettre de valider ou d'infirmer cette hypothèse. Un fonctionnement trophique différent (e.g. oligotrophe vs. mésotrophe) dès la base des différents réseaux trophiques des différentes zones pourrait également être une hypothèse ; la biodisponibilité des ETM dès la base des réseaux trophiques pourrait alors s'en trouver modifiée, affectant le potentiel de bioaccumulation de certains ETM jusqu'aux prédateurs supérieurs. Pour le Hg en Méditerranée par exemple, il a effectivement déjà été suggéré que les conditions oligotrophiques dans cet écosystème sont susceptibles de favoriser la biodisponibilité du Hg (via la méthylation) dans ce système (Heimbürger et al. 2010). Enfin, une exposition différente par le milieu abiotique ne peut être négligée non plus, mais des données sur le milieu abiotique (i.e. teneurs dans les masses d'eau / dans les différents habitats) seraient alors également nécessaires pour valider ou infirmer cela. Ces deux dernières hypothèses (fonctionnement trophique dès la base des réseaux et affectant biodisponibilité des ETM, ou concentrations différentes dans le milieu abiotique) sont dans tous les cas liées entre elles, et bien sûr liées à la première également, puisqu'elles sont susceptibles d'affecter l'ensemble de la chaîne trophique dans les différentes zones et ainsi d'influencer également les concentrations en ETM dans les proies potentielles des thons.

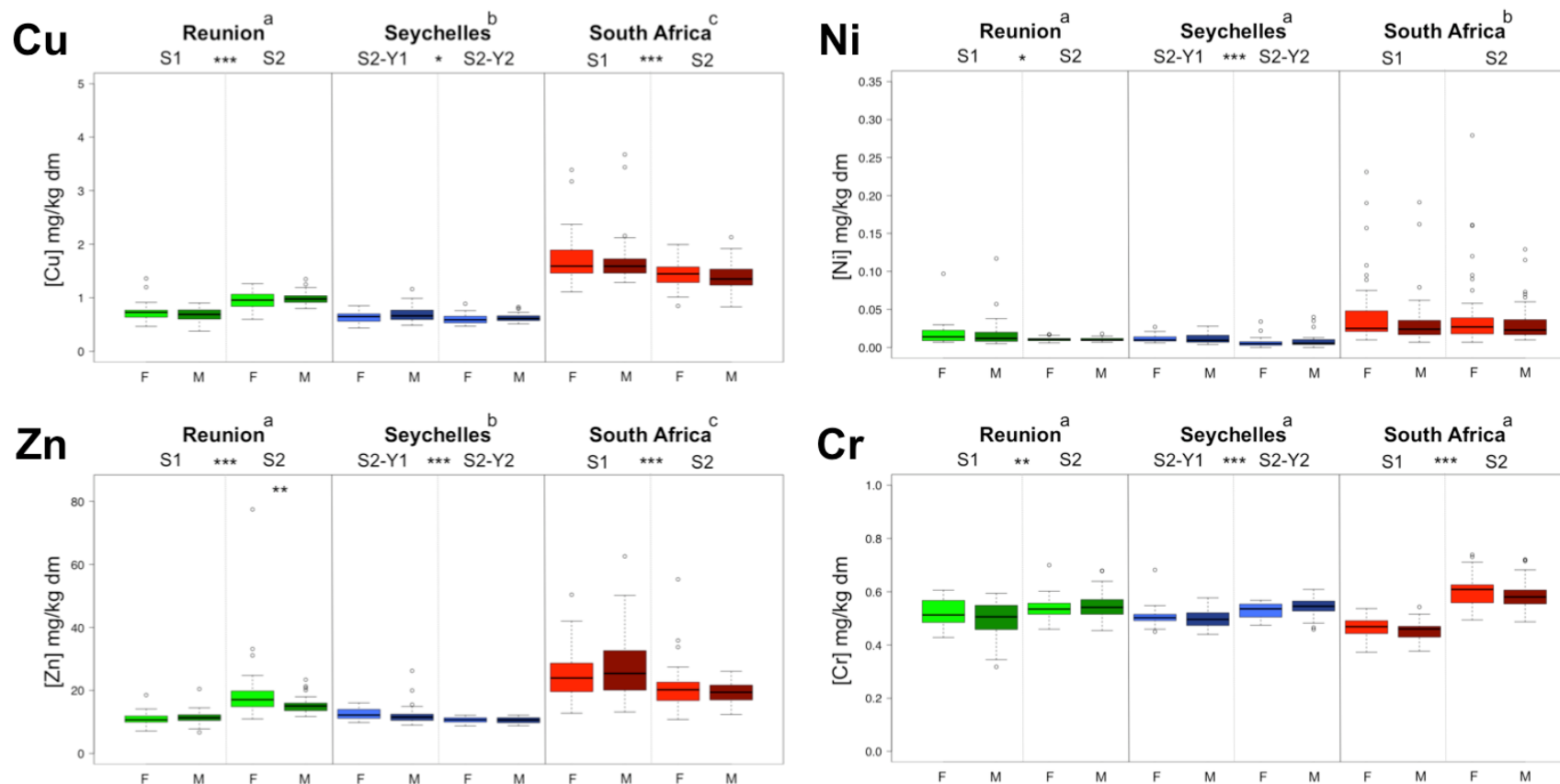


Figure 74. Concentrations totales en ETM essentiels (Cu, Zn, Ni, et Cr en mg/kg poids sec (ps) ou dry mass (dm) en anglais) mesurées chez les individus (430) de thon germon capturés dans les différentes zones et à différentes saisons (La Réunion (zone A), Afrique du Sud (zone C)) et/ou années (Seychelles (zone B)). Une même lettre regroupe les zones pour lesquelles la différence n'est pas significative ($p > 0,05$) en termes de concentrations. Les étoiles indiquent une différence significative (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$) entre sexes (M = Mâles ; F = Femelles), ou entre saisons et/ou années (S1 = Saison 1 ; S2 = Saison 2 pour La Réunion (zone A) et l'Afrique du Sud; S2-Y1 = Saison 2, Année 1 et S2-Y2 = Saison 2, Année 2 pour les Seychelles (zone B)). Le nombre d'individus par lot est indiqué dans le Tableau 36.

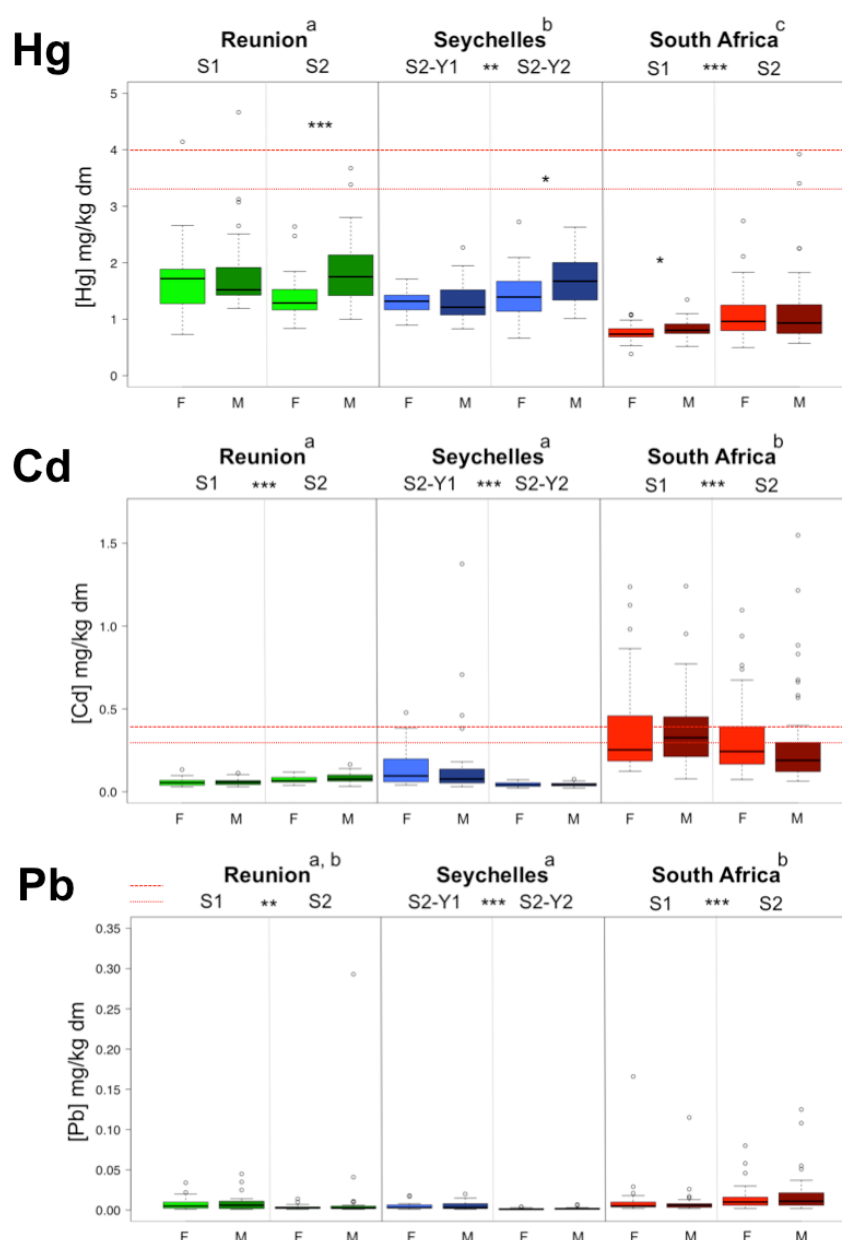


Figure 75. Concentrations totales en ETM non essentiels (Hg, Cd et Pb en mg/kg poids sec (ps) ou dry mass (dm) en anglais) mesurées chez les individus (430) de thon germon capturés dans les différentes zones et à différentes saisons (La Réunion (zone A), Afrique du Sud (zone C) et/ou années (Seychelles (zone B))). Une même lettre regroupe les zones pour lesquelles la différence n'est pas significative ($p > 0,05$) en termes de concentrations. Les étoiles indiquent une différence significative (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$) entre sexes (M = Mâles ; F = Femelles), ou entre saisons et/ou années (S1 = Saison 1 ; S2 = Saison 2 pour La Réunion (zone A) et l'Afrique du Sud (zone C); S2-Y1 = Saison 2, Année 1 et S2-Y2 = Saison 2, Année 2 pour les Seychelles (zone B)). Le nombre d'individus par lot est indiqué dans le Tableau 36.

Les limites des teneurs maximales autorisées par la Commission Européenne en équivalent poids sec de tissu pour les 3 ETM considérés dans la Figure 75 sont indiquées en rouge,

considérant une teneur en eau comprise entre 70 et 75% dans le muscle des thons (Kojadinovic et al. 2006) ; i.e. 3,33-4,00 mg/kg poids sec (ps) pour le Hg, 0,33-0,40 mg/kg ps pour le Cd, 1,00-1,20 mg/kg ps pour le Pb. Pour le Pb (Figure 75), ces teneurs sont ainsi bien supérieures à l'échelle appliquée pour la représentation des données.

8.2.3.3. Normes sanitaires

En termes de risque sanitaire pour la consommation par l'Homme des denrées alimentaires et notamment des produits de la mer, des teneurs maximales sont fixées par la Commission Européenne (European Commission 2006) pour le Hg, le Cd et le Pb (éléments non essentiels). Par ailleurs, des teneurs spécifiques prévalent pour les espèces de Thonidés concernant le Cd et le Hg (i.e. teneurs maximales tolérées un peu plus élevées que pour d'autres produits de la mer). Les teneurs maximales autorisées dans la chair de poissons tels que le thon germon sont ainsi fixées à 1,00 mg/kg poids humide (ph) pour le Hg, 0,10 mg/kg ph pour Cd, et 0,30 mg/kg ph pour le Pb. Si l'on considère une teneur en eau comprise entre 70 et 75% dans le muscle des thons analysés ici (d'après Kojadinovic et al. 2006 pour plusieurs espèces de grands poissons pélagiques dont des Thonidés de la zone étudiée ici), cela équivaut à des teneurs maximales autorisées comprises entre 3.33 et 4.00 mg/kg poids sec (ps) pour le Hg, entre 0,33 et 0,40 mg/kg ps pour le Cd, et entre 1,00 et 1,20 mg/kg ps pour le Pb.

Les limites de ces teneurs maximales autorisées en équivalent poids sec de tissu pour les 3 ETM considérés sont indiquées en rouge sur la Figure 75 (et la Figure 76 pour le Hg). Ainsi, les concentrations en Pb mesurées dans les individus de thon germon, analysés ici, sont bien inférieures aux teneurs maximales autorisées. Pour le Hg, seuls quelques individus (4 exactement sur 430 considérés ici, parmi les plus grands de La Réunion (zone A) et d'Afrique du Sud (zone C)) frôlent les seuils autorisés pour cet ETM. Enfin, pour le Cd, 67 individus d'Afrique du Sud (zone C) sur les 197 traités statistiquement pour cette zone, soit 34% des individus dépassent le seuil maximal autorisé (pour la limite inférieure correspondant à 70% d'humidité dans la chair), ainsi que 7 individus des Seychelles (zone B) (sur les 105 considérés pour cette zone).

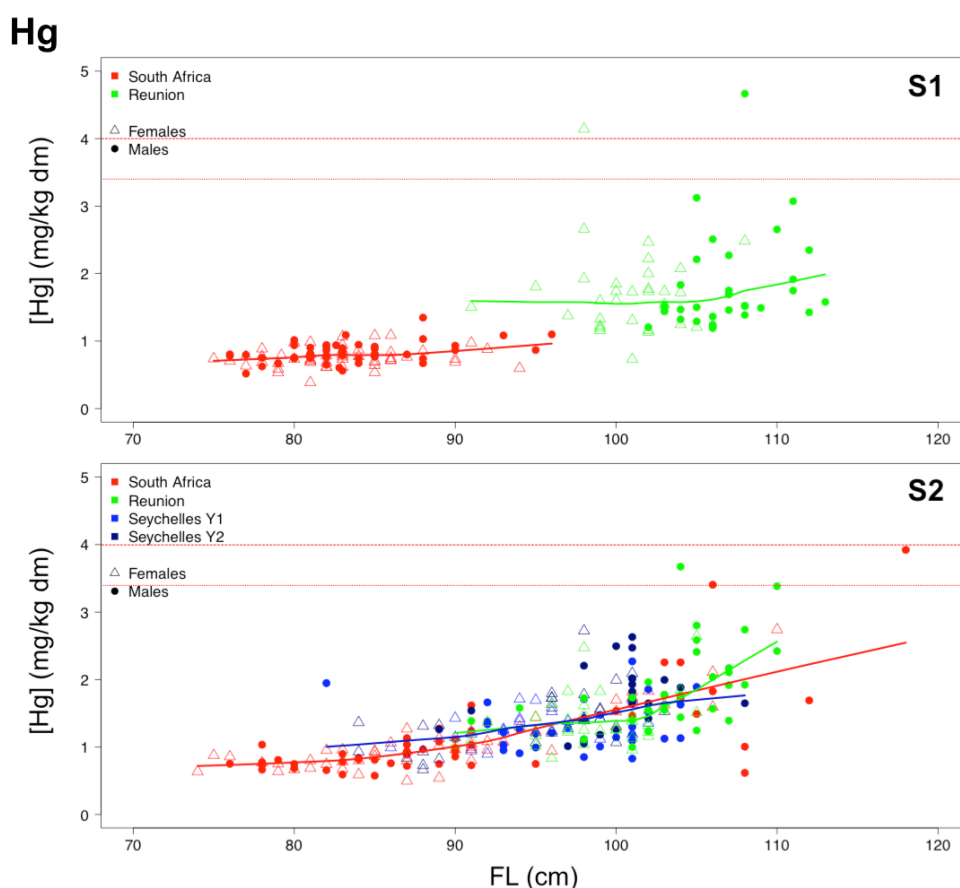


Figure 76. Relation entre les concentrations en Hg mesurées dans le muscle des thons capturés (430 individus) dans les différentes zones et à différentes saisons et/ou années. S1 = Saison 1 ; S2 = Saison 2. Une fonction de lissage (LOWESS / « locally weighted polynomial regression ») a été ajoutée pour aider à l'interprétation des tendances observées (Crawley, 2007). Les limites des teneurs maximales autorisées par la Commission Européenne en équivalent poids sec de tissu pour le Hg sont indiquées en rouge (3.33-4.00 mg/kg poids sec), considérant une teneur en eau comprise entre 70 et 75% dans le muscle des thons (Kojadinovic et al. 2006).

8.2.3.4. Profils globaux de contamination en ETM et potentiel des ETM comme traceurs des populations de thon germon

Pour appréhender les profils globaux de contamination en ETM des différents lots d'individus comparés (i.e. prenant en compte tous les ETM ciblés dans cette étude en une seule analyse), une Analyse en Composantes Principales (ACP) a été réalisée sur l'ensemble des individus sélectionnés pour le traitement statistique des données (i.e. 430 individus). L'ACP permet de définir de nouvelles variables (les « composantes principales ») à partir des variables initiales (concentrations en ETM). Ces nouvelles variables sont une combinaison linéaire des variables initiales et doivent permettre de représenter au mieux la variabilité interindividuelle et ainsi la dispersion des individus vis-à-vis de leur contamination chimique dans un espace à moindre dimensions (i.e. moins de dimensions que le nombre de variables initiales). Les « composantes principales » déterminent ainsi les « axes principaux » sur lesquels le nuage d'individus est projeté, et les deux premiers axes sont alors souvent choisis car ce sont eux qui portent le

maximum d'information et expliquent généralement le maximum de variabilité dans le jeu de données en le moins de variables explicatives possibles. Certaines concentrations en ETM étant significativement corrélées entre elles (positivement – cas du Cu et du Zn, ou négativement – cas du Cd et du Hg), les rapports de ces métaux ont été utilisés dans l'ACP (rapport des métaux essentiels Cu/Zn et rapport des métaux non essentiels Cd/Hg). Dans le cadre d'une ACP, l'intégration de variables initiales trop fortement corrélées est effectivement à éviter, pour ne pas risquer de perdre d'information en termes de dispersion des individus vis-à-vis des nouvelles variables créées. L'utilisation de rapports de métaux permet par ailleurs d'appréhender des processus de bioaccumulation similaires ou non entre métaux essentiels d'une part et non essentiels d'autre part, néanmoins dans le cadre de ce rapport et pour répondre aux objectifs spécifiques du projet (i.e. utilisation des contaminants chimiques comme traceurs des habitats/zones d'alimentation et/ou traceurs de la structure des populations), l'interprétation des rapports de métaux ne sera pas davantage développée.

Les résultats de l'ACP sont ainsi illustrés Figure 77.

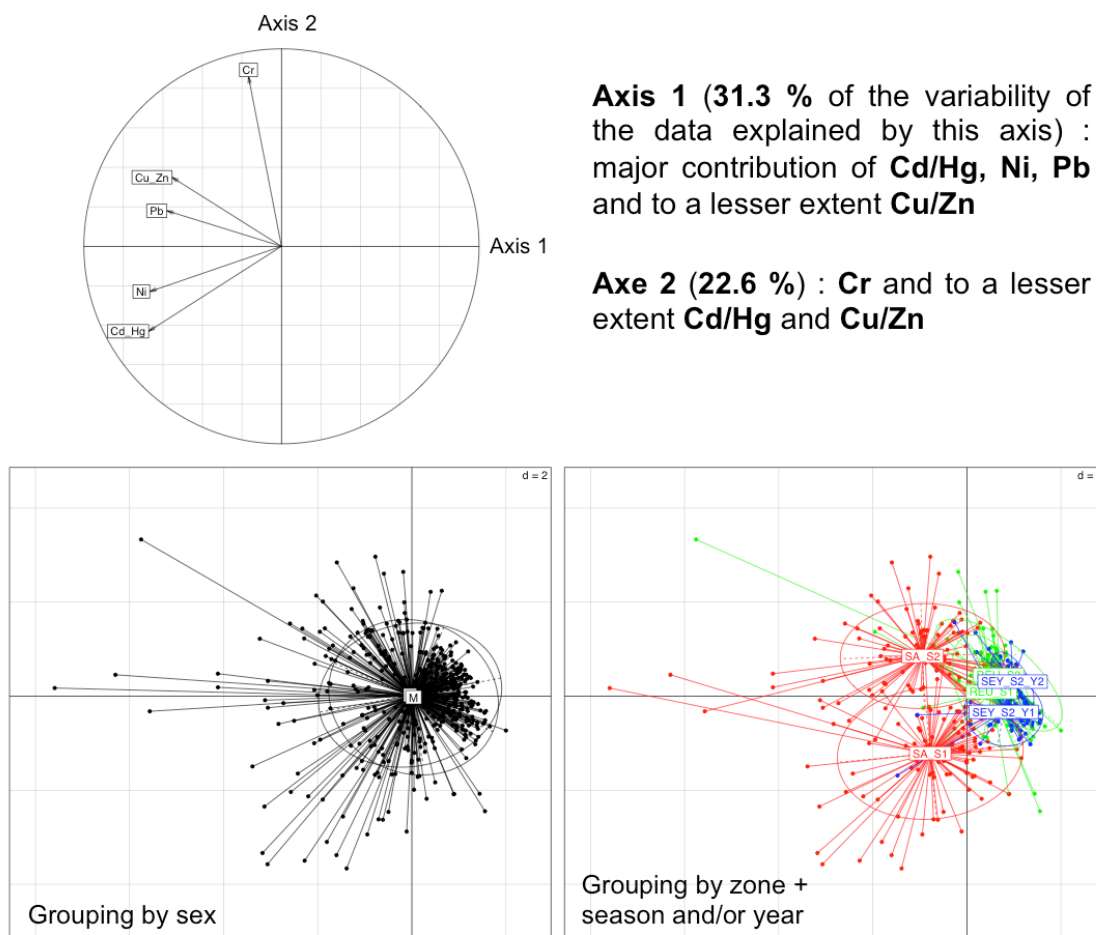


Figure 77. Projection des variables initiales et projection des individus (430 individus) sur les deux premiers axes (ou composantes principales) de l'ACP. Certaines concentrations en ETM étant significativement corrélées entre elles (positivement – cas du Cu et du Zn, ou négativement – cas du Cd et du Hg), les rapports de ces métaux ont été utilisés (voir texte).

Dans la Figure 77, la longueur de la flèche pour chaque variable indique sa représentation plus ou moins bonne sur cette projection en deux dimensions et considérant les deux premiers axes de l'ACP. Cela reflète également la contribution de chaque variable à ces deux premières composantes principales. Le pourcentage de variabilité dans le jeu de données (entre tous les individus considérés) expliqué par chaque axe est également indiqué. Les points (correspondants aux individus) ont enfin été regroupés en fonction du sexe (à gauche) et en fonction de la zone de capture et de la saison et/ou année (à droite et en couleurs).

Les résultats de l'ACP soulignent ainsi une fois de plus le peu d'influence du sexe sur les teneurs en éléments traces mesurées dans les thons étudiés. L'effet saison (pour l'Afrique du Sud (zone C) en particulier) et surtout l'effet zone sont bien plus importants. Dans l'ensemble, les traceurs chimiques métalliques séparent et discriminent effectivement bien les individus capturés dans les différentes zones, et discriminent notamment bien les individus de l'océan Indien (La Réunion (zone A) et Seychelles (zone B)) de ceux de l'Afrique du Sud (zone C) (Figure 77). Ils suggèrent ainsi un certain potentiel en tant que traceurs de l'habitat, ou plutôt des zones d'alimentation des différentes populations - la voie trophique restant la voie principale d'exposition aux contaminants métalliques chez les prédateurs supérieurs tels que le thon germon. Enfin, ils suggèrent ainsi un certain potentiel comme traceurs de la structure des populations, i.e. réponse des différentes populations à une certaine variabilité environnementale, en termes de contamination chimique de leur environnement biotique (i.e. nourriture) et abiotique (i.e. habitat).

8.2.4. Conclusion

L'étude de la contamination chimique en ETM des thons germon dans cette étude a permis de mettre en évidence des différences significatives de niveaux (ETM considérés séparément) et de profils de contamination (ETM considérés ensemble) entre les individus capturés dans les différentes zones A, B et C du projet, en fonction des ETM considérés. Au sein d'une même zone, des différences entre saisons ont également été observées, en revanche les différences entre sexes se sont révélées peu significatives. L'ensemble des ETM non essentiels sont en dessous du seuil sanitaire autorisé, excepté pour le Cadmium en Afrique du Sud puisque 34% des individus sont concernés.

D'une façon générale et au regard des objectifs du projet, l'ensemble de résultats obtenus pour les ETM montre donc une bonne discrimination des individus capturés en zones A et B (La Réunion (zone A) et Seychelles (zone B)) d'une part, et en zone C (Afrique du Sud) d'autre part, suggérant des flux d'individus très limités entre le Sud-ouest de l'océan Indien et l'Afrique du Sud. Du moins, à l'échelle de temps d'intégration représentée par l'étude de la bioaccumulation des ETM dans le muscle de thon.

Dans les travaux précédents (voir paragraphe 6.2), les marqueurs génétiques ont montré une connectivité non négligeable entre les deux océans. Les individus de La Réunion (zone A) et des Seychelles (zone B) forment un seul groupe. Ce résultat est cohérent avec les signatures ETM.

En introduction, nous avons vu que chez les prédateurs supérieurs, i) le métabolisme (processus de régulation, accumulation/concentration avec l'âge ou croissance en taille, etc.) et ii) l'exposition (concentrations et biodisponibilité des métaux) par l'environnement abiotique (i.e. habitat/zone d'alimentation) mais surtout via la nourriture (type de proies, niveau trophique des proies, distribution tissulaire et fractions biodisponibles des métaux dans les proies), sont les deux grandes catégories de facteurs qui influencent les concentrations en métaux que l'on peut mesurer chez les individus d'une même espèce (et bien sûr entre différentes espèces). Les résultats obtenus pour les traceurs chimiques et notamment les ETM sont encore à mettre en relation avec les autres paramètres mesurés concernant l'écologie alimentaire des différents individus capturés (contenus stomacaux, isotopie C et N comme traceurs du niveau trophique et de l'habitat/de la zone d'alimentation également, etc.). Il est prévu de faire ce dernier point prochainement et il fera l'objet d'une publication scientifique.

8.3. Marqueurs microsatellites « non-neutres »

8.3.1. Rappel des objectifs

L'objectif de ce travail était de déterminer des marqueurs qui renseignent sur des fonctions biologiques telles que l'immunité, l'allocation en énergie et la détoxification chez le thon germon. Nous souhaitons également travailler sur des marqueurs variables permettant de définir des signatures de structuration populationnelle. Pour cela, nous avons mis en place deux démarches. La première était de chercher des marqueurs microsatellites localisés sur des séquences codantes. Cette approche nous a permis de trouver deux marqueurs en lien avec des séquences jouant un rôle dans l'immunité et l'allocation en énergie. La seconde démarche était d'utiliser et de tester des marqueurs existants dans la bibliographie sur le thon germon. Certains de ces marqueurs en lien avec l'allocation en énergie et la reproduction n'ont pas été satisfaisants (amplifications trop faibles et séquençages illisibles) et nous n'avons pas pu les utiliser. Cependant, nous sommes parvenus à utiliser et améliorer un marqueur qui code pour la métallothionéine. L'ensemble des analyses génétiques sont présentées dans ce chapitre en essayant de faire le lien avec les travaux précédents sur les contaminants.

8.3.2. Marqueurs microsatellites localisés sur des séquences codantes

Parmi les marqueurs microsatellites développés, 3 marqueurs ont été localisés sur des séquences correspondantes à des gènes dont la fonction est connue. Ces résultats ont été obtenus par alignement de la séquence totale développée lors de la production de la banque de marqueur microsatellite. Ces séquences de 138 pb pour ThuAla-Hki-01 et 203 pb ThuAla-Tcell-01 ont été localisées dans des séquences dont les fonctions physiologiques et biologiques sont connues à partir de la base GenBank NR and BOLD.

Le marqueur ThuAla-Tcell-01 se trouve sur une séquence qui code pour les protéines FERM et PDZ contenant le domaine « -1-like ». Ce domaine est une protéine impliquée dans la localisation des protéines de la membrane plasmique et elle est indispensable pour le signal

récepteur des cellules T transduction (Bauler et al. 2008). Ce marqueur est supposé fournir des informations sur le système immunitaire.

Le marqueur ThuAla-Hki-01 se trouve sur une séquence qui code pour l'hexokinase I. L'hexokinase I est une des quatre hexokinases qui participent à la glycolyse, elle joue donc un rôle important dans une large gamme de processus cellulaires en particulier dans la fourniture l'énergie dans les cellules musculaires.

Le marqueur ThuAla-Tyr-01 se trouve sur une séquence qui code pour le récepteur tyrosine-protéine phosphatase de type « N-like » (PTPRN). Il s'agit d'une enzyme qui régule divers processus cellulaires (croissance cellulaire, la différenciation, le cycle mitotique et la transformation oncogène), mais son rôle réel n'est pas connu chez les poissons. Il pourrait avoir un rôle général sur les fonctions neuroendocriniennes, comme chez les humains.

Dans cette étude, nous avons étudié la variabilité des marqueurs ThuAla-Tcell-01 et ThuAla-Hki-01 sur l'ensemble des thons germon échantillonnés (1874).

8.3.2.1. Marqueur ThuAla-Tcell-01

Le marqueur ThuAla-Tcell-01 est très variable (0,91-0,85) (Tableau 39). Sur l'ensemble des zones, exceptée la zone B, l'hétérozygotie observée est moins élevée que l'hétérozygotie attendue (déficit de la variabilité génétique). La diversité génétique observée est la moins élevée pour la zone C, zone comprenant en majorité des individus immatures. Deux hypothèses pourraient se dégager. La première tendrait vers une sélection naturelle au cours du cycle de vie de l'espèce augmentant la diversité de l'espèce, puisque les individus de la zone C proviennent de la même population que ceux de la population D (majoritairement des adultes). La seconde hypothèse se baserait sur les différences de générations entre les individus de C et de D. Les individus de C (majoritairement des immatures) proviennent de générations plus récentes que les individus de D (majoritairement des adultes). Ce qui signifie que les différences de la diversité génétique observées entre C et D proviendraient d'un appauvrissement récent (quelques générations) de la diversité génétique pour cette population de l'Atlantique. Les profils de distributions des fréquences alléliques comportent également des différences. Un allèle présente une fréquence plus élevée dans la zone A (Figure 78) mais aucun allèle privée entre zone n'a été détecté.

Tableau 39. Nombre d'allèles (Nb all), hétérozygotie attendue (Hexp), hétérozygotie attendue non-biasée (Hnb) et hétérozygotie observée (Hobs) par zone géographique (A, B, C, D) chez le thon germon pour le marqueur ThuAla-Tcell-01 et ThuAla-Hki-01.

Area	ThuAla-Tcell-01				ThuAla-Hki-01			
	Nb all	Hexp	Hnb	Hobs	Nb all	Hexp	Hnb	Hobs
A	25	0,91	0,91	0,89	15	0,23	0,23	0,21
B	22	0,91	0,91	0,92	8	0,22	0,22	0,20
C	23	0,91	0,91	0,85	12	0,24	0,24	0,23
D	23	0,90	0,91	0,89	9	0,26	0,26	0,26

Nous avons également étudié les comparaisons de la distribution des indices d'affectation (assignement) entre les sexes afin de détecter la présence de dispersion sexuelle. Nous avons utilisé l'indicateur d'assignement moyen (AIC) obtenu par le logiciel GENALEX pour chaque sexe selon la méthode de Mossman et Waser (1999). La valeur moyenne de l'AIC est négative chez les femelles et positive chez les mâles sur le groupe A-B, et C, ainsi qu'en regroupant A-B-C. Cependant, les écart-types et les quantiles autour de la moyenne sont trop importants (exemple avec le groupe A-B-C, Figure 79) sur l'ensemble des analyses ce qui ne permet pas de montrer de biais sexuel pour le marqueur ThuAla-Tcell-01.

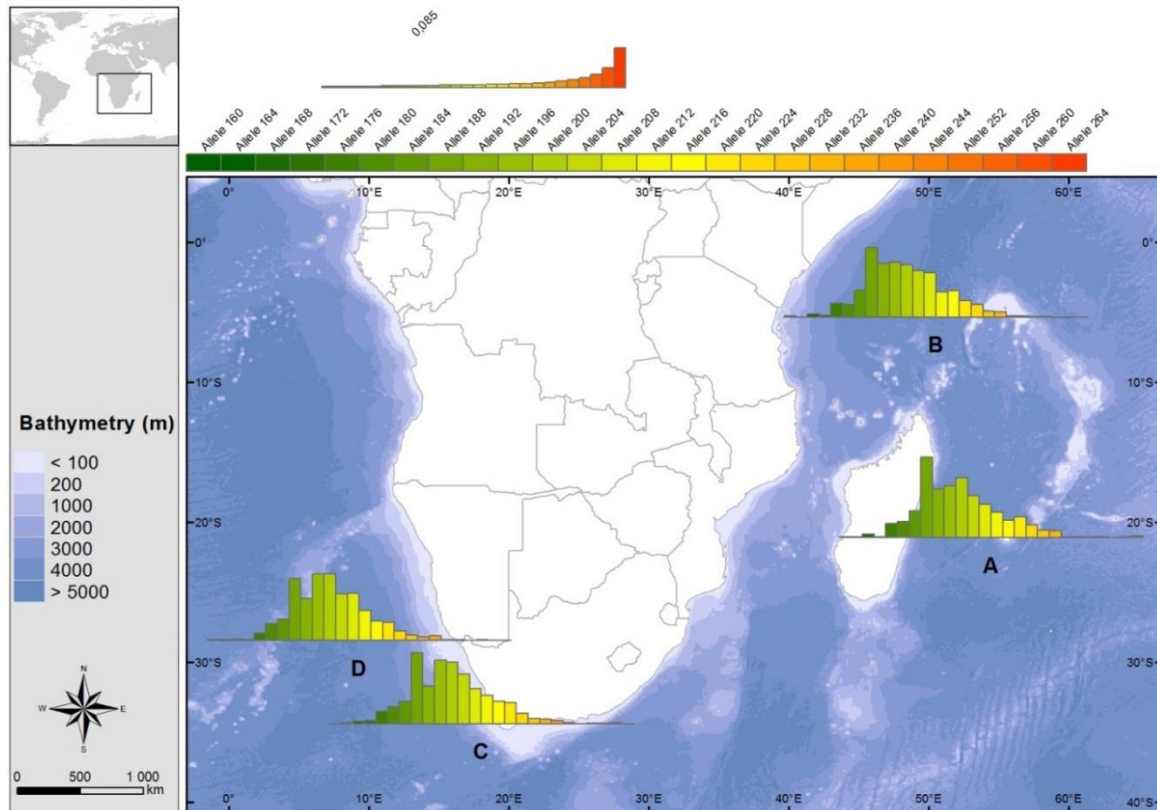


Figure 78. Distribution des fréquences alléliques du marqueur ThuAla-Tcell-01 chez le thon germon en fonction des zones géographiques (A, B, C, D).

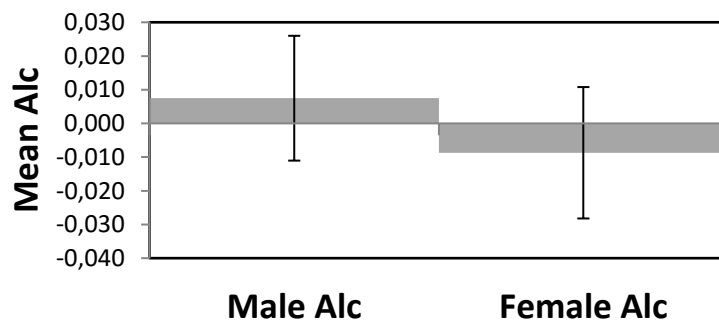


Figure 79. AIC moyen avec l'erreur standard et les quantiles chez les mâles et les femelles de thon germon provenant du groupe A-B-C avec le marqueur ThuAla-Tcell-01.

8.3.2.2. Marqueur ThuAla-Hki-01

Concernant le marqueur ThuAla-Hki-01, la variabilité génétique est très faible (0,20-0,26) (Tableau 39). Un allèle est majoritaire sur toutes les populations (allèle 9) et 4 allèles privés sont présents au sein des individus provenant de la zone A et 1 allèle au sein des individus provenant de la zone C. Ce résultat suppose des différences de sélection entre ces deux zones comparées aux autres. Le déficit d'hétérozygotie n'est pas présent dans la zone D alors que le nombre d'allèles est moins élevé. La longueur du microsatellite est la plus importante pour la zone A et la plus faible pour les zones B et D. La prépondérance d'un allèle et la variabilité entre sites d'études va dans le sens d'une distorsion de ségrégation contrebalancée plus fortement à La Réunion (zone A).

Nous avons également étudié les comparaisons de la distribution des indices d'affectation (assignement) entre les sexes afin de détecter la présence de dispersion sexuelle. Nous avons utilisé l'indicateur d'assignement moyen (AIC) obtenu par le logiciel GENALEX pour chaque sexe selon la méthode de Mossman et Waser (1999). Des AIC négatifs caractérisent des individus avec une forte probabilité d'être des migrants (se dispersent), tandis que des valeurs positives caractérisent des individus avec une faible probabilité d'être des migrants. Les valeurs moyennes d'AIC pour chaque sexe ont ensuite été comparées avec un test U non paramétrique de Mann-Whitney (aussi appelé le Mann-Whitney-Wilcoxon, MWW). La valeur moyenne de l'AIC est négative chez les femelles et positive chez les mâles (Figure 80). Les faibles écart-types et quantiles laissent à penser que ce locus se disperse par le biais des femelles. Cependant le test MWW n'est pas significatif ($p = 0,1453$) et l'hypothèse nulle (la dispersion par sexe est identique) ne peut donc pas être rejetée.

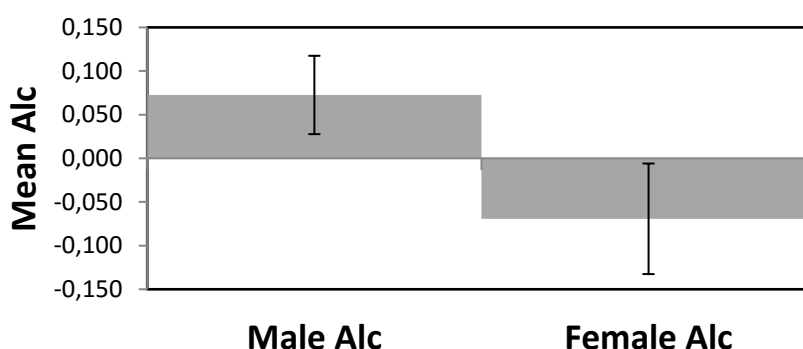


Figure 80. AIC moyen avec l'erreur standard et les quantiles chez les mâles et les femelles de thon germon provenant du groupe A-B-C avec le marqueur ThuAla-Hki-01.

8.3.3. Marqueurs de la métallothionéine

Les métallothionéines sont protéines qui permettent la régulation des teneurs internes en métaux essentiels comme le cuivre et le zinc. Ces protéines jouent également un rôle majeur en modulant la toxicité de certains métaux non-essentiels comme le mercure et le cadmium. Dans ce volet, nous avons déterminé et étudié une séquence d'ADN qui code pour le gène de la métallothionéine afin de déterminer s'il existe des liens avec les valeurs des métaux essentiels et non-essentiels trouvées dans le muscle du thon germon. Il est à noter que les

résultats de cette partie sont à ce stade préliminaires et qu'ils seront approfondis dans un second temps.

8.3.3.1. Descriptif technique

Le couple d'amorce (METF et METR) développés par Rolland et al. (2007) pour la sole (*Solea solea*) correspond à une séquence qui se trouve au niveau du gène de la métallothionéine. Ces amorces ont été testées à différentes températures d'hybridation sur le thon germon sans succès.

METF (sens : 5'ATGA (CT) CCTTG (CT) GA (AC) TGCTC3 ') et METR (anti-sens : 5'GCAGGA (GT) CCTCCGAGTTGC3').

Nous avons ainsi aligné les amorces de Rolland et al. (2007) par BLAST NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) sur les séquences codantes de la métallothionéine chez différentes espèces de poisson. Pour l'amorce sens, un alignement a été fait sur les espèces suivantes : *Oncorhynchus mykiss*, *Salmo salar*, *Salvelinus alpinus*, *Sparus aurata*, *Esox lucius*, *Chionodraco rastrospinosus*, *Pagotheni borchgrevinki*, *Notothenia coriiceps*, et *Salmo gairdneri*. Pour l'amorce anti-sens, un alignement a été fait sur les espèces suivantes : *Dicentrarchus labrax*, *Oplegnathus fasciatus*, *Cygnodraco mawsoni*, *Trematomus eulepidotus*, *Siniperca chuatsi*, *Chionodraco hamatus*, et *Morone saxatilis*. Ces alignements nous ont permis de développer l'amorce METF-Ala (sens: 5'ATG(AG)(CA)CCTTG(CT)GA(AC)TGCTC3') et METR-Ala (anti-sens : 5'GCAGGA(GT)CC(TA)CCGAGTTGC3') qui fonctionnent sur le thon germon à une température d'hybridation à 54°C. Les concentrations des produits d'amplification sont présentées dans le Tableau 40 et les conditions sur un Thermocycleur Applied Biosystems sont les suivantes: 5 minutes (min) de dénaturation initiale à 95°C ; 35 cycles avec 45 secondes (s) de dénaturation à 94°C, 45 s d'hybridation à la température optimale de 54°C et 1 min d'élongation à 72°C ; enfin 5 min de synthèse finale à 72°C.

Tableau 40. Concentrations et volumes des réactifs PCR pour amplifier l'ADN dans un volume final de 25 µL.

	Concentration initiale	Concentration Finale	Volume
Tampon	(10X)	1X	2,5µL
dNTP	(2000µM)	200µM	2,5µL
MgCl2	(25mM)	1,5mM	0µL
Amorce sens	(10µM)	0,5µM	1,25µL
Amorce anti-sens	(10µM)	0,5µM	1,25µL
Taq	(5U/µL)	1U	0,1µL
H2O	Qsp	Qsp	12,4µL
ADN		5ng	2µL

Un total de 432 individus a été séquencé et deux témoins négatifs par plaque ont été ajoutés pour contrôler l'absence de contamination. L'ensemble des plaques PCR ne présentait aucune contamination. Les séquences ont été lues séparément (sens (forward) et anti-sens (reverse)) et une séquence consensus a été produite pour chaque individu. Faute de temps, nous avons analysé seulement les séquences consensus. La longueur moyenne des séquences consensus était de 165 pb (minimum 91 pb, maximum 175 pb).

Les diversités haplotypiques et nucléotidiques, ainsi que le D de Tajima (Tajima 1989), ont été calculés à l'aide du logiciel Arlequin 3.5. Les relations entre les différents haplotypes identifiés de notre séquence codante pour la métallothionéine chez le thon germon pourront être construites suivant la méthode du réseau recouvrant minimum (minimum spanning network) grâce au logiciel PopART1.7.

8.3.3.2. Résultats préliminaires et futurs

Sur les 432 individus séquencés, un total de 364 individus a pu être analysé faute d'un signal trop faible pour 69 individus. Le D de Tajima global a été estimé avec 10 000 permutations sous le logiciel Arlequin et il est négatif. Ce résultat suppose la présence de sélection importante ou d'un goulot d'étranglement récent et sévère avec un rétablissement, voir expansion, de la population. Les analyses supplémentaires consisteront à établir des groupes en fonction des zones géographiques, de leur sexe, et également de la concentration en métaux trouvés (partie 8.2) pour une représentation sous un réseau d'haplotypes.

8.3.4. Conclusion

Dans cette partie, nous avons étudié différents microsatellites localisés au niveau de gènes liées à des fonctions d'intérêts chez le thon germon. Le marqueur ThuAla-Hki-01 est un motif microsatellite qui se trouve sur l'emplacement d'un gène qui participe à la glycolyse et qui jouerait un rôle important dans une large gamme de processus cellulaires, en particulier dans l'allocation en énergie au niveau des cellules musculaires. L'étude de ce motif microsatellite entre sites montre une distorsion de ségrégation, par la surreprésentation d'un allèle, contrebalancée plus fortement à La Réunion (zone A).

Les amorces de la séquence qui se trouvent au niveau du gène qui code pour la métallothionéine chez le thon germon ont été optimisées. Les analyses pour distinguer les différences entre groupes sont en cours.

9. Synthèse générale

ACTION	Titre de l'action	Principaux résultats sur le thon germon	Paragraphe dans le rapport
Action 1	Statistique de pêche	Standardisation des données de Capture Par Unité d'Effort de la Pêche palangrière réunionnaise.	4
		Diminution de 2003 à 2010, puis fluctuation.	4
Action 2	Données Biométrie et Biologique	Relation Taille-Taille et Taille-Poids zone Réunion, Seychelles et Afrique du Sud réalisées.	5
		Mâle plus grands que les femelles.	5
		Individus de petites tailles en Afrique du Sud (immatures) et de grandes tailles à La Réunion et aux Seychelles.	5
		Le poids en fonction de la taille est plus important chez les femelles que les mâles à La Réunion.	5
		Le poids moyen est le plus élevé chez les individus des Seychelles.	5
Action 3	Identification des liens existants entre les stocks Indien et Atlantique Sud	Délimitation de deux stocks: Sud-ouest océan Indien (La Réunion & Seychelles) et Atlantique Sud-est.	6
		Les individus d'Afrique du sud sont affiliés au groupe de l'Atlantique Sud-est.	6
		Migration élevée entre les deux stocks.	6
		Migration en lien avec les distances géographiques.	6
		Migration asymétrique.	6
		Dispersion des mâles plus importante que les femelles.	6
Action 4A	Hypothèse des lieux de reproduction	Le germon se reproduit principalement en été austral.	7.1
		Développement ovarien asynchrone chez les femelles.	7.1
		Pas, ou peu, d'individus en reproduction aux Seychelles et en Atlantique Sud. Individus immatures en Afrique du Sud.	7.1
		Présence de plus de mâles que de femelles ainsi que d'individus avancés en stade de reproduction à La Réunion.	7.1
		La région de La Réunion correspond à la zone principale de reproduction du germon dans le Sud-ouest de l'océan Indien.	7.1
Action 4B	Hypothèse des lieux d'alimentation	Les individus des deux stocks proviendraient d'un ancêtre commun qui aurait subi plusieurs phénomènes de divergence.	7.2
		Comportement grégaire et en bancs libres en Afrique du Sud et dans la zone MONS (Seychelles).	7.2
		Comportement grégaire moins prégnant et en petits groupes plus profonds dans le Canal de Mozambique et en zone ISSG (La Réunion).	7.2
		Biodiversité en proies forte en zone ISSG (La Réunion) et dans le Canal du Mozambique.	7.2
		Biodiversité en proies faible en zone MONS (Seychelles) et Afrique du Sud.	7.2
		Les signatures isotopiques reflètent des disponibilités en proies par zone.	7.2

		Différence des concentrations de lipides dans le foie et le muscle entre les sexes à La Réunion. Ce résultat suppose une allocation d'énergie différente dont plus pour la reproduction chez les femelles.	7.2
Action 5	Structure du germon en fonction de son habitat	Les niveaux de contamination en PCB/DDT sont faibles et en dessous des limites sanitaires.	8.1
		Les individus de La Réunion montrent des niveaux en PCB/DDT inférieurs à ceux de l'Afrique du Sud.	8.1
		La concentration en contaminant (PCB/DDT) est la plus variable sur les femelles de La Réunion probablement à cause de leur reproduction.	8.1
		Les poissons des zones A et C montrent des différences de profils en PCB et DDT.	8.1
		Les concentrations des métaux (ETM) sont en dessous des teneurs maximales autorisées par la Commission Européenne, excepté pour le cadmium en Afrique du Sud pour une partie des individus.	8.2
		Les analyses sur les métaux montrent une différenciation entre les zones (A, B, et C) avec une proximité plus forte entre A et B.	8.2
		ThuAla-Hki-01 (marqueur qui se trouve sur une séquence qui code pour l'hexokinase I) montre une distorsion de ségrégation contrebalancée plus fortement à La Réunion.	8.3

10. Indicateurs de production

Web :

- <http://wwz.ifremer.fr/lareunion/Les-projets/GERMON-en-cours>
- <http://wwz.ifremer.fr/L-institut/Actualites/Projet-GERMON-Structure-genetique-et-migration-du-thon-GERMON-Atlantique-sud-et-ouest-ocean-Indien>

Publication parues :

- Nikolic N, Fonteneau A, Hoarau L, Morandeau G, Puech A, Bourjea J (2014). Short review on biology, structure, and migration of *Thunnus alalunga* in the Indian Ocean. IOTC–2014–WPTmT05–13.
- Coelho R, Nikolic N, Evano H, Santos MN, Bourjea J (2014) Reunion Island pelagic longline fishery characterization and standardization of albacore catch rates. IOTC–2014–WPTmT05–12.
- Nikolic N, Bourjea J (2012). Analysis of the genetic structure and life history of albacore tuna in terms of diversity, abundance and migratory range at the spatial and time scales: Project GERMON (GENeticstRucture and Migration Of albacore tuNa). Indian Ocean Tuna Commission - IOTC 15th Scientific Committee.
- Nikolic N, Duthoy S, Destombes A, Bodin N, West W, Puech A, Bourjea J (2015). Discovery of genome-wide microsatellite markers in Scombridae: a pilot study on albacore tuna. Plos One.
- Munsch C, Bodin N, Potier M, Héas-Moisan K, Pollono C, Degroote M, West W, Hollanda SJ, Puech A, Bourjea J, Nikolic N (2016). Persistent Organic Pollutants in Albacore Tuna (*Thunnus alalunga*) from Reunion Island (Southwest Indian Ocean) and South Africa in Relation to Biological and Trophic Characteristics. Environmental Research.

Présentation:

- Présentations lors 9ème symposium WIOMSA (26-31/10/2015) Wild Coast Sun South Africa.

Publication soumise :

- Nikolic N, Morandeau G, West W, Hoarau L, Arrizabalaga H, Puech A, Hoyle S, Nicol S, Farley JH, Williams J, Bourjea J, Fonteneau A. A review of the fishery, biology, and ecology of albacore tuna, *Thunnus alalunga*. Reviews in Fisheries Science.

Publications et présentations en préparation :

- Nikolic N, Bodin N, Arnaud-Haond S, Puech A, West W, Lalire M, Gaspar P, Kerwath S, Hollanda S, Bourjea J, Bonhommeau S. Across two oceans: connectivity and structure of albacore tuna populations.
- Dhurmeea Z, Zudaire I, Chassot E, Cedras M, Nikolic N, Bourjea J, West W, Appadoo C, Bodin N. Reproductive biology of albacore tuna (*Thunnus alalunga*) in the Western Indian Ocean.
- Nikolic N, Chouvelon T, Munsch C, Bodin N, Michel Potier, Maxime Degroote, Brach-Papa C, Brind'Amour A, Hoarau L, Knoery J, Puech A, Bourjea J, West W, Kerwath S, Hollanda S, *Ind.* Multimarkers approach inferring demographic pattern of albacore. (*Ind*) – Indéterminé à ce jour.
- Publication sur le comportement alimentaire du Germon (isotopes, Contenus stomacaux, lipides et acides gras), les traceurs trophiques et la maturité sexuelle. En accord avec la convention informelle. Leader du papier : IRD en associant les responsables du projet GERMON (Nikolic N et Bourjea J), ainsi que les responsables échantillonnages (DAAF et SFA).
- Publication sur la bioaccumulation des différents types de contaminants (organiques et métalliques) chez le germon. Leader du papier : LBCM en partenariat avec LBCO, les responsables du projet GERMON (Nikolic N et Bourjea J), l'IRD, et le partenaire DAFF pour zone C et SFA pour zone B.

11. Bilan Financier du projet

Le bilan du relevé de dépenses Ifremer sur le projet GERMON est présenté dans le Tableau 41. Pour mémoire ce projet est financé à 75% FEP (Chapitre 027-01), 6,43% Etat (Bop 205) et 18.57% Ifremer. L'ensemble des pièces justificatives datées et visé du commissaire au compte de l'Ifremer a été transmis au service instructeurs selon les termes de la convention (Ref DMSOI : 39704/DMSOI/2013 ; Ref Ifremer : IFR N° 13/1210964/FAV).

Postes de dépenses	Coût prévisionnel présenté (€ Hors TVA)	Coût prévisionnel retenu (€ Hors TVA)	Total relevé (€ Hors TVA)
Echantillonnage	54,400.0 €	54,400.0 €	46,684.4 €
Transport échantillons	7,128.9 €	7,128.9 €	7,484.2 €
Consommables génétiques	29,530.4 €	29,530.4 €	39,289.9 €
Analyses génétiques	134,271.1 €	134,271.1 €	163,055.1 €
Analyses histologiques/chimiques	56,903.5 €	56,903.5 €	42,089.2 €
Standardisation des données	7,500.0 €	7,500.0 €	7,500.0 €
Missions - Réunions de Travail	25,804.0 €	25,804.0 €	12,003.6 €
Communication annexes	2,253.0 €	0.0 €	0.0 €
Salaires et frais de personnel liés au projet	151,125.5 €	151,125.5 €	221,145.7 €
Frais de structure	95,209.1 €	0.0 €	136,712.2 €
Total dépense (Hors TVA)	564,125.5 €	466,663.4 €	675,964.3 €

Tableau 41. Bilan du relevé de dépense total du projet GERMON en fonction des postes de dépenses.

12. Glossaire

Une partie de ces définitions sont tirées de la thèse de N. Nikolic (2009).

- ADN

L'acide désoxyribonucléique (ADN) est une molécule composée de deux brins complémentaires, enroulés en hélice, dont chacun des brins est une succession de nucléotides accrochés par des liaisons phosphodiester. Il existe 4 nucléotides (adénosine (A), Cytidine (C), Guanosine (G) et Thymidine (T)) produisant un code génétique précis par son ordre sur chacun des brins.

- ADN mitochondrial

ADN mitochondrial correspond au génome à l'intérieur de la mitochondrie (organite produisant l'énergie cellulaire).

- Allèle

L'allèle est une version d'un gène (locus génétique).

- Assignation

Un test d'assignation est une méthode qui « assigne » chaque individu à la population où son génotype a la plus forte probabilité de se trouver. Plus la proportion d'individus assignés à une population autre que leur population d'origine est faible et plus le niveau de différenciation entre populations est fort. Généralement cette méthode utilise les rapports de vraisemblance : par exemple le rapport de vraisemblance entre la population dans laquelle l'individu a été échantillonné (population d'origine) et la plus forte vraisemblance parmi toutes les populations. Les méthodes Bayésiennes et fréquentielles sont souvent plus performantes que celles basées sur les distances (voir Cornuet et al. 1999 pour une étude comparative).

- Chaîne de Monte Carlo Markov (MCMC)

En probabilité un processus stochastique vérifie la propriété markovienne si la distribution conditionnelle de probabilité des états futurs, étant donné l'instant présent, ne dépend que de ce cet état présent (ou d'un nombre fini d'états passés). Un processus qui possède cette propriété ne dépendre que de l'état présent est appelé processus de Markov « du premier ordre ». La notion se généralise si le futur ne dépend que d'un nombre fini d'états antérieurs.

- Coalescence

La théorie de la coalescence (Kingman, 1982) décrit le processus de fusion (coalescence) des lignages généalogiques des copies alléliques présentes dans une population. Dans cette théorie, les mutations surviennent le long des lignages selon un processus aléatoire de Poisson. L'idée est de retracer l'histoire généalogique d'une population jusqu'à l'ancêtre commun le plus récent (MRCA). Pour cela, elle considère que 2 gènes à la génération 'g' sont copies d'un même gène à la génération précédente 'g-1' avec une probabilité de un sur deux fois la taille efficace ($1/2N_e$) comme dans les approches classiques de Wright (1931) ou de Malécot (1948), et généralise ce raisonnement au cas d'un échantillon de plusieurs gènes.

- Contenu de l'information polymorphisme (PIC)

Mesure relative de l'informativité d'un marqueur, qui dépend du nombre d'allèles de ce marqueur et sa fréquence relative au sein du groupe d'individu étudié.

- **Distance génétique**

Les mesures de distance génétique résument la quantité des divergences génétiques entre les couples d'individus, de populations ou d'espèces. Il existe plusieurs mesures de distance génétique dont beaucoup sont reliées au Fst.

- **Microsatellite**

Un microsatellite est une séquence d'ADN constituée de motifs répétés composés de 2 à 10 nucléotides (exemple : ATATATAT).

- **Ontogenèse**

L'ontogenèse (ou ontogénie) décrit le développement progressif d'un organisme vivant, généralement de sa conception jusqu'à sa mort.

- **Polymorphisme**

Est un terme employé en génétique pour désigner la présence de plusieurs allèles pour un locus donné.

- **Séquence génétique**

Est une série d'éléments, en génétique 4 nucléotides (adénine « A », guanine « G », thymine « T », cytosine « C »), formant l'enchaînement des brins de l'ADN.

- **Distance Euclidienne**

Soit deux points x et y définie par les vecteurs (x_1, \dots, x_n) et (y_1, \dots, y_n) respectivement. La distance euclidienne entre ces deux points s'écrit alors:

$$d = \sqrt{\sum_{i=1}^n |x_i - y_i|^2}$$

- **Fréquence génotypique**

Une fréquence génotypique est le rapport du nombre d'individus d'un génotype (gène avec une combinaison allélique précise) sur le nombre total d'individus de la population.

- **Fréquence allélique**

Une Fréquence allélique est le rapport du nombre d'un allèle sur le nombre total d'allèles présents dans la population au locus considéré.

- **Gène**

Unité physique et fonctionnelle de l'hérédité, qui transmet l'information d'une génération à l'autre. C'est un segment d'ADN qui inclut une section transcrite et des éléments régulateurs qui permettent sa transcription.

- **Génome**

L'effectif complet du matériel génétique d'un organisme.

- **Génétique des populations**

Est une science issue de la génétique qui étudie l'hérédité et les gènes, et plus spécifiquement la distribution et les changements de ces derniers dans des populations. Elle fait appel aux concepts majeurs de l'évolution (processus de sélection naturelle, dérive génétique, mutations, recombinaisons, migration et spéciation).

- **Génotype d'un individu**

Représente la composition allélique des gènes d'un individu donné.

- **Hardy-Weinberg**

La loi de Hardy-Weinberg a été établie en 1908 par l'anglais Hardy et l'allemand Weinberg et s'énonce comme suit :

Dans une population fermée, d'effectif illimité, non soumise à la sélection ni aux mutations, et où les unions se font au hasard, les fréquences géniques restent constantes de génération en génération, de même que les fréquences génotypiques, celles-ci pouvant se déduire de la connaissance des fréquences géniques.

Ainsi le test de Hardy-Weinberg est un test d'équilibre entre les fréquences génotypiques attendues et les fréquences génotypiques observées dans la population. Une population sous équilibre Hardy-Weinberg est une population à effectif illimité, qui conserve une fréquence génique constante au cours des générations, en l'absence de migration, de mutation et de sélection. Ainsi les fréquences génotypiques attendues par la loi de Hardy-Weinberg sont évaluées en supposant une population fermée et un régime panmictique. Connaissant les fréquences de chaque allèle pour un locus donné, la proportion des individus hétérozygotes et homozygotes doit respecter cet équilibre. Ainsi les fréquences génotypiques attendues pour un locus donné à deux allèles A_1 et A_2 peuvent s'écrire:

$$A_1A_1 : p^2$$

$$A_1A_2 : 2pq$$

$$A_2A_2 : q^2$$

Avec p la fréquence de l'allèle A_1 et q la fréquence de l'allèle A_2 .

Ainsi pour une fréquence allélique A_1 de 0,6 et A_2 de 0,4, une population à l'équilibre Hardy-Weinberg aura la constitution génotypique suivante :

$$A_1A_1 = 0,36 \qquad A_1A_2 = 0,48 \qquad A_2A_2 = 0,16.$$

Si les fréquences génotypiques observées dans la population sont différentes des fréquences attendues alors on dit que la population n'est pas à l'équilibre Hardy-Weinberg.

Le calcul des écarts est généralement évalué par le test du χ^2 qui pose l'hypothèse nulle (H_0 , la population se reproduit au hasard). Si la probabilité d'obtenir les valeurs du χ^2 observées est plus petite que 0,05 (dans le rang $0 < p < 0,05$), nous pouvons conclure que les résultats sont significatifs et que l'hypothèse nulle est rejetée en faveur de l'hypothèse H_1 = la population ne se reproduit pas au hasard.

- **Haplotype**

Un haplotype est un ensemble de variation au niveau de l'ADN qui a tendance à être transmis ensemble. Il peut donc faire référence à une combinaison d'allèles ou un groupe de SNP (Single Nucleotide Polymorphism) trouvés sur le même chromosome.

- Hétérozygotie attendue

Cette hétérozygotie fait intervenir les lois d'Hardy-Weinberg (voir Test de Hardy-Weinberg). Supposons que l'allèle A soit représenté par la fréquence $p = 1 - q$ et l'allèle a par la fréquence $q = 1 - p$. Alors un individu est homozygote pour ce locus si il possède les allèles aa ou AA et aura une fréquence génotypique de q^2 ou p^2 respectivement. Il sera hétérozygote s'il possède la combinaison Aa dont la fréquence génotypique est : $1 - q^2 - p^2$.

L'hétérozygotie attendue dans la population peut se calculer de façon générale comme :

$$He = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2,$$

avec k allèles A_i de fréquences p_i dans la population.

- Hétérozygotie attendue totale

L'hétérozygotie attendue totale (Ht) est l'hétérozygotie attendue sur un ensemble de populations, en supposant que les populations forment une seule population.

Si \bar{p}_i est la fréquence du i -ème allèle moyennée sur l'ensemble des populations, Ht s'écrit :

$$Ht = 1 - \sum_{i=1}^k \bar{p}_i^2.$$

- Hétérozygotie observée

L'hétérozygotie observée (H_o) est la fréquence des locus hétérozygotes sur l'ensemble des locus dans la population.

- F-statistiques de Wright

Les F-statistiques (F_{st} , F_{is} , F_{it}) de Wright (1978) sont largement utilisées pour caractériser la structure génétique des populations à partir des fréquences génétiques. Prenons le cas de populations divisées en sous-populations. Trois niveaux hiérarchiques peuvent être observés: celui de l'individu (i), celui de la sous-population à laquelle il appartient (s), et enfin celui de la population considérée dans son ensemble (t). Wright a défini l'hétérozygotie génétique de ces niveaux par les paramètres suivants :

H_i : Hétérozygotie observée dans la population globale.

H_s : Hétérozygotie attendue pour une sous-population supposée à l'équilibre Hardy-Weinberg.

H_t : Hétérozygotie attendue dans la population globale (hétérozygotie attendue totale) supposée à l'équilibre Hardy-Weinberg.

Le premier indice, F_{is} , est alors défini par rapport à la moyenne des H_s sur les k sous-populations ($\overline{H_s}$) :

$$F_{is} = (\overline{H_s} - H_i) / \overline{H_s}$$

Cet indice mesure la diminution d'hétérozygotie à l'intérieur des sous-populations, due à la consanguinité ou à l'homogamie, voire à la sélection. Il prend ses valeurs entre -1 et 1 . Si $F_{is} > 0$ les sous-populations présentent un déficit d'hétérozygotes, si $F_{is} < 0$ au contraire un excès en hétérozygotes (lié, par exemple, à un flux migratoire important provoquant un effet d'hétérogamie). Si $F_{is} = 0$ alors les sous-populations sont à l'équilibre de Hardy-Weinberg.

L'effet de la subdivision ou de cohésion entre les sous-populations et la population totale est exprimé par l'indice de fixation suivant :

$$F_{st} = (H_t - \overline{H_s}) / H_t$$

Ce paramètre décrivant la différenciation génétique entre les populations peut être également utilisé comme distance génétique. Il prend ses valeurs entre -1 et 1 . Si toutes les sous-populations ont la même fréquence allélique et sont à l'équilibre, F_{st} est nul. Dans le cas contraire, les sous-populations ont des fréquences alléliques moyennes différentes. Ces différences sont généralement induites par l'action conjuguée de la dérive, qui diversifie les populations, et de la migration, qui tend à les homogénéiser. Notons que dans le cas d'un effet Wahlund H_t sera plus grande que H_s , et F_{st} sera positif.

Pour finir, la réduction d'hétérozygotie globale, qui prend en compte l'effet de la reproduction non panmictique et la différenciation génétique, est donnée par l'indice de fixation:

$$F_{it} = (H_t - H_i) / H_t$$

Cet indice peut s'écrire également en mettant en relation avec les deux autres indices :

$$(1 - F_{it}) = (1 - F_{is})(1 - F_{st})$$

Lorsque toutes les populations sont à l'équilibre de Hardy-Weinberg ($F_{is} = 0$), et si elles ont les mêmes fréquences alléliques alors $F_{st} = F_{it} = 0$.

- Permutations

Cette procédure permet de réaliser des tests de significativité des valeurs observées des estimateurs en effectuant un certain nombre de tirages sans remise sur l'ensemble des valeurs observées. Ces tirages permettent d'obtenir la distribution de l'estimateur sous une hypothèse nulle (H_0). La valeur observée sur les données réelles est ensuite comparée à la distribution obtenue et permet d'obtenir une estimation de la probabilité d'obtenir sous H_0 une valeur supérieure ou égale à la valeur observée. Les permutations permettent d'éviter les inconvénients signalés avec le test de Khi^2 , leur usage a été proposé par Brown (1970) pour F_{is} et Workman et Niswander (1970) pour F_{st} . Le test de permutations peut être effectué par un tirage sur i) l'ensemble des allèles toutes populations confondues (procédure utilisée pour tester l'hypothèse nulle $F_{it} = 0$) ii) sur l'ensemble des individus toutes populations confondues (procédure utilisée pour tester l'hypothèse nulle $F_{st} = 0$), iii) sur l'ensemble des allèles de chaque population (procédure utilisée pour tester l'hypothèse nulle $F_{is} = 0$ sur les locus).

- Valeur-p (p , dit *p-value* an anglais)

La valeur-p (p) est la probabilité d'obtenir la même valeur, ou plus extrême, si l'hypothèse nulle était vraie.

13. Références

- Ali U, Syed JH, Malik RN, Katsoyiannis A, Li J, Zhang G, Jones KC. 2014. Organochlorine pesticides (OCPs) in South Asian region: A review. *Sci Total Environ* 476-477, 705-717.
- Alonso C, Arrizabalaga H, Restrepo VR. 2005. Contribution of a chapter on Albacore albacore tuna for the revised ICCAT field manual. *Collective Volume of Scientific Papers. ICCAT* 58(5): 1646-1661.
- Antunes P, Amado J, Vale C, Gil O. 2007. Influence of the chemical structure on mobility of PCB congeners in female and male sardine (*Sardina pilchardus*) from Portuguese coast. *Chemosphere* 69, 395-402.
- Arrizabalaga H, Costas E, Juste J, González-Garcás A, Nieto B, López-Rodas V. 2004. Population structure of albacore *Thunnus alalunga* inferred from blood groups and tag-recapture analyses. *Marine Ecology Progress Series* 282: 245-252.
- Bard FX. 1981. Le Thon Germon (*Thunnus alalunga*, Bonnaterre 1788) de l'Océan Atlantique. De la dynamique des populations à la stratégie démographique. Thèse de Doctorat d'Etat. Université Pierre et Marie Curie. Paris XI.
- Barni MFS, Gonzalez M, Miglioranza KSB. 2014. Assessment of persistent organic pollutants accumulation and lipid peroxidation in two reproductive stages of wild silverside (*Odontesthes bonariensis*). *Ecotox Environ Safety* 99, 45-53.
- Bauler TJ, Hendriks WJAJ, King PD. 2008. The FERM and PDZ Domain-Containing Protein Tyrosine Phosphatases, PTPN4 and PTPN3, Are Both Dispensable for T Cell Receptor Signal Transduction. *Plos One*, 3:12.
- Beaumont MA. 1999. Detecting population expansion and decline using microsatellites. *Genetics* 153, 2013–2029.
- Blanchard JL, Frank KT, Simon JE. 2003. Effects of condition on fecundity and total egg production of eastern Scotian Shelf haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 60: 321-332.
- Bodin N, Budzinski H, Le Ménach K, Tapie N. 2009. ASE extraction method for simultaneous carbon and nitrogen stable isotope analysis in soft tissues of aquatic organisms. *Analytica Chimica Acta*, 643(1-2): 54-60.
- Boeing D. 2000. Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere* 40: 1335-1351.
- Bouwman H, Govender D, Underhill L, Polder A. 2015. Chlorinated, brominated and fluorinated organic pollutants in African Penguin eggs: 30 years since the previous assessment. *Chemosphere* 126, 1-10.
- Bourjea J, Lapègue S, Gagnevin L, Broderick D, Mortimer JA, Ciccione S, Roos D, Taquet C, Grizel H. 2007. Phylogeography of the green turtle, *Chelonia mydas* in the Southwest Indian Ocean. *Molecular Ecology*, 16: 175 – 186.
- Bowen BW, Bass AL, Rocha LA, Grant WS, Robertson DR. 2001. Phylogeography of the trumpetfishes (*Aulostomus*): ring species complex on a global scale. *Evolution*, 55, 1029–1039.
- Bravington MV, Grewe PM, Davies CR. 2014. Fishery-independent estimate of spawning biomass of Southern bluefin tuna through identification of close-kin using genetic markers. FRDC Report 2007/034. CSIRO, Australia.

- Breivik K, Gioia R, Chakraborty P, Zhang G, Jones KC. 2011. Are Reductions in Industrial Organic Contaminants Emissions in Rich Countries Achieved Partly by Export of Toxic Wastes? *Environ Sci Technol* 45, 9154-9160.
- Breivik K, Sweetman A, Pacyna JM, Jones KC. 2007. Towards a global historical emission inventory for selected PCB congeners - A mass balance approach-3. An update. *Sci Total Environ* 377, 296-307.
- Briggs JC. 1974. *Marine Zoogeography*. McGraw-Hill series in Population Biology, McGraw-Hill, New York.
- Brown AHD, 1970. The estimation of Wright's fixation index from genotypic frequencies. *Genetica* 41: 399-406.
- Brown-Peterson NJDM, Wyanski F, Saborido-Rey B, Macewicz J, Lowerre-Barbieri SK. 2011. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *Mar. Coast. Fish.* 3:52-70.
- Bustamante P, Caurant F, Fowler SW, Miramand P. 1998. Cephalopods as a vector for the transfer of cadmium to top marine predators in the north-east Atlantic Ocean. *Sci Total Environ* 220: 71-80.
- Canadian Council of Ministers of the Environment. 1999. Canadian tissue residue guidelines for the protection of wildlife consumers of aquatic biota: DDT.
- Canadian Council of Ministers of the Environment. 2001. Canadian tissue residue guidelines for the protection of wildlife consumers of aquatic biota: Polychlorinated biphenyls (PCBs). Updated. Canadian environmental quality guidelines, 1999, Winnipeg.
- Caurant F, Chouvelon T, Lahaye V, Mendez-Fernandez P, Rogan E, Spitz J, Ridoux V. 2009. The use of ecological tracers for discriminating populations: the case of the short-beaked common dolphin *Delphinus delphis* in the European Atlantic waters. International Whaling Commission, SC61/SM/34.
- Chen C, Amirbahman A, Fisher N, Harding G, Lamborg C, Nacci D, Taylor D. 2008. Methylmercury in marine ecosystems: Spatial patterns and processes of production, bioaccumulation, and biomagnification. *EcoHealth* 5: 399-408.
- Chen KS, Cronet PR, Hsu CC. 2010. Reproductive biology of albacore *Thunnus alalunga*. *J Fish Biol* 77, 119-136.
- Chen CY, Lai CC, Chen KS, Hsu CC, Hung CC, Chen MH. 2014. Total and organic mercury concentrations in the muscles of Pacific albacore (*Thunnus alalunga*) and bigeye tuna (*Thunnus obesus*). *Mar Pollut Bull* 85: 606-612.
- Chen KS, Shimose T, Tanabe T, Chen CY, Hsu CC. 2012. Age and growth of albacore *Thunnus alalunga* in the North Pacific Ocean. *J Fish Biol* 80: 2328-2344.
- Chen IC, Lee PF, Tzeng WN. 2005. Distribution of albacore (*Thunnus alalunga*) in the Indian Ocean and its relation to environmental factors. *Fisheries Oceanography* 14: 71-80.
- Cheung MS, Wang WS. 2008. Analyzing biomagnification of metals in different marine food webs using nitrogen isotopes. *Mar Pollut Bull* 56: 2082-2105.
- Choy CA, Popp BN, Kaneko JJ, Drazen JC. 2009. The influence of depth on mercury levels in pelagic fishes and their prey. *P Natl Acad Sci USA* 106: 13865-13869.
- CICTA. 2013. Report of the 2013 ICCAT North and South Atlantic albacore stock assessment meeting. Sukarrieta, Spain - June 17 to 24, 2013.
- Clark TB, Ma L, Saillant E, Gold JR. 2004. Microsatellite DNA markers for population-genetic studies of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*) and other species of genus *Thunnus*. *Molecular Ecology Notes*, 4:70-73.

- Cornuet JM, Piry S, Luikart G, Estoup A, Solignac M. 1999. New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* 153, 1989-2000.
- Corsolini S, Sara G, Borghesi N, Focardi S, 2007. HCB, p,p'-DDE and PCB ontogenetic transfer and magnification in bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) from the Mediterranean Sea. *Environ Sci Technol* 41, 4227-4233.
- Cossa D, Coquery M, Nakhlé K, Claisse D. 2002. Dosage du mercure et du monométhylmercure dans les organismes et les sédiments marins. Editions Ifremer.
- Covaci A, Gheorghe A, Hulea O, Schepens P. 2006. Levels and distribution of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in sediments and biota from the Danube Delta, Romania. *Environ Pollut* 140, 136-149.
- Crawley MJ. 2007. *The R Book*. John Wiley and Sons, Ltd.
- Cronin M, Davies IM, Newton A, Pirie JM, Topping G, Swan S. 1998. Trace metal concentrations in deep sea fish from the North Atlantic. *Mar Environ Res* 45: 225-238.
- Croteau MN, Luoma SN, Stewart AR. 2005. Trophic transfer of metals along freshwater food webs: evidence of cadmium biomagnification in nature. *Limnol Oceanogr* 50: 1511-1519.
- CTOI. 2014. Report of the fifth session of the IOTC working party on temperate tunas. Busan, Rep. of Korea, 28-31 July 2014. IOTC-2014-WPTmT05-R[E].
- CTOI. 2013. Proposition: Résumé exécutive: GERMON. IOTC-2013-SC16-ES01[F].
- Das K, Lepoint G, Loizeau V, Debacker V, Dauby P, Bouqueneau JM. 2000. Tuna and dolphin associations in the North-east Atlantic: Evidence of different ecological niches from stable isotope and heavy metal measurements. *Mar pollut Bull* 40: 102-109.
- Davies CA, Gosling EM, Was A, Brophy D, Tysklind N. 2011. Microsatellite analysis of albacore tuna (*Thunnus alalunga*): population genetic structure in the North-East Atlantic Ocean and Mediterranean Sea. *Marine Biology*, 158: 2727-2740.
- Duncan KM, Martin AP, Bowen BW, de Couet HG. 2006. Global phylogeography of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*) *Molecular Ecology*, 15:2239.
- Durand JD, Collet A, Chow S, Guinand B, Borsa P. 2005. Nuclear and mitochondrial DNA markers indicate unidirectional gene flow of Indo-Pacific to Atlantic bigeye tuna (*Thunnus obesus*) populations, and their admixture off southern Africa. *Marine Biology*, 147: 313-322.
- Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, 11: 2571-2581.
- Earl DA, vonHoldt BM. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* vol. 4 (2) pp. 359-361 doi: 10.1007/s12686-011-9548-7.
- European Commission. 2011. 1259/2011 (EC).
- European Commission. 2006. No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (text with EEA relevance).
- Evanno G, Regnaut Sand Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Molecular Ecology*, 14:2611-2620.
- Excoffier L, Lischer HE. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular ecology resources*, 10 : 564-567.

- Excoffier L, Laval G, Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.
- Excoffier L, Smouse P, Quattro J. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131, 479–491.
- Farley JH, Hoyle SD, Eveson JP, Williams AJ, Davies CR, Nicol SJ. 2014. Maturity ogives for South Pacific Albacore Tuna (*Thunnus alalunga*) that account for spatial and seasonal variation in the distributions of mature and immature fish. *PLOS ONE* 9, 1-14.
- Farley JH, Williams AJ, Hoyle SD, Davies CR, Nico SJ. 2013. Reproductive Dynamics and Potential Annual Fecundity of South Pacific Albacore Tuna (*Thunnus alalunga*). *PLoS ONE* 8, e60577.
- Govindajuru RD. 1989. Variation in gene flow levels among predominantly self-pollinated plants. *J Evol Biol*, 2:173-181.
- Fernandez MP, Ikononou MG, Courtenay SC, Wirgin II. 2004. Spatial variation in hepatic levels and patterns of PCBs and PCDD/Fs among young-of-the-year and adult Atlantic tomcod (*Microgadus tomcod*) in the Hudson River estuary. *Environ Sci Technol* 38, 976-983.
- Fonteneau A. 2008. A summarized presentation of the report of the 2nd IOTC WP of the albacore meeting held in Bangkok, November 1st 2008. [Power Point presentation]. IOTC-2008-SC-INF29.
- Fu J, Mai B, Sheng G, Zhang G, Wang X, Peng P, Xiao X, Ran R, Cheng F, Peng X, Wang Z, Tang UW. 2003. Persistent organic pollutants in environment of the Pearl River Delta, China: an overview. *Chemosphere* 52, 1411-1422.
- Govindajuru RD. 1989. Variation in gene flow levels among predominantly self-pollinated plants. *J Evol Biol* 2:173-181.
- Gray JS. 2002. Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist. *Mar Pollut Bull* 45: 46-52.
- Guo LL, Qiu YW, Zhang G, Zheng GJ, Lam PKS, Li X.D. 2008. Levels and bioaccumulation of organochlorine pesticides (OCPs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in fishes from the Pearl River estuary and Daya Bay, South China. *Environ Pollut* 152, 604-611.
- Hedrick P. 2005. Large variance in reproductive success and the N_e/N ratio. *Evolution* 59, 1596–1599.
- Heimbürger LE, Cossa D, Marty JC, Migon C, Averty B, Dufour A, Ras J. 2010. Methylmercury distributions in relation to the presence of nano- and picophytoplankton in an oceanic water column (Ligurian Sea, North-western Mediterranean). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74, 5549-5559.
- Hisamichi Y, Haraguchi K, Endo T. 2010. Levels of mercury and organochlorine compounds and stable isotope ratios in three tuna species taken from different regions of Japan. *Environ Sci Technol* 44, 5971-5978.
- Huang CS, Wu CL, Kuo CL, Su SC. 1990. Age and growth of the Indian Ocean albacore, *Thunnus alalunga*, by scales. *FAO/IPTP/TWS/90/53*: 111-112.
- Hunter JR, Macewicz BJ, Kimbrell CA. 1989. Fecundity and other aspects of the reproduction of sablefish, *Anoplopoma fimbria*, in central California waters. *California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations Reports* 30, pp. 61–72.
- IOTC–SC17. 2014. Rapport de la Dix-septième session du Comité scientifique de la CTOI. Seychelles, 8-12 décembre 2014. IOTC–2014–SC17–R[F] 382 pp.

- IOTC–WPTmT05. 2014. Rapport de la cinquième session du Comité scientifique de la CTOI sur les thons tempérés. Busan, Corée du Sud, 28-21 Juillet 2014. IOTC–2014–WPTmT05–R[E], 53 pp.
- ISC. 2010. Report of the ISC - albacore Working Group Workshop. Accessed 2012 Sep 27. Available: www.afrf.org/albwg3.pdf
- Jombart T. 2008. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24: 1403-1405. doi:10.1093/bioinformatics/btn129
- Jones KC, de Voogt P. 1999. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environ Pollut* 100: 209-221.
- Jürgens MD, Chaemfa C, Hugues D, Johnson AC, Jones KC. 2015. PCB and organochlorine pesticide burden in eels in the lower Thames River (UK). *Chemosphere* 118, 103-111.
- Kalantzi OI, Alcock RE, Johnston PA, Santillo D, Stringer RL, Thomas GO, Jones K.C. 2001. The global distribution of organochlorine pesticides in butter. *Environ Sci Technol* 35, 1013-1018.
- Karazulak FS, Özgür E, Gökoglu M, Emecan IT, Baskaya A. 2011. Age and growth of albacore (*Thunnus alalunga* Bonnaterre, 1788) from the eastern Mediterranean. *Turk J Zool* 35: 801-810.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Mentjies P, Drummond A. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28, 1647–1649.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16, 111–120.
- Kingman JFC. 1982. The coalescent. *Stoch. Proc. Appl.* 13: 235-248.
- Kojadinovic J, Potier M, Le Corre M, Cosson RP, Bustamante B. 2006. Mercury content in commercial pelagic fish and its risk assessment in the Western Indian Ocean. *Sci Tot Environ* 366: 688-700.
- Kojadinovic J, Potier M, Le Corre M, Cosson RP, Bustamante B. 2007. Bioaccumulation of trace elements in pelagic fish from the Western Indian Ocean. *Environ Pollut* 146: 548-566.
- Lahaye V, Bustamante P, Spitz J, Dabin W, Das K, Pierce GJ, Caurant F. 2005. Long-term dietary segregation of short-beaked common dolphins (*Delphinus delphis*) in the Bay of Biscay determined using cadmium as an ecological tracer. *Mar Ecol Prog Ser* 305: 275-285.
- Lana NB, Berton P, Covaci A, Ciocco NF, Barrera-Oro E, Atencio A, Altamirano JC. 2014. Fingerprint of persistent organic pollutants in tissues of Antarctic notothenioid fish. *Sci Total Environ* 499, 89-98.
- Le Cren, E.D., 1951. The length-weight relationships and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *Journal Animal Ecology*, 20: 201-219.
- Lee YC, Liu HC. 1992. Age Determination, by Vertebra Reading, in Indian Albacore, *Thunnus alalunga* (Bonnaterre). *Journal of The Fisheries Society of Taiwan*, 19(2): 89-102.
- Liorzou, B. 1989. Les nouveaux engins de pêche pour la capture du germon. Description, statistiques, impact sur le stock Nord-Atlantique. *Collect. Vol. Sci. Pap. ICCAT*, 30(1), 203-217.
- Luoma SN, Rainbow PS. 2005. Why is metal bioaccumulation so variable? Biodynamics as a unifying concept. *Environ Sci Tech* 39: 1921-1931.
- Malécot G. 1941. Etude mathématique des populations "mendéliennes". *Ann. Univ. Lyon, Sci., A.* 4: 45-60.

- Matsumoto T, Nishida T, Kitakado T. 2014. Stock and risk assessments of albacore in the Indian Ocean based on ASPIC. IOTC–2014–WPTmT05–22.
- McDowell JR, Diaz-Jaimes P, Graves JE. 2002. Isolation and characterization of seven tetranucleotide microsatellite loci from Atlantic northern bluefin tuna *Thunnus thynnus thynnus*. Mol Ecol Notes, 2, 214-216.
- Michener R, Schell D. 1994. Stable isotope ratios as tracers in marine aquatic food webs. Stable isotopes in ecology and environmental science Blackwell, Oxford 138–157.
- Monteiro LR, Lopes HD. 1990. Mercury content of swordfish, *Xiphias gladius*, in relation to length, weight, age, and sex. Mar Pollut Bull 21: 293-296.
- Montes I, Iriondo M, Manzano C, Arrizabalaga H, Jiménez E, Pardo MA, Goñi N, Davies CA, Estonba A. 2012. Worldwide genetic structure of albacore *Thunnus alalunga* revealed by microsatellite DNA markers. Mar Ecol Prog Ser, 471: 183–191.
- Mossman CA, Waser PM. 1999 Genetic detection of sex-biased dispersal. Molecular Ecology, 8, 1063–1067.
- Neff JM. 2002. Bioaccumulation in marine organisms. Effect of contaminants from oil well produced water. Elsevier Ltd, 452 p
- Nikolic N, Morandeau G, Hoarau L, West W, Arrizabalaga H, Hoyle S, Nicol S, Bourjea J, Puech A, Farley JH, Williams J, Fonteneau A. 2016. Review of albacore tuna, *Thunnus alalunga*, biology and fisheries. Reviews in Fisheries Science. *In revision*
- Nikolic N, Bodin N, Arnaud-Haong S, Puech A, West W, Lalire M, Kerwath S, Gaspar P, Hollanda SJ, Boujea J, Bonhommeau S. Across two oceans: connectivity and structure of albacore tuna populations. *In progress*.
- Nikolic N, Duthoy S, Destombes A, Bodin N, West W, Puech A, Bourjea J. 2015. Discovery of genome-wide microsatellite markers in Thunnus genus: a pilot study on albacore. Plos One, 10(11): e0141830.
- Nikolic N, Chevalet C. 2014a. Detecting past changes of effective population size. Evolutionary Applications, published online: 16 Jun 2014, doi: 10.1111/eva.12170.
- Nikolic N, Chevalet C. 2014b. VarEff. Variation of Effective size. Software VAREFF (package R in file.zip) and the documentation. <http://dx.doi.org/10.13155/28781>.
- Nikolic N, Fonteneau A, Hoarau L, Morandeau G, Puech A, Bourjea J. 2014c. Short review on biology, structure, and migration of *Thunnus alalunga* in the Indian Ocean. IOTC–2014–WPTmT05–13.
- Nikolic N, Butler J, Baglinière J-L, Laughton R, McMyn I.A.G, Chevalet C. 2009. An examination of genetic diversity and effective population size in Atlantic salmon. Genetics Research, 91:1-18.
- Nikolic N. 2009. Diversité génétique et taille efficace chez les populations de poissons sauvages : le cas du Saumon atlantique un poisson migrateur amphihalien menacé. Doctorat de l'Université de Toulouse. Thèse, 15 Juillet 2009.
- Nishikawa Y, Honma M, Ueyanagi S, Kikawa S. 1985. Average distribution of larvae of oceanic species of scombroid fishes, 1956-1981. Far Seas Fish Res Lab 12: 1-99.
- Ochoa-Acuña H, Sepúlveda MS, Gross TS. 2002. Mercury in feathers from Chilean birds: influence of location, feeding strategy, and taxonomic affiliation. Mar Pollut Bull 44: 340-349.
- Olson RJ, Boggs CH. 1986. Apex predation by yellowfin tuna (*Thunnus albacares*): independent estimates from gastric evacuation and stomach contents, bioenergetics, and cesium concentrations. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 43(9), 1760-1775.

- Paetkau D, Calvert W, Stirling I, Strobeck C. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Mol Ecol* 4:347–354.
- Paetkau D, Slade R, Burden M, Estoup A. 2004. Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation based exploration of accuracy and power. *Molecular Ecology*, 13:55–65.
- Palstra FP, Ruzzante DE. 2008. Genetic estimates of contemporary effective population size: what can they tell us about the importance of genetic stochasticity for wild population persistence? *Molecular Ecology*, 17, 3428–3447.
- Peakall R, Smouse PE. 2006 GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288–295.
- Penney, A.J., 1994. Morphometric relationships, annual catches and catch-at-size for south African caught south Atlantic albacore (*Thunnus alalunga*). International Commission for the Conservation of Atlantic Tunas, Coll. Vol. Sci. Pap. 42(1): 371-382.
- Piry S, Alapetite A, Cornuet JM., Paetkau D, Baudouin L, Estoup A. 2004. GeneClass2: A Software for Genetic Assignment and First-Generation Migrant Detection. *Journal of Heredity* 95:536-539.
- Postel E. 1964. Sur deux lots de germon (Germon alalunga) capturés dans le Golfe de Guinée par les palangriers japonais. *Cahiers ORSTOM Série Océanographique* 2(2) : 55-60.
- Pritchard JK, Stephens P, Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945–959.
- Qiu X, Zhu T, Yao B, Hu J, Hu S. 2005. Contribution of Dicofol to the current DDT pollution in China. *Environ Sci Technol* 39, 4385-4390.
- R Development Core Team. 2012. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, www.R-project.org.
- Rainbow PS. 2002. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environ Pollut* 120: 497-507.
- Reinfelder JR, Fisher NS, Luoma SN, Nichols JW, Wang WX. 1998. Trace element trophic transfer in aquatic organisms: a critique of the kinetic model approach. *Sci Total Environ* 219: 117-135.
- Rolland JL, Bonhomme F, Lagardère F, Hassan M, Guinand B. 2007. Population structure of the common sole (*Solea solea*) in the Northeastern Atlantic and the Mediterranean Sea: revisiting the divide with EPIC markers. *Marine Biology*, 151(1).
- Rossi A, Pellegrini D, Belcari P, Barghigiani C. 1993. Mercury in *Eledone cirrhosa* from the Northern Tyrrhenian Sea: contents and relations with life cycle. *Mar Pollut Bull* 26: 683-686.
- Ruelas-Inzunza J, Soto-Jiménez MF, Ruiz-Fernández AC, Ramos-Osuna M, Mones-Saucedo J, Páez-Osuna F. 2014. Po, Cd and Pb distribution and biomagnification in the yellowfin tuna *Thunnus albacares* and skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* from the Eastern Pacific. *Mar Pollut Bull* 87: 98-103.
- Saitou N, Nei M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4, 406–425.
- SanCristobal M, Chevalet C, Haley CS, Joosten R, Rattink AP, Harlizius B, Groenen MAM, Amigues Y, Boscher M-Y, Russell G, Law A, Davoli R, Russo V, Désautés C, Alderson L, Fimland E, Bagga M, Delgado JV, Vegapla JL, Martinez AM, Ramos M, Glodek P, Meyer JN, Gandini GC, Matassino D, Plastow GS, Siggens K, Laval G, Archibald AL, Milan D,

- Hammond K, Cardellino R. 2006. Genetic diversity within and between European pig breeds using microsatellite markers. *Animal Genetics*, 37:189–198.
- Santiago J. 2004. Dinámica de la población de atún blanco (*Thunnus alalunga*, Bonaterre 1788) del Atlántico Norte. Thèse de Doctorat, Euskal Erriko Unibertsitatea, Bilbao, 320 pp.
- Sardenne F, Ménard F, Degroote M, Fouché E, Guillou G, Lebreton B, Hollanda SJ, Bodin N. 2015. Methods of lipid-normalization for multi-tissue stable isotope analyses in tropical tuna. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 29, 1253-1267.
- Sargent JR, Henderson RJ, Tocher DR. 1989. The lipids. In: *Fish Nutrition*, 2nd ed. (Halver, J.R., Ed) Academic Press, NY, pp. 153–218.
- Schlenk D, Sapozhnikova Y, Cliff G. 2005. Incidence of organochlorine pesticides in muscle and liver tissues of South African great white sharks *Carcharodon carcharias*. *Mar Pollut Bull* 50, 208-236.
- Schmitt CJ, Zajicek JL, Peterman PH. 1990. National contaminant biomonitoring program: residues of organochlorine chemicals in U.S. freshwater fish, 1976-1984. *Arch Environ Contam Toxicol* 19, 748-781.
- Schott F, Xi S, McCreary P. 2009. Indian Ocean circulation and climate variability. *Reviews of Geophysics*, 47(RG1002): 46 pp.
- Setyadji B, Novianto D, Nugraha B, Sadiyah L. 2012. Catch and size distribution of albacores (*Thunnus alalunga*) in the Eastern Indian Ocean. IOTC-2012-WPTmT04-13.
- Smith CM. 2014. Estimation of a genetically viable population for multigenerational interstellar voyaging: Review and data for project Hyperion. *ACca Astronautica* 97, 16-29.
- Stéquert B, Ramcharrun R. 1996. La reproduction du listao (*Katsuwonus pelamis*) dans le bassin ouest de l'océan Indien. *Aquatic Living Resources* 9, 235-247.
- Storelli MM, Casalino E, Barone G, Marcotrigiano GO. 2008. Persistent organic pollutants (PCBs and DDTs) in small size specimens of bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) from the Mediterranean Sea (Ionian Sea). *Environ Int* 34, 509-513.
- Storelli MM, Giacomini-Stuffler R, Storelli A, Marcotrigiano GO. 2005. Accumulation of mercury, cadmium, lead and arsenic in swordfish and bluefin tuna from the Mediterranean Sea: A comparative study. *Mar pollut Bull* 50: 993-1018.
- Suda A. 1974. Recent status of resources of tuna exploited by longline fishery in the Indian Ocean. *Bulletin of the Fisheries Research Laboratory* 10: 27-62.
- Tagu D. 1999. Principes des techniques de biologie moléculaire. Mieux Comprendre. Ed. INRA.
- Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*. 123 : 585-595.
- Takagi M, Okamura T, Chow S, Taniguchi N. 1999. PCR primers for microsatellite loci in tuna species of the genus *Thunnus* and its application for population genetic study. *Fisheries Sciences*, 65:571–576.
- Takagi M, Okamura T, Chow S, Taniguchi N. 2001. Preliminary study of albacore (*Thunnus alalunga*) stock differentiation inferred from microsatellite DNA analysis. *Fishery Bulletin*, 99:697–701.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30, 2725–2729.
- Teffer AK, Staudinger MD, Taylor DL, Juanes F. 2014. Trophic influences on mercury accumulation in top pelagic predators from offshore New England waters of the northwest Atlantic Ocean. *Mar Environ Res* 101: 124-134.

- Thompson DR, Furness RW, Monteiro LR. 1998. Seabirds as biomonitors of mercury inputs to epipelagic and mesopelagic marine food chains. *Sci Total Environ* 213: 299-305.
- Torres JPM, Munsch C, Héas-Moisan K, Potier M, Ménard F, Bodin N. 2009. Organohalogen compounds in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) from the Western Indian Ocean. *Organohalogen Compd* 71, 1915-1920.
- UE N° 1259/2011. RÈGLEMENT (UE) N° 1259/2011 DE LA COMMISSION du 2 décembre 2011 modifiant le règlement (CE) n° 1881/2006 en ce qui concerne les teneurs maximales en dioxines, en PCB de type dioxine et en PCB autres que ceux de type dioxine des denrées alimentaires. L 320/18-23.
- Ueno D, Takahashi S, Tanaka H, Subramanian AN, Fillmann G, Nakata H, Lam PKS, Zheng J, Muchtar M, Prudente M, Chung KH, Tanabe S. 2003. Global pollution monitoring of PCBs and organochlorine pesticides using skipjack tuna as a bioindicator. *Arch Environ Contam Toxicol* 45, 378-389.
- Ueno D, Watanabe M, Subramanian AL, Tanaka H, Fillmann G, Lam PKS, Zheng GJ, Muchtar M, Razak H, Prudente M, Chung KH, Tanabe S. 2005. Global pollution monitoring of polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs), furans (PCDFs) and coplanar polychlorinated biphenyls (coplanar PCBs) using skipjack tuna as bioindicator. *Environ Pollut* 136, 303-313.
- Van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, De Vito M, Farland W, Feeley M, Fiedler H, Hakansson H, Hanberg A, Haws L, Rose M, Safe S, Schrenk D, Tohyama C, Tritscher A, Tuomisto J, Tysklind M, Walker N, Peterson RE. 2006. The 2005 World Health Organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci* 93, 223-241.
- Vander Zanden MJ, Rasmussen JB. 2001. Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. *Limnol. Oceanogr.*, 46 : 2061-2066.
- Viñas J, Alvarado Bremer JR, Pla C. 2004. Inter-oceanic genetic differentiation among albacore (*Thunnus alalunga*) populations. *Marine Biology* 145: 225-232.
- Vizzini S, Tramati C, Mazzola A. 2010. Comparison of stable isotope composition and inorganic and organic contaminant levels in wild and farmed bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, in the Mediterranean Sea. *Chemosphere* 78, 1236-1243.
- Waples RS. 2006. What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity *Mol. Ecol.* 1, :1419-1439.
- Waples RS. 2002. Evaluating the effect of stage-specific survivorship on the N_e/N ratio. *Mol. Ecol.* 11, 1029-1037.
- Wang WX, Wong RSK. 2003. Bioaccumulation kinetics and exposure pathways of inorganic mercury and methylmercury in a marine fish, the sweetlips *Plectorhinchus gibbosus*. *Mar Ecol Prog Ser* 257: 257-26.
- Wang WX. 2002. Interactions of trace metals and different marine food chains. *Mar Ecol Prog Ser* 243: 295-309.
- Wania F, Mackay D. 1996. Tracking the distribution of persistent organic pollutants. *Environ Sci Technol* 30, A390-A396.
- Webster L, Russell M, Walsham P, Hussy I, Lacaze JP, Philips L, Dalgarno E, Packer G, Neat F, Moffat CF. 2014. Halogenated persistent organic pollutants in relation to trophic level in deep sea fish. *Mar Pollut Bull* 88, 14-27.

- Weir BS, Cockerham CC. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *evolution* 1358-1370.
- Workman PL, Niswander JD. 1970. Population studies on Southwestern indian tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. *Am. J. hum. Genet.* 22: 24-49.
- Wright S. 1978. *Evolution and the Genetics of Populations. Vol. 4. Variability within and among Natural Populations.* University of Chicago Press, Chicago.
- Wright S. 1969. *Evolution and the Genetics of Populations, vol. 2: The Theory of Gene Frequencies.* University of Chicago.
- Wright S. 1939. *Statistical Genetics in Relation to Evolution (Exposes de Biometrie et de Statistique Biologique, Vol. 13), pp. 1–64.* Hermann & Cie, Paris.
- Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16: 97-159.
- Zudaire I, Murua H, Grande M, Bodin N. 2013. Reproductive potential of Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) in the western Indian Ocean. *Fishery Bulletin* 111, 252-264.
- Wu GCC, Chiang HC, Chen KS, Hsu CC, Yang HY. 2009. Population structure of albacore (*Thunnus alalunga*) in the Northwestern Pacific Ocean inferred from mitochondrial DNA. *Fisheries Research* 95: 125-131.
- Yeh SY, Treng TD, Hui CF, Penney AJ. 1997. Mitochondrial DNA sequence analysis on Albacore *Thunnus Alalunga*, meat samples collected from the waters off western South Africa and the Eastern Indian Ocean. *ICCAT Col Vol Sci Pap* 46:152-159
- Zhou S, Tang Q, Jin M, Liu W, Niu L, Ye H. 2014. Residues and chiral signatures of organochlorine pesticides in mollusks from the coastal regions of the Yangtze River Delta: Source and health risk implication. *Chemosphere* 114, 40-50.
- Zudaire I, Murua H, Grande M, Korta M, Arrizabalaga H, Areso JJ, Delgado-Molina A. 2013. Fecundity regulation strategy of the yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the Western Indian Ocean. *Fisheries Research* 138: 80-88.

14. Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier le Programme Opérationnel des Fonds Européens pour la Pêche (FEP) 2007-2013, Volet Réunion, Axe 3, Mesure 3.6, l'Etat français (BOP 205) et l'Ifremer pour le financement de ce projet. Nous remercions également l'IRD et la SFA pour le financement des analyses trophiques et histologiques.

Nous remercions également tous les partenaires directs de ce projet et leurs équipes (IRD, DAFF, SFA, CAPFISH, IPMA) ainsi que l'ARDA (Evgeny Romanov, Emilie Richard et Loïc Le Foulgoc) pour leur implication dans le bon déroulement de ce projet. Merci aux équipes Sud-africaine et notamment Wendy West (DAFF) et son équipe (Melissa Meyer, Janine Cunningham and Kenneth Baloyi), Chris Heinecken (Capfish), Louw Hoffman (Univ. Stellenbosch) et Sean Walker (Breakwater Products). Nous remercions l'IPMA (Rui Coelho) pour la contribution dans la standardisation des données de pêches réunionnaises. Merci également à D. Auger, S. Bruzac, S. Crochet, E. Rozuel et B. Thomas pour leur aide sur les analyses des contaminants métalliques.

Nous souhaitons remercier toute l'équipe de la Délégation Océan Indien de l'IFREMER pour son investissement à nos côtés dans ce projet, et plus particulièrement Franck Bruchon pour son soutien administratif, technique, et scientifique, et pour lequel nous avons une pensée toute particulière lors de la rédaction de ce rapport. Nous remercions également Hugues Evano, David Roos, et Jérôme Huet pour leur aide lors de l'échantillonnage et leur expertise halieutique ; Ludovic Hoarau et Laurence Maurel pour leur aide et expertise en cartographie, Yoann Aumond et Edouard Collin lors des manipulations en laboratoire ; et le duo Annie Perrine et Magali Duval pour leur rigueur et veille administrative.

Karine Héas-Moisan, Nathalie Olivier, Nadège Bely et Charles Pollono (Ifremer, LBCO, Nantes) sont remerciés pour leur contribution à l'obtention des résultats analytiques relatifs à la contamination des thons germon par les contaminants organiques.

Nous remercions ensuite le CIRAD (Emmanuel Jouen), l'ARVAM (Jean Turquet) et l'Université de La Réunion (Sébastien Jaquemet, Hélène Magalon et Pauline Gelin) pour leur soutien lors des difficultés que nous avons rencontrés dans certaines manipulations, comme la lyophilisation. Nous remercions également le projet THETIS et PROSPER de nous avoir permis d'intégrer leurs estomacs au sein du projet GERMON. Pour finir, nous souhaitons remercier l'entreprise de pêche palangrière REUNIPÊCHE de nous avoir permis de réaliser la première campagne scientifique de ce projet à bord du Manohal et accueilli dans ses locaux lors de la deuxième phase d'échantillonnage du projet en nous mettant à disposition une partie de leur locaux de congélation. Nous profitons de cette occasion pour remercier le capitaine (Jean-Marc Tatibouët) et son second (Jean Hugues LAMY), et l'ensemble de l'équipage du Manohal (Stéphan, Pascal, Olivier, Fafa et Joachim).

Nous remercions l'équipe de l'Observatoire Thonier (IRD/SFA) des Seychelles (Emilie Augustin, Alex Tirant, Jimmy Esparon, Emmanuel Chassot, Alain Damiano et Cindy Assan) ainsi que l'équipe de l'Indian Ocean Tuna Ltd (François Rossi, Gary Algae, Patricia et Francis) pour leur aide lors des sessions d'échantillonnage de germes à l'usine de Victoria.

Nous adressons enfin nos vifs remerciements à Alain Fonteneau (IRD) et Gilles Morandea (IFREMER) pour toutes les conversations passionnantes en halieutique. Sophie Arnaud-Haond et Syvain Bonhommeau (IFREMER) pour leur expertise sur ce travail et ce rapport.

15. Annexes

Annexe A. Principaux résultats de la campagne scientifique du projet GERMON autour de La Réunion (zone A).

La campagne scientifique s'est déroulée avec la société REUNIPECHE et l'armement IEMANJA, à bord du navire le « MANOHAL » (palangrier réunionnais de 25 mètres). Cette campagne a ciblé en priorité la zone située autour de La Réunion (zone A). Elle s'est déroulée du 14 novembre 2013 au 01 décembre 2013 et elle a eu pour but de collecter les échantillons de la zone A en SAISON 1. L'engin de pêche utilisé par le Manohal pour cibler le thon germon était la palangre horizontale dérivante de surface, également appelée *long-line*. Cette palangre était filée en fin de journée pour être virée le lendemain matin (pêche de nuit). A chaque filage entre 1400-1600 hameçons ont été mis à l'eau de façon journalière. L'appât utilisé était du calamar entier *Illex argentinus* en provenance de l'argentine d'un poids moyen d'environ 150 g.

Les captures commercialisables de cette campagne scientifique ont été estimées à 18 567 kg (de poids plein) dont 5 795 kg de thon germon (Tableau 1).

Tableau 1. Captures totales estimées par espèces en Kg (poisson entier) lors de la campagne scientifique GERMON.

Espèces	Captures Totales
Espadon	9270
Thon germon	5795
Thon obèse	392
Thon albacore	765
Coryphène	1405
Marlin bleu	792
Voilier	30
Barracuda	20
Lancier	45
Thon banane	53
TOTAL	18567

L'espadon a été l'espèce majoritairement capturée et elle représentait 50% du poids total des captures. Le thon germon arrive en seconde position avec 31% du poids total des captures (Figure 1).

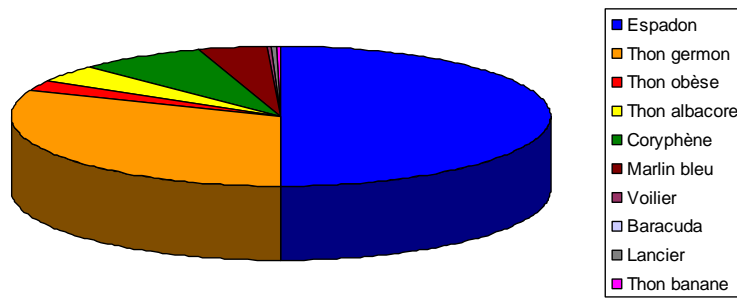


Figure 1. Composition spécifique en poids des captures commercialisables de poissons lors de la campagne scientifique GERMON.

Les captures totales, et plus particulièrement les captures de thon germon, ont diminuées progressivement au cours de la marée. En effet, plus de 2000 Kg de poissons dont 600 Kg de germon ont été pêchés au cours du premier filage. Seulement 60 Kg de germon pour le dernier filage (Figure 2). Le passage d'une dépression et la diminution des températures des eaux de surface pourraient avoir joué un rôle dans la distribution spécifique et les niveaux de captures de cette campagne (Figure 2). Les faibles captures du 25.11.2013 (11^{ème} filage) s'expliquent par la présence de globicéphales et faux-orques qui ont prélevés les poissons capturés par la palangre. Une vingtaine d'individus étaient présents autour du bateau en fin de virage.

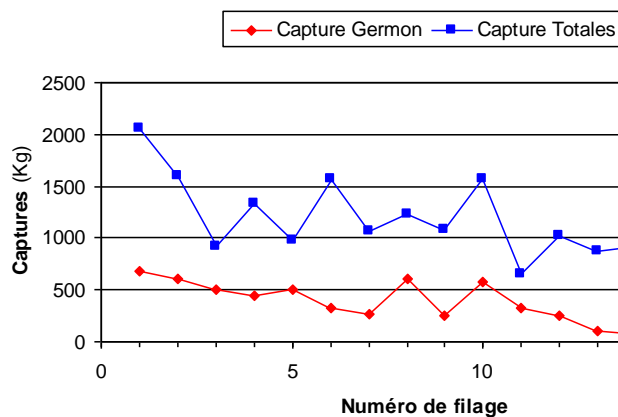


Figure 2. Evolution des captures totales et des captures de germon par filage (en poids plein).

Concernant les rendements, on observe une tendance globale à la baisse des captures. Les rendements en germon passent de 500 Kg/1000 hameçons lors du premier filage à 43 Kg/1000 hameçons pour le dernier filage. (Figure 3).

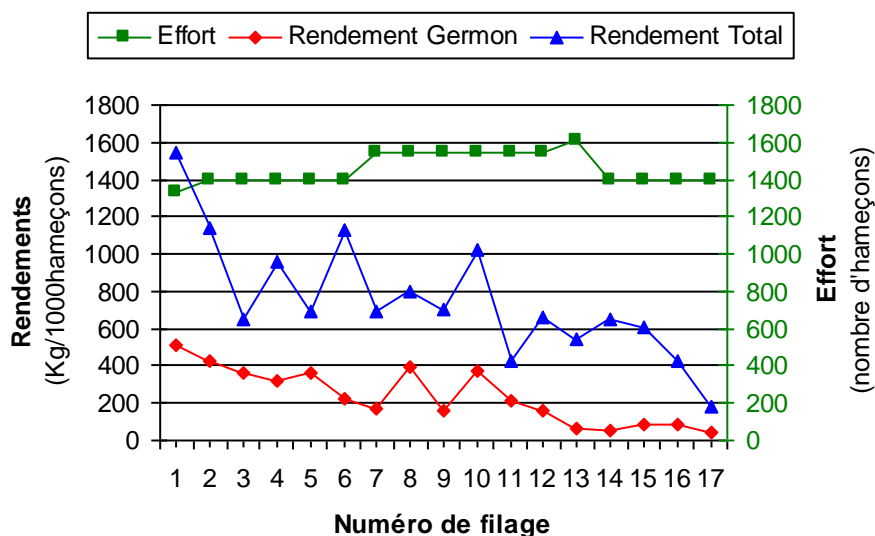


Figure 3. Evolution des efforts et des rendements par filage.

Sur la totalité des captures lors de cette campagne, nous avons capturé 69.2% de mâles et 30.8% de femelles de thon germon (Table 2). Les individus échantillonnés semblent avoir un stade de maturité sexuelle avancé avec des observations de poissons expulsant leurs œufs et leur sperme notamment les 2 derniers jours (30 Novembre 2013 et 01 Décembre 2013).

Table 2. Sexe ratio et taille moyenne par sexe des thons germon capturés lors de la campagne scientifique GERMON.

	nombre	pourcentage	Longueur moyenne
mâles	162	69,2	106,7
femelles	72	30,8	101,0
total	234	100,0	105,0

Annexe B : Rapport IOTC sur la standardisation des données de pêches réunionnaises du thon germon (IOTC-2014-WPTmT5-12_Rev1)

Received: 30 June & 28 July 2014
IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

**REUNION ISLAND PELAGIC LONGLINE FISHERY CHARACTERIZATION
AND STANDARDIZATION OF ALBACORE CATCH RATES**

Rui Coelho^{1,*}, Natacha Nikolic², Hugues Evano², Miguel N. Santos¹
Jérôme Bourjea²

SUMMARY

This document presents a characterization of the Reunion Island pelagic longline fishery, with a first description of the albacore catches, catch-at-size, and the standardized catch per unit of effort (CPUE) series for the period 1992-2013. The spatial catch and effort analysis revealed the major areas of operation of the fishery, and the identification of the fishery core region closer to the Reunion Island area. The trends in the albacore catch-at-size were analyzed annually, and compared between the seasons and regions of operation of the fishery. The albacore nominal CPUEs were calculated as number of fish per 1000 hooks, and were standardized using Generalized Linear Models (GLMs). Four different modeling approaches were used (including Tweedie, lognormal, Negative Binomial and Delta-method models) and compared in a sensitivity analysis. The models were compared with goodness-of-fit measures, and validated with residual analysis. The results presented in this paper, in particular the proposed albacore annual index of abundance, is a further contribution by the European Union to contribute for the assessment of the species in the Indian Ocean.

KEYWORDS: Albacore, catch and effort, catch at size, CPUE standardization, longline fisheries, SW Indian Ocean, *Thunnus alalunga*.

1: IPMA, I.P. - Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Av. 5 de Outubro s/n, 8700-305 Olhão, Portugal.
2: IFREMER, Délégation Océan Indien, Laboratoire Ressources Halieutiques. Rue Jean Bertho BP 60, 97822 Le Port Cedex, La Reunion.
*: Corresponding author e-mail: rcoelho@ipma.pt

IOTC–2014–WPTmT05–12 Rev_1

1. Introduction

Fisheries management is usually based on stock assessment models that require data on the abundance of the species under assessment (Hilborn and Walters 1992). Ideally, data for such models should be fishery-independent but, when assessing pelagic and migratory species that cover wide geographical areas (e.g. tunas, billfishes and pelagic sharks) this type of fisheries-independent data is usually not available. Therefore, most stock assessments currently carried out for pelagic species are based on fishery-dependant data, available from the commercial fisheries that capture those species. The data usually gathered from the commercial fisheries and analyzed is the Catch per Unit of Effort (CPUE, either in number or biomass), and it is important to standardize those CPUE trends to account for effects (consequence of the fishery-dependence) other than the annual variations in the abundance of the species being analyzed (Maunder and Punt 2004). The primary objective of the CPUE standardization process is therefore to estimate a time series of relative abundance of a species, from which the fishery-dependant effects have been removed, and that can therefore be used as an annual index of abundance for stock assessment purposes.

The Reunion Island semi-industrial pelagic longline fishery started in 1991 and has operated most consistently in the vicinity of Reunion Island. However, in some years, particularly in the earlier years of the fishery, substantial operations were undertaken farther away in the Mozambique Channel and northward in the Seychelles region. This fishery targets as a primary resource swordfish (*Xiphias gladius*) and therefore fishing operation (i.e. sets) occurs during the night. However, even considering that the fishery did not majorly change its fishing strategy over time, it started in the 1900s with a species composition of catches largely dominated by swordfish (70%), and 30% of tuna and tuna-like species), while this ratio changed in the last years to catches dominated by tuna species (70%) and only 30% of swordfish. Descriptions of the fishery, especially during the earlier years of the development stage of the fishery were described in detail by Poisson and Rene (1999) and Poisson and Taquet (2001).

In the Indian Ocean, the previous albacore (ALB) stock assessment was carried out in 2012, with the current management advice based on an age-structured production model (ASPM) described by Nishida et al. (2012). For that assessment three standardized Catch per Unit of Effort (CPUE) indexes from pelagic longline fisheries were available, specifically the Japanese series between 1966-2010 (Matsumoto et al. 2012), the Korean series between 1986-87 and 1990-2010 (Lee et al. 2012) and the Taiwanese series between 1980-2010 (Lee et al. 2012). However, only the Taiwanese series and a combined CPUE (weighted average of the Japan and Taiwan series) were used in the models. The assessment results showed that the more recent albacore catches were above the MSY level with the fishing mortality exceeding F_{MSY} ($F_{2010}/F_{MSY} = 1.33$), and the spawning biomass was considered to be at or very near the SB_{MSY} level ($SB_{2010}/SB_{MSY} = 1.05$). Thus, the last IOTC albacore assessment carried out in 2012 indicated that the stock was subject to overfishing, but not overfished at that time.

IOTC–2014–WPTmT05–12 Rev_1

As a new albacore stock assessment is scheduled for 2014 during the WPTmT5, the main goal of this study was to present information from the Reunion Island pelagic longline fishery that may be relevant and used in that evaluation process. Particularly, the specific objectives of this paper were to: 1) analyze the Reunion Island pelagic longline fishery effort distribution; 2) analyze the spatial and seasonal variability in the albacore catches; 3) analyze the albacore catch-at-size distribution in the fishery, and 4) standardize the Reunion Island pelagic longline albacore CPUE time series for potential use as an annual index of abundance.

2. Material and methods

2.1. Data collection

Four distinct datasets were available for the Reunion Island French longline fishery, maintained by Ifremer (La Reunion), which are summarized in **Table 1**.

The first dataset covers the period between 1992 and 2001, and derives from a voluntary logbook program (Poisson and Taquet, 2001), which covered the majority of sets during that period in the early stages of the fishery. This dataset includes several operational factors that may be important for the CPUE standardization analysis. The number of observations in 1992, 1993 (low number of boats in activity) and 2001 was very low, making their use within the CPUE standardization process of marginal value, and as such those years were excluded from the CPUE standardization models.

The second dataset covers data between 2001 and 2004, with the data grouped by fishing trips. This dataset does not have individual fishing sets information with date or locations, nor the conventional unit of longline effort (i.e. number of hooks). Given the clustered nature of the data and the lack of set-specific catch, effort and location information, it was not possible to integrate this dataset with the rest of the analysis and therefore it was not further analyzed.

The third and fourth datasets covers data between 2005 and 2013, and were obtained from the more recent mandatory logbook program. Between 2005 and 2011 the program used the traditional logbooks directly reported by the skippers. In 2012 the program started to use electronic logbooks and VMS (Vessel Monitoring System) data to determine the fishing locations. However, in the more recent years (2012 and 2013) the skippers no longer reported the effort in number of hooks and, as such, those were estimated using the known total annual effort and the effective fishing set time calculated from the VMS system. Some data fields that were reported in the original dataset (1992-2001 period) were missing in this dataset (e.g. lightstick use, temperature), which only makes those two periods partly compatible. Still, some other variables as the vessel ID (and corresponding characteristics such as size and year of construction) are compatible between the two periods and datasets, and could therefore be used in the CPUE standardization models.

IOTC–2014–WPTmT05–12 Rev_1

Table 1. Summary of Reunion Island longline fishery datasets characteristics, available for albacore CPUE standardization.

Dataset Characteristic	Dataset period			
	(1992-2001)	(2001-2004)	(2005-2011)	(2012-2013)
Logbook Programme	Voluntary	-	Mandatory (traditional)	Mandatory (electronic)
Detail level	Set	Trip	Set	Set
Set time	Yes	No	Yes	Yes
Location	Yes (coords. by set)	No	Yes (1x1 squares)	Yes (VMS)
Effort Units	Hooks per set	Sets per trip	Hooks per set	Hooks per set (estimated from set time)
Light sticks reported	Yes	No	No	No
Vessel ID	Yes	Yes	Yes	Yes
Other species catch	Yes	Yes	Yes	Yes
Catch units	Numbers	-	Estimated biomass	Estimated biomass
Other variables	Gear configuration, vessel characteristics, temperature, lightsticks use.		Vessel characteristics	Vessel characteristics
Number of observations	7970 sets	1773 trips	19003 sets	6255 sets

2.2. Exploratory data analysis

The spatial catch and effort was mapped and plotted in order to identify the major areas of operation of the Reunion Island pelagic longline fleet. This analysis was carried out separately for the two fishing periods (1992-2000 and 2005-2013) in order to understand eventual shifts in the spatial distribution of the fishery between the periods. The CPUE, measured in number of albacore (ALB) per 1000 hooks (N/1000 hooks), were plotted in each of the regions and along the months/seasons of the year, in order to describe the patterns of the catches of this species by the fleet in those regions/seasons.

The percentages of fishing sets with zeros (fishing sets with ALB catch = 0) were analyzed and plotted along the years of the time series and in the various regions and seasons. These patterns helped identify areas/seasons where the fishery was mainly targeting tunas as albacore, as opposed to other regions/seasons where there were no albacore catches and as such, the fleet was more likely targeting other species (i.e. swordfish) fishing with night sets. The statistical analysis was carried out with

 IOTC–2014–WPTmT05–12 Rev_1

contingency tables and chi-square tests, comparing the proportion of zeros between years. A Cochran-Mantel-Haenszel test (CMH) was also used to compare the proportions of zeros in the main regions of operation of the fishery, taking into account the seasonal effects.

The available ALB catch-at-size data were analyzed in terms of the mean values and catch-at-size distribution along the period of the time series. This data was available between 2001 and 2014 (except for 2011), and helped to identify how the albacore sizes varied in the fishery along the period. The sizes for the years 2001-2003 and 2007-2014 were recorded in fork length (FL), while during the period 2004-2006 the sizes were recorded in pectoral fork length (PFL). For those years, and in order to make the comparisons possible, the PFL sizes were converted to FL using the Ifremer equation for the Reunion fishery albacore:

$$FL = 1.0612 \cdot PFL + 27.2; R^2 = 0.7071; N=422 \text{ specimens.}$$

The size distribution between years in the time series were compared with Kruskal-Wallis non-parametric rank sum tests, chosen instead of parametric approaches (e.g. ANOVA) because the data were not normally distributed (tested with Kolmogorov Smirnov tests with Lilliefors correction) and were heterogeneous between groups (tested with Levene's tests).

2.3. CPUE standardization

For the CPUE standardization models, the response variable considered was the CPUE in number of specimens (N) captured per 1000 hooks. As the more recent data (2005-2013) was reported in biomass, the set-specific biomass was converted to numbers using the mean yearly albacore catch-at-size recorded by Ifremer in the Reunion Island longline fishery. The year-specific means were used for all years, except for 2005 and 2006 given the uncertainties in the size data that was recorded in PFL instead of FL, and for 2011 because no catch-at-size data was available for that year. For those specific years the overall mean sizes were used for the conversions. On all cases, we used the "Length (cm) & weight (kg) conversion equations used for IOTC species":

Albacore FL-W parameters: $a=0.000013718$, $b=3.0793$.

The standardized CPUE series was estimated with Generalized Linear Models (GLM) assuming various types of distributions that were compared in a sensitivity analysis. The models were built considering the information per fishing set. The explanatory variables considered and tested for the models were:

- Year: analyzed between 1994-2000 (voluntary logbook program) and between 2005-2013 (mandatory logbook program);
- Seasonality: Month (12 months of the year), Season (warm = Oct-Mar, cold = Apr-Sep) or Quarter (1 = Jan-Mar; 2 = Apr-Jun; 3 = Jul-Sep; 4 = Oct-Dec). The

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

choice of the seasonal variable used (i.e. month, season or quarter) depended on each specific model and the quantity of data available;

- Regions: using the areas defined in the results in **Figure 1** for the models with data from all regions, and using regional squares (NW, NE, SW, and SE) for the models specific to the core area (REU region, as defined in the results in **Figure 2**). This has been applied previously in the Reunion SWO longline fishery (Kolody et al. 2010);
- Vessel ID: to take into account vessel effects such as the vessel characteristics, and the skipper/crew experience;
- Interactions between pairs of variables, particularly Spatial: Seasonal effects.

The significance of the explanatory variables was assessed with likelihood ratio tests (LRT) comparing each univariate model to the null model, and by analyzing the deviance tables. Once a full simple effects model was built, possible pairs of interactions were tested with LRT tests to compare the complete simple effects model with the models with interactions, and if significant, the interactions were included in the final models. Model goodness-of-fit was carried out by calculating and comparing the coefficient of determination (R^2) and AIC values for each different candidate model. Model validation was carried out with a residual analysis.

Comparative models were run for the different available CPUE time series, specifically for the earlier (1994-2000) and later (2005-2013) periods. Additionally, models were also run for the entire time series combined, pooling the information from both data periods and sources. In terms of areas, comparative models were run for the entire fishery locations (data from all the regions) and also for the specific Reunion Island (REU) region, in an attempt to compare and model only the core region where the fishery and most catches took place. Finally, with the best final model selected, a comparison was made with a quarterly CPUE index; in that particular case taking into account the interactions between years and quarters. The various model specification considered in this comparative approach are listed in detail in **Table 2**, as well as some model results (goodness-of-fit values) that are discussed later in the results section.

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

Table 2. Specifications of the candidate models run for each dataset for standardizing the ALB CPUE in the La Reunion Island pelagic longline fishery. On all cases, the model considered were Generalized Linear Models (GLM) using the CPUE (N/1000 hooks) as the response variable and considering a Tweedie error distribution. The best models within each dataset (considering the AIC and R^2) are in bold and underlined. For each model some comments are also provided, including the number of estimated parameters (pars.) and the percentage of zeros in each specific dataset.

Data	Model	Explanatory variables	AIC	R^2	Comments
1994-2000: Voluntary logbooks, all data (7864 obs.); 25.1% zeros	Mod1	Year + Month + Region	37023	38.7	Early data simple effects model (21 pars.)
	Mod2	Year + Month + Region + Vessel	36365	43.2	Model with vessel effects (59 pars.)
	Mod3	Year + Season + Region + Vessel + Season:Region	38309	30.2	Model with interactions. Using season instead of month due to lack of monthly-regional info. (52 pars.)
1994-2000: Voluntary logbooks, REU core region (6937 obs.); 20.5% zeros	Mod4	Year + Month + Area	34214	34.6	Early data simple effects model, REU core region only (21 pars.)
	Mod5	Year + Month + Area + Vessel	33588	39.4	Model with vessel effects (59 pars.)
	Mod6	Year + Month + Area + Vessel + Month:Area	33457	40.5	Model with interactions (92 pars.)
2005-2013: Mandatory logbooks, all data (22009 obs.); 25.3% zeros	Mod7	Year + Month + Region	10524 2	30.5	Later years data, simple effects model (22 pars.)
	Mod8	Year + Month + Region + Vessel	10372 6	34.2	Model with vessel effects (62 pars.)
	Mod9	Year + Season + Region + Vessel + Season:Region	10671 7	26.9	Model with interactions. Using season instead of month due to lack of monthly-regional info. (54 pars.)
2005-2013: Mandatory logbooks, REU core region (20533 obs.); 24.2% zeros	Mod10	Year + Month + Area	99350	31.0	Later years data, simple effects model (23 pars.)
	Mod11	Year + Month + Area + Vessel	97968	34.5	Model with vessel effects (63 pars.)
	Mod12	Year + Month + Area + Vessel + Month:Area	97697	35.3	Model with interactions (96 pars.)
1994-2000 & 2005-2013: All data (29873 obs.); 25.3% zeros	Mod13	Year + Month + Region	14265 2	31.9	All years, simple effects model (30 pars.)
	Mod14	Year + Month + Region + Vessel	14084 3	35.2	Model with vessel effects (94 pars.)
	Mod15	Year + Season + Region + Vessel + Season:Region	14548 6	26.7	Model with interactions. Using season instead of month due to lack of monthly-regional info. (87 pars.)
1994-2000 & 2005-2013: REU core region (27470 obs.); 23.2% zeros	Mod16	Year + Month + Area	13384 1	31.3	All years, simple effects model for REU core region (30 pars.)
	Mod17	Year + Month + Area + Vessel	13205 6	34.8	Model with vessel effects for the REU core region (94 pars.)
	Mod18	Year + Month + Area + Vessel + Month:Area	13177 1	35.4	All years, REU core region only and with interactions (127 pars.)

As there were several fishing sets with zero ALB catches, which results in a response variable of CPUE=0, and as those zeros can cause mathematical problems for fitting the models, various model methodologies were applied in a sensitivity analysis. The following types of distributions and models were considered:

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

- 1) Tweedie model: This was the primary approach used in the comparative runs of the various models, as the quantity of zeros varied depending on the specific data used (i.e. years and regions considered). The Tweedie distribution is a generalization of the exponential family and is highly flexible in terms of the quantity of zeros explained, being defined by a mean, a dispersion parameter (ϕ) and an index parameter (p). When p takes values between 1 and 2, the distribution is continuous for positive real numbers but has an added discrete mass at 0, which seems appropriate to model CPUE data directly (continuous data with an added mass of zeros). The index parameter for this specific work was calculated by maximizing the likelihood profile function of possible values of p . This distribution has been increasingly used for CPUE standardization studies when the proportion of zeros is relatively high (e.g. Candy 2004; Coelho et al. 2012, 2013);
- 2) Lognormal model adding a small constant: Another tested option was to add a small constant (c) to the CPUE, so that the response variable was transformed into $CPUE+c$ and becomes a continuous positive variable no longer containing zeros. The choice of the constant value to be added can be somewhat subjective (Campbell, 2004), but in this case we added the value 1, which seems to be a common approach in fisheries biology studies (e.g. Punt et al. 2000). When the proportion of zeros is high this approach may introduce significant bias in the analysis, as demonstrated by Shono (2008). In our study, the proportion of zeros was relatively high and as such this model was used only for comparative purposes;
- 3) Delta-method approach using binomial and lognormal models: With this approach two separate models are fitted in this particular case - a binomial (logistic) distribution to model the proportion of fishing sets with positive catches and a lognormal distribution to model the nominal CPUE of the positive sets (Maunder and Punt 2004). This is a relatively common used technique to standardize CPUE series when part of the data contains zeros (e.g. Ortiz and Arocha 2004; Cortés 2009; Pons et al. 2009);
- 4) Negative Binomial: Negative Binomial model was used to fit the ALB catches in number (N) and the effort (number of hooks) was used as an offset variable functioning as an exposure variable. This indicates the number of times the event (i.e. catches in number) can occur given the opportunities (i.e. number of hooks used). This type of model has been applied in CPUE standardization of albacore in the Atlantic and Indian Oceans (e.g. Hazin et al. 2008; Matsumoto et al. 2012; Uosaki and Shono, 2008), as well as to model bycatch groups such as sea-turtles and sharks (Pradhan and Leung 2006; Carvalho et al. 2009). In our study an initial attempt was also made with a Poisson model, but given that the data was overdispersed the Negative Binomial was chosen instead.

The final standardized CPUEs were estimated by least square means (LSMeans also called marginal means) for the effects of year averaged over the effects of the other variables. For the Delta method the LSMs were calculated as the yearly probability

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

of having a positive set multiplied by the expected catch rate conditional to the set being positive. The final estimated indexes of abundance were compared by scaling the annual standardized CPUE values by the mean standardized CPUE in the time series.

All statistical analysis for this paper was carried out with the R Project for Statistical Computing version 2.15.3 (R Core Team, 2013) using several additional libraries (Becker et al., 2013a, 2013b; Bivand, 2013; Bivand and Lewin-Koh, 2013; Dunn, 2012; Fox and Weisberg, 2011; Gerritsen, 2013; Højsgaard et al., 2013; Lenth, 2013; Neuwirth, 2011; Stabler, 2013; Venables and Ripley, 2002; Warnes, 2012; Wickham, 2009, 2012; Wood, 2006, 2011).

3. Results and Discussion

3.1. Catch and effort

3.1.1. Spatial distribution

The historical areas of operation in terms of fishing effort for the Reunion Island pelagic longline fleet are shown in **Figure 1** for the periods 1992-2001 and 2005-2013. Overall, it was possible to observe that most of the effort took place relatively close to the Reunion Island (REU core region), with some effort also occurring in farther away areas as the Mozambique Channel and the Seychelles region, especially in the earlier years of the fishery (**Figure 1**). For the more recent time period the distribution of the effort showed no effort in the most northern Seychelles region, and lower effort in the Mozambique Channel, with the fishery tending to be more restricted to the REU core region (**Figure 1**). Such trend is a consequence of the size of the boats (<24m) associated to exploitation costs (e.g. diesel) and the economic crisis of the fishery sector in Reunion Island during the last 10 years. The areas where the fleet catches more albacore is shown in **Figure 2** for the 1992-2001 (reported by voluntary logbooks) and 2005-2013 (reported with mandatory logbooks) periods. It is possible to observe that most albacore catches takes place in the area closer to the Reunion Island.

Considering the effort distribution and the areas of albacore catches' concentration, three distinct sub-regions were defined, specifically the core Reunion Island region (REU) where most of the effort and albacore catches took place; the Mozambique Channel (MZB) and Seychelles (SEZ) regions that show much less effort and catches. The effort and catches in the MZB and SEZ regions were minimal in many years, and as such only the REU region was considered when attempting to model the fishery core region.

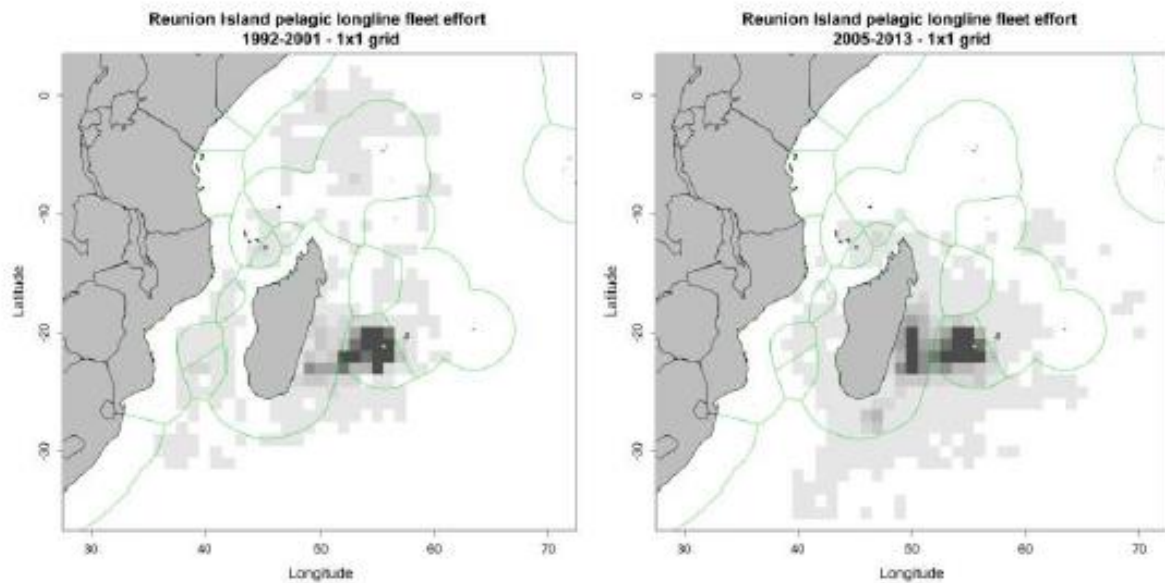


Figure 1. Effort distribution of the Reunion Island pelagic longline fleet for the 1992-2001 (map on the left) and 2005-2013 (map on the right) periods. The effort is represented in 1x1 degree grids, with darker and lighter colors representing respectively areas with more and less effort in number of hooks.

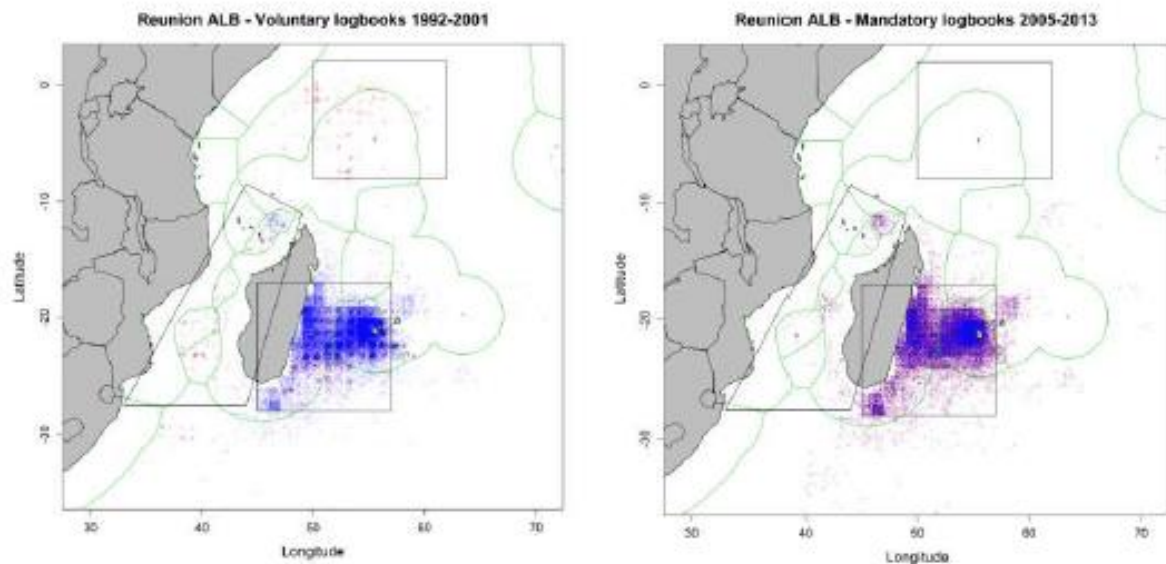


Figure 2. Location of the Reunion Island pelagic longline sets reported by the fleet with the voluntary logbooks between 1992 and 2001 (map on the left) and with the mandatory logbooks between 2005 and 2013 (map on the right). Full color saturation indicates more ALB catches while the lighter red color represent sets with zero ALB catches. Locations are jittered +/- 1 degree using a Uniform distribution to better illustrate repeated observations within the same 1x1 square. The boxes indicate the three main regions of operation of the fleet: Seychelles (SEZ), Mozambique Channel (MZB) and Reunion Island (REU).

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

3.1.2. Annual, seasonal and regional variability in the catches

A pattern in the Albacore CPUE was observed along the months of the year, with higher catches tending to be reported in the warmer months, particularly from October to March (Figure 3). Even though the CPUE values varied inter-annually, this type of pattern tended to be common for most years analyzed (Figure 3). When considering the regional factor, this seasonal pattern was most evident in the REU, as in that region the CPUEs tended to be much higher and there were reports for all the years in the time series (Figure 4). In this particular case, the season 2 refers to the warmer period, assigned to the period between October and March.

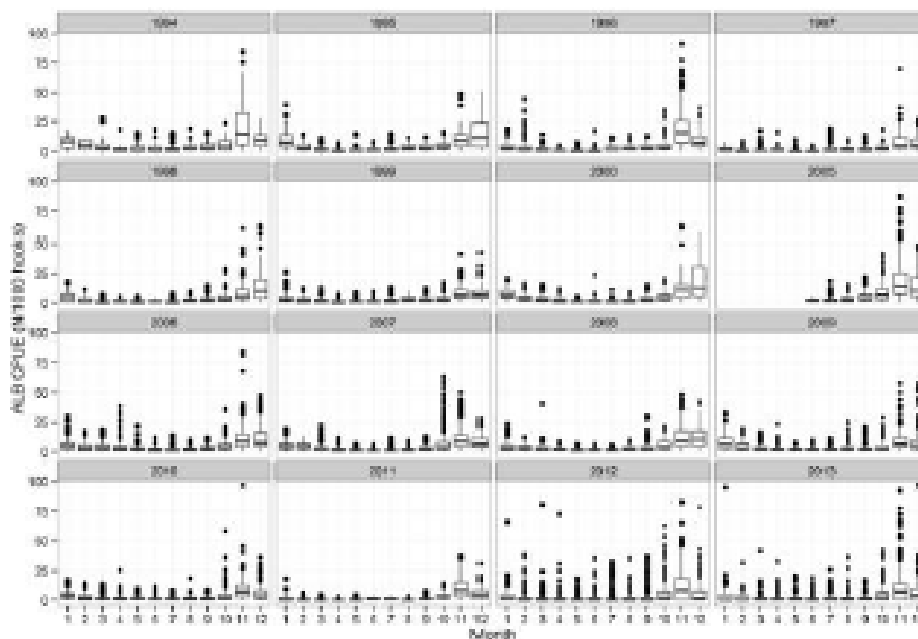


Figure 3. Monthly albacore CPUE (N/1000 hooks) in the Reunion Island pelagic longline fishery per year. Note a break in the time series between 2000 and 2005, for which no set-specific information was available, and that in 2005 the data only started to be collected in June.

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

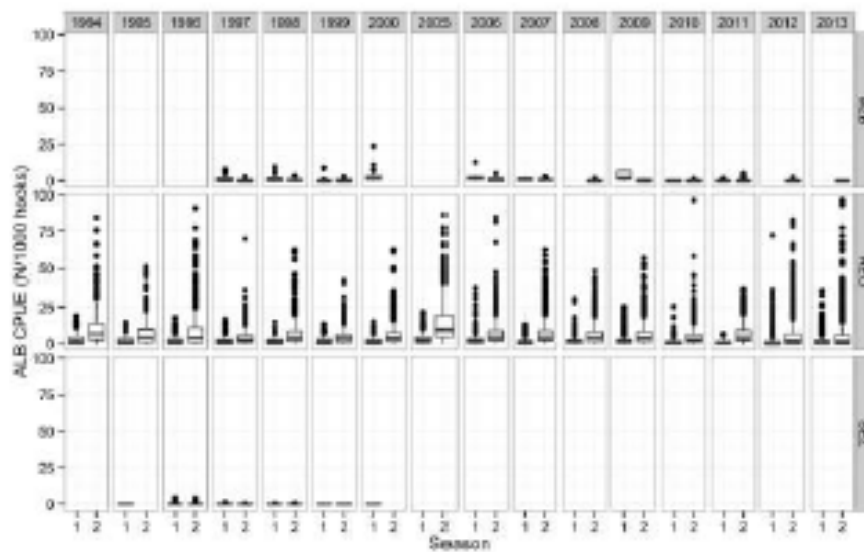


Figure 4. Albacore CPUEs (N/1000 hooks) in the Reunion Island pelagic longline fishery per year, region and season of the year. The regions correspond to the three main areas of operation of the fleet: MZB = Mozambique Channel, REU = Reunion Island area and SEZ = Seychelles area. The seasons were defined as 1 = colder period (months 4, 5, 6, 7, 8 and 9), and 2 = warmer period (months 10, 11, 12, 1, 2 and 3). Note a break in the time series between 2000 and 2005, for which no set-specific information is available.

3.1.3. Distribution of sets with positive and zero catches

The overall percentage of sets with zero ALB catches in the 1992-2000 and 2005-2013 datasets was 25.3%. However, significant inter-annual variability was observed in the percentages of sets with zero catches (proportion test: chi-square = 2382.4, df (degrees of freedom) = 15, p-value < 0.001), with those varying between the minimum of 9.7% in 2005 and the maximum of 50.5% in 2012 (Figure 5).

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

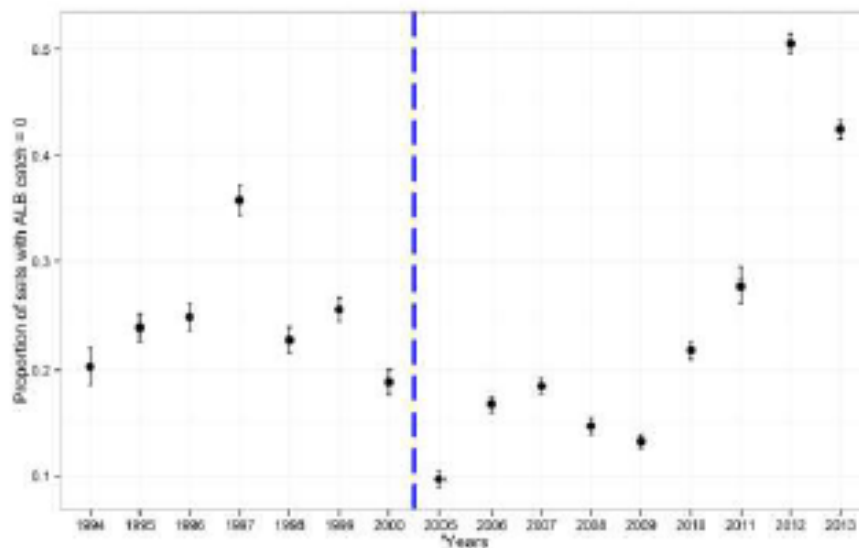


Figure 5. Proportion of sets with zero albacore catches (catch=0) reported in the Reunion Island pelagic longline fishery. Note that there is a break in the time series between 2000 and 2005, for which no set-specific data is available. The error bars represent ± 1 standard error.

The proportion of sets with zero ALB catches also varied significantly when comparing the three main areas of operation of the fishery, even when the seasonal effects were taken into account (CMH proportion test: chi-square = 1417.9, df = 2, p-value < 0.001). Specifically, in the Reunion Island region (REU) the percentage of sets with zero ALB catches was the lowest, varying between 31.4% in the colder season and 15.0% in the warmer period (Figure 6). In the other regions, the percentages of fishing sets with ALB catches were much higher, specifically 59.8% in the Mozambique Channel and 94.7% in the Seychelles regions (Figure 6).

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

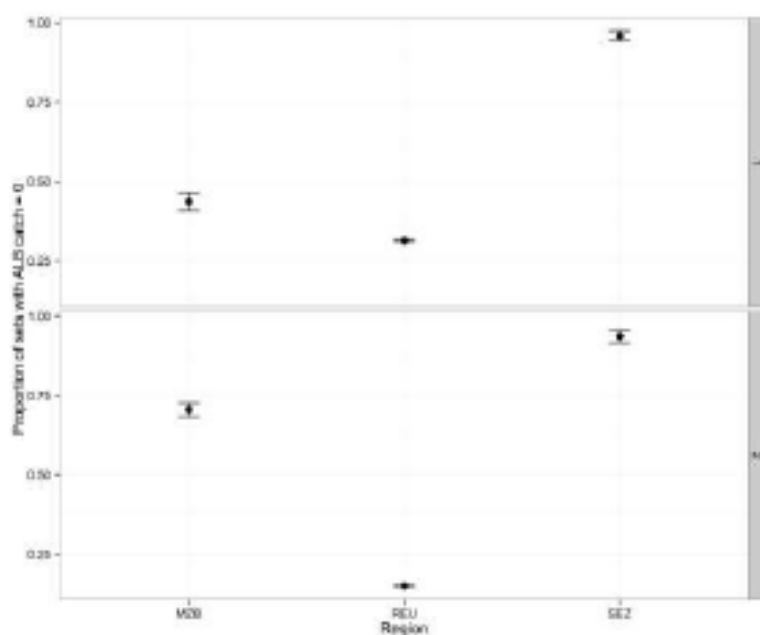


Figure 6. Proportion of sets with zero albacore catches (catch=0) reported by the Reunion Island pelagic longline fleet, for the three main regions of operation of the fleet: MZB = Mozambique Channel, REU = Reunion Island area and SEZ = Seychelles. The seasons were defined as: 1 = colder period (months 4, 5, 6, 7, 8 and 9); 2 = warmer period (months 10, 11, 12, 1, 2 and 3). The error bars represent ± 1 standard error.

3.2. Catch-at-size

The catch-at-size distribution of the albacore reported by the Reunion Island pelagic longline fishery in the Indian Ocean remained relatively stable throughout most of the study period with some yearly oscillations (Figure 7), and with significant differences detected between the years (Kruskal-Wallis: chi-square = 354.7, df = 12, p-value < 0.001). In terms of seasonal variability some differences were also detected, but in general both seasons followed the same general size trend along the time series (Figure 8).

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

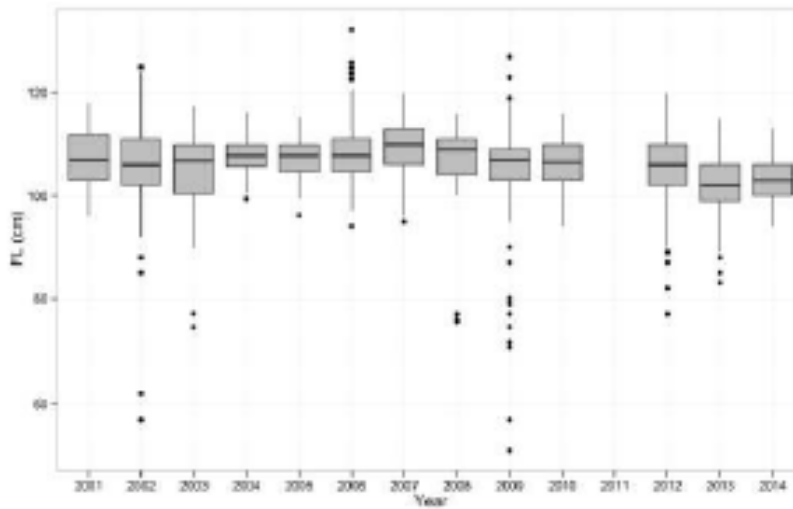


Figure 7. Yearly boxplots with the catch-at-sizes for the albacore reported by the Reunion Island pelagic longline fleet operating in the Indian Ocean. In the boxplots the middle lines represents the median, the box the quartiles, the whiskers the non-outlier range and the points the outliers.

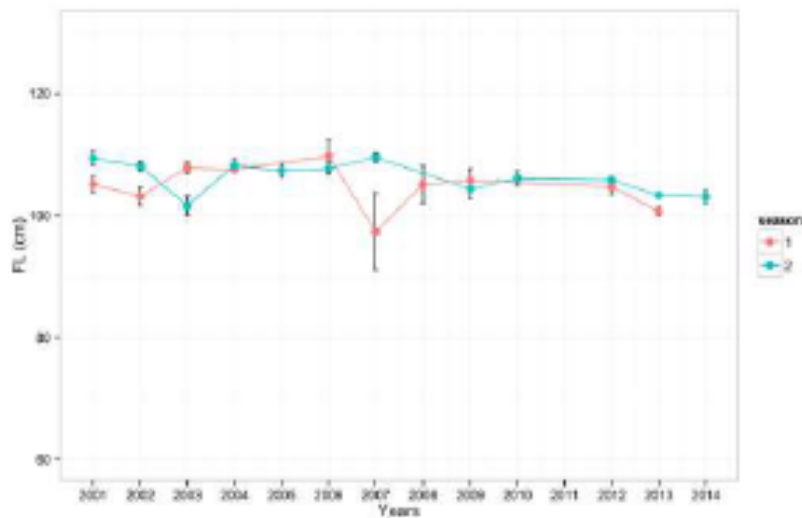


Figure 8. Mean yearly catch-at-size for the albacore reported by the Reunion Island pelagic longline fleet operating in the Indian Ocean in each season. The seasons were defined as 1 = colder period (months 4, 5, 6, 7, 8 and 9), and 2 = warmer period (months 10, 11, 12, 1, 2 and 3). The error bars represent the 95% confidence intervals.

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

3.3. CPUE standardization process

3.3.1. Nominal CPUE series

The total nominal albacore CPUE for the Reunion Island pelagic longline fishery is presented in Figure 9, both for the entire fishing area and the REU core region alone. In both cases the nominal CPUE tended to decrease in the initial time period (1994-1997), but when all regions are considered there was a slight increase from 1997 to 2000, while in the REU core region a general decrease was noted until 2000. The highest CPUE for the entire time series (both for all regions and for the REU data only) were recorded immediately after the period for which no set specific data was available (2001-2004), followed by a general decreasing trend until 2013, with an intermediate peak in the CPUEs during 2011 (Figure 9).

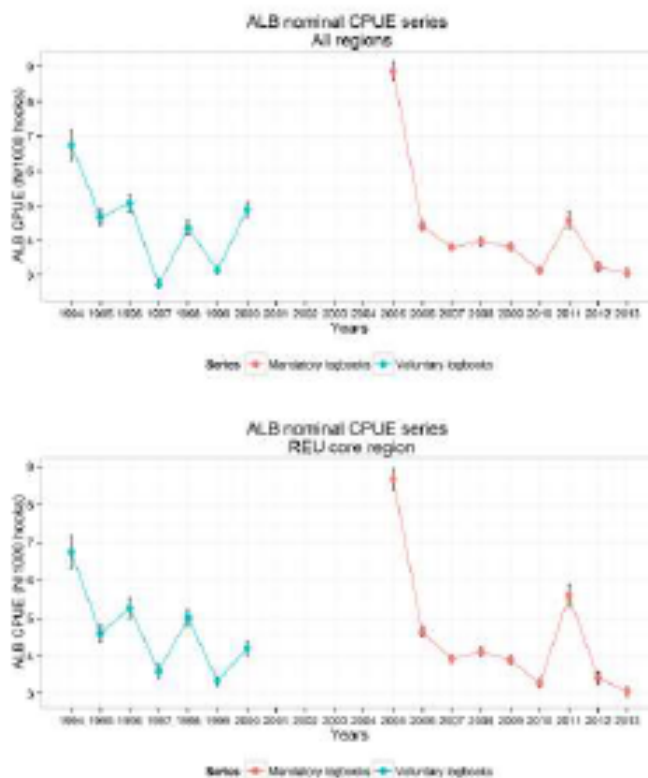


Figure 9. Nominal albacore CPUE series (N/1000 hooks) for the Reunion Island pelagic longline fishery in the Indian Ocean (all areas and REU core region) between 1994 and 2013. The periods between 1994-2000 and 2005-2013 were compiled from voluntary and mandatory logbooks, respectively. Note that there is a break in the time series between 2001-2004, for which no set-specific data is available. The error bars represent ± 1 standard error.

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

3.3.2. Data distribution

The distribution of the nominal albacore CPUE data was highly asymmetrical and skewed to the right, with a relatively high percentage of zeros (25.3%). After adding a constant (in this case $c=1$) and log-transforming the data, the CPUE distribution become more Normal-shaped, even though there were still some problems due to the high percentage of zeros (Figure 10). When considering only the positive sets, and after log-transforming the data, the CPUEs became much more Normal-shaped. This later result is particularly important when considering the Delta-method approach, as it is the specific data that is modeled with the lognormal component for the positive sets.

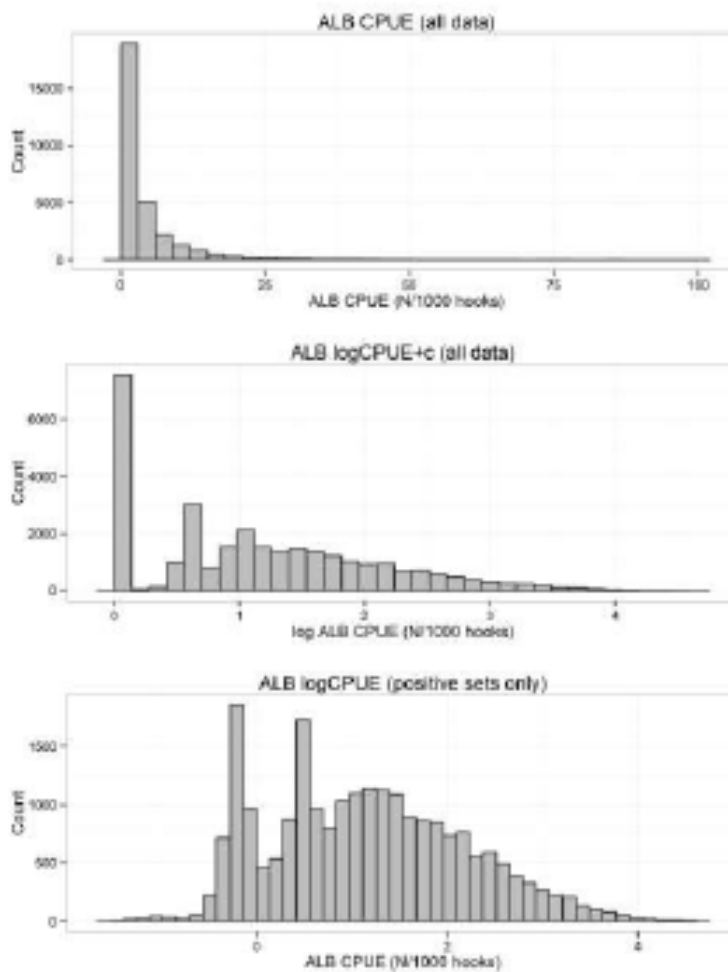


Figure 10. Distribution of the albacore nominal CPUE data (N/1000 hooks) in non-transformed and log-transformed scales (all sets and positive sets only), from logbooks reported between 1992-2000 and 2005-2013 in the Reunion Island pelagic longline fishery.

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

3.3.3. CPUE modeling: 1994-2000 data (voluntary logbooks)

The standardized albacore CPUE between 1994 and 2000 showed a general initial decreasing trend, followed by an increase in the later years, which is consistent with the nominal CPUE series (Figure 11). Not many differences were observed with the various models considered, even when considering the entire dataset from all regions combined *versus* the REU core region.

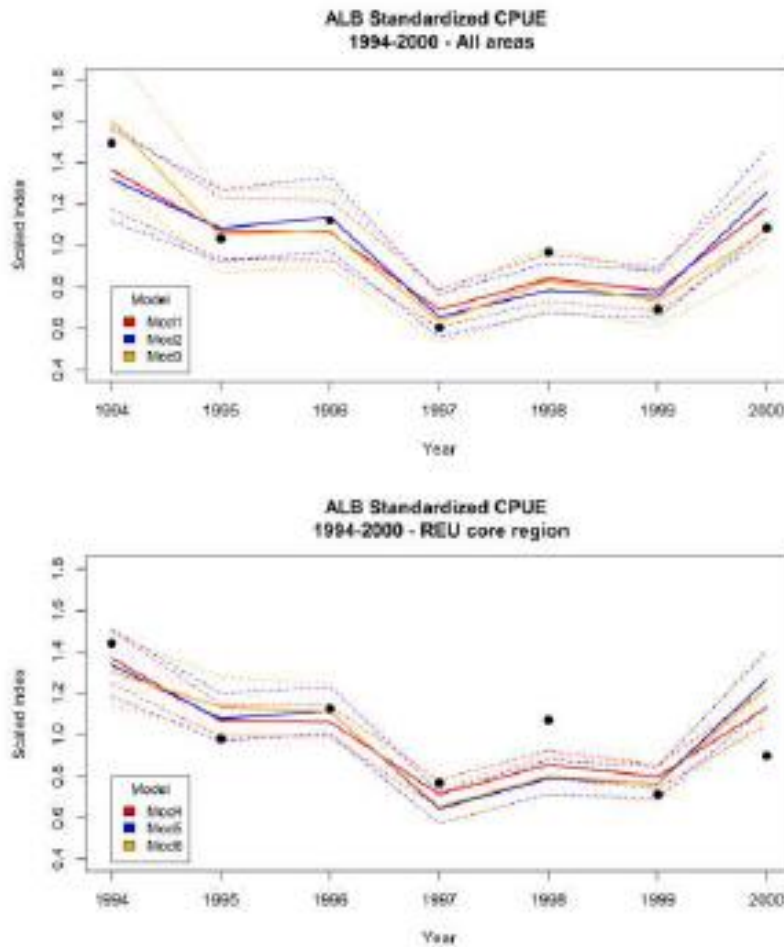


Figure 11. Standardized albacore CPUE indexes for the 1994-2000 data period (voluntary logbooks) of the Reunion Island pelagic longline fishery, considering the catches on all regions combined and in the REU core region. The black circles represent the nominal CPUE, the solid lines the standardized CPUE and the dotted lines the 95% confidence intervals of the various models. The various model specifications are listed in detail in Table 2.

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

In terms of model goodness-of-fit, the best model when considering data from all regions combined was the model using **Year + Month + Region + Vessel** but without interactions – **Mod 2** (higher R^2 and lower AIC values), while for the REU core region the best model was similar but also considered the **Month:Area interaction** – **Mod 6** (Table 2). On both cases (i.e. both datasets), and considering only the best models with each dataset, seasonality was the variable explaining most of the deviance, in this case using month or quarter, followed by the vessel effects, and then the year and spatial effects, respectively (Table 3).

Table 3. Deviance table for the explanatory variables used in the Reunion Island pelagic longline fishery for the albacore CPUE standardization of the 1994-2000 dataset, referring to the best candidate models considering all regions combined and the REU core region. The residual deviance (Df and Dev) refer to the specific degrees of freedom and deviance explained by each additional explanatory variable included sequentially in the models.

Model / Data	Variables	Df	Dev.	Resid Df	Resid. Dev	F-stat.	p-value
	Intercept only			7863	33141		
Mod 2:	Year	6	1216	7857	31925	77.8	< 0.001
Voluntary logbooks (1994-2000), All regions	Year + Month	11	10515	7846	21411	366.9	< 0.001
	Year + Month + Region	3	1157	7843	20253	148.1	< 0.001
	Year + Quarter + Region + Vessel	38	1554	7805	18699	15.7	< 0.001
	Intercept only			6936	27234		
Mod 6:	Year	6	723	6930	26511	54.7	< 0.001
Voluntary logbooks (1994-2000), REU core region	Year + Month	11	8665	6919	17846	357.3	< 0.001
	Year + Month + Area	3	74	6916	17771	11.3	< 0.001
	Year + Month + Area + Vessel	38	1401	6878	16370	16.7	< 0.001
	Year + Month + Area + Vessel + Month:Area	33	383	6845	15987	5.3	< 0.001

In terms of residual analysis of those two best models for this time period, no major outliers were detected, with the residuals tending to be randomly distributed along the data (Figure 12). However, it was possible to note that the residuals for the REU core region seemed better, especially when considering the dispersion of the quantile residuals along the fitted values and the Q-Q Plot (Figure 12).

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

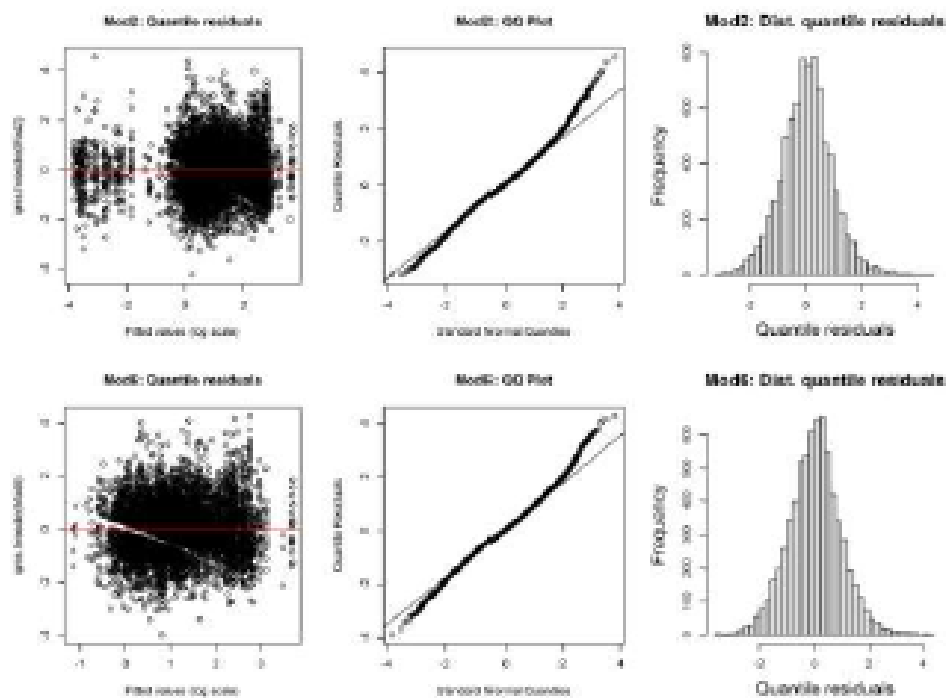


Figure 12. Residual analysis for the Reunion Island pelagic longline fishery albacore CPUE standardization of the 1994-2000 dataset, referring to the best candidate models considering all regions combined (Mod2) and the REU core region (Mod6). The plots on the left represent the quantile residuals along the predicted values (log scale), the plots in the middle represent the Q-Q Plot and the plots on the right the histogram with the residuals frequency distribution.

3.3.4. CPUE modeling: 2005-2013 data (mandatory logbooks)

The standardized CPUE for the mandatory logbooks for the period 2005 to 2013 showed a general decreasing trend along the entire period (Figure 13). This decrease was particularly evident during the initial years of the series (2005 to 2007), while it remained relatively stable at lower values thereafter. Like in the previous time period, not many differences were detected between the various candidate models considered (Figure 13).

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

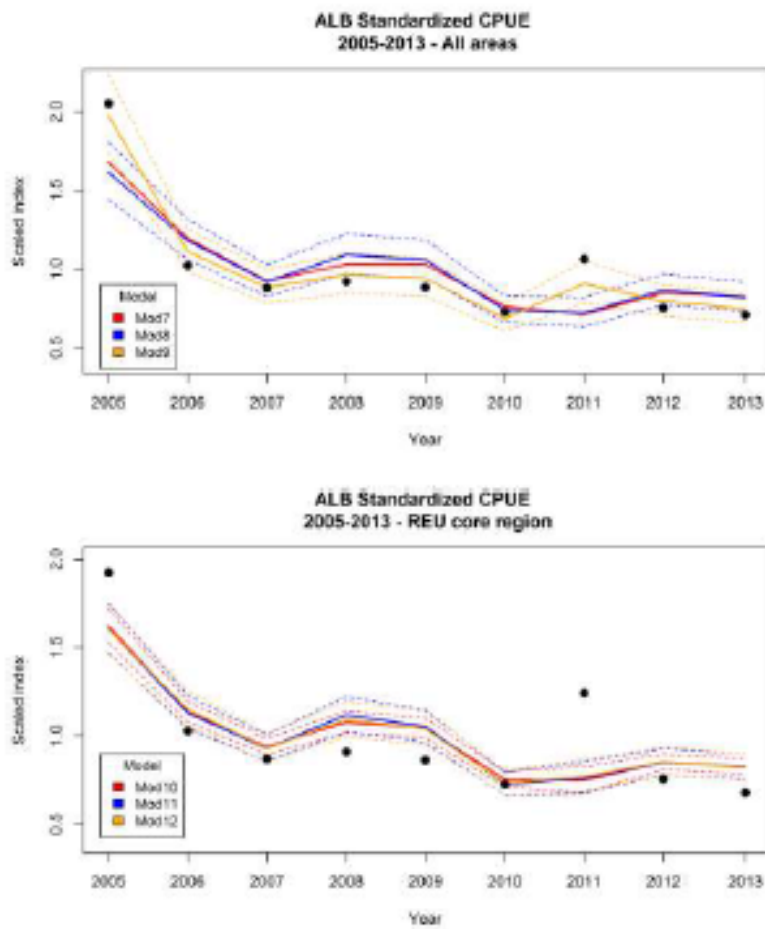


Figure 13. Standardized albacore CPUE indexes for the 2005-2013 data period (mandatory logbooks) of the Reunion Island pelagic longline fishery, considering the catches on all regions combined and in the REU core region. The black circles represent the nominal CPUEs, the solid lines the standardized CPUEs and the dotted lines the 95% confidence intervals of the various models. The various model specifications are listed in detail in Table 2.

In terms of model goodness-of-fit, the best model when considering data from all regions was the same as the previous time series, the model using Year + Month + Region + Vessel but without interactions – Mod 8 (higher R^2 and lower AIC values), while for the REU core region the best model was similar but also considered the Month:Area interaction – Mod 12 (Table 2). Like in the previous dataset, on both cases (i.e. using all data or the REU core region only), and considering only the best

IOTC–2014–WPTmT05–12 Rev_1

models within each dataset, the variables explaining most of the deviance was the seasonality, in this case always using month. However, and contrary to the previous time period, in this case the years were explaining more of the deviance than the vessel effects, that were then followed by the spatial effects (Table 4)

Table 4. Deviance table for the explanatory variables used in the Réunion Island pelagic longline fishery for the albacore CPUE standardization of the 2005-2013 dataset, referring to the best candidate models considering all regions and the REU core region only. The residual deviance (Df and Dev) refer to the specific degrees of freedom and deviance explained by each additional variable included sequentially in the models.

Model / Data	Variables	df	Dev.	Df	Dev	F-stat.	p-value
Mod 8: Mandatory logbooks (2005-2013), All regions	Intercept only			22017	91597		
	Year	8	4364	22009	87233	164.6	< 0.001
	Year + Month	11	22710	21998	64522	622.8	< 0.001
	Year + Month + Region	2	973	21996	63550	146.7	< 0.001
	Year + Month + Region + Vessel	40	3481	21956	60069	26.3	< 0.001
Mod 12: Mandatory logbooks (2005-2013), REU core region	Intercept only			20547	85583		
	Year	8	3930	20539	81653	159.4	< 0.001
	Year + Month	11	22113	20528	59540	652.3	< 0.001
	Year + Month + Area	3	591	20525	58949	63.9	< 0.001
	Year + Month + Area + Vessel	40	3091	20485	55859	25.1	< 0.001
	Year + Month + Area + Vessel + Month:Area	33	718	20452	55140	7.1	< 0.001

In terms of residual analysis of those two best models for this time period a few outliers were detected, but in general the residuals tended to be randomly distributed along the data and showed a Normal shaped distribution (Figure 14).

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

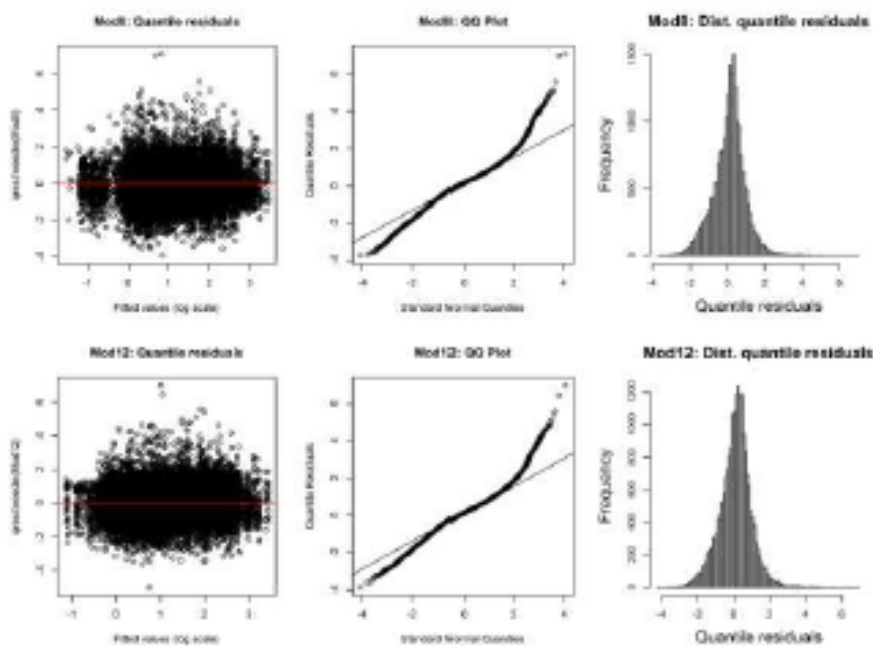


Figure 14. Residual analysis for the Réunion Island pelagic longline fishery albacore CPUE standardization of the 2005-2013 dataset, referring to the best candidate models considering all regions combined (Mod8) and the REU core region (Mod12). The plots on the left represent the quantile residuals along the predicted values (log scale), the plots in the middle represent the Q-Q Plot and the plots on the right the histogram with the residuals frequency distribution.

3.3.5. CPUE modeling: All data (1994-2000 & 2005-2013)

When combining the two datasets from the two time periods (1994-2000 and 2005-2013), the standardized albacore CPUEs showed an initial decreasing between 1994-1997, followed by an increase until 2000. Although the data gap did not allow to analyze the CPUE trend during the mid 2000's, there was a peak in 2005 that was followed by a general decreasing trend thereafter, which was less pronounced for the later period of the time series (i.e. after 2010) (Figure 15). Like with the models for each period separately, the different candidate models using various model specifications and explanatory variables did not produce any major differences. Likewise, the patterns of using the entire fishery data and the REU core region were also very similar (Figure 15).

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

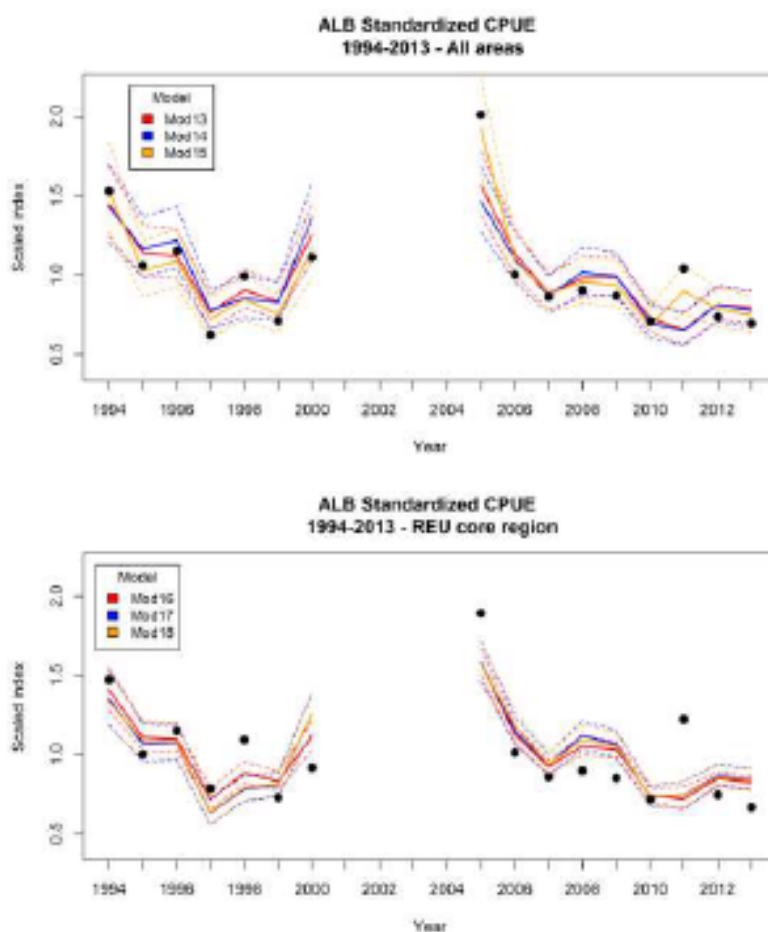


Figure 15. Standardized albacore CPUE indexes for the entire 1994-2000 and 2005-2013 data periods (voluntary and mandatory logbooks) of the Reunion Island pelagic longline fishery, considering the catches on all regions combined and in the REU core region. The black circles represent the nominal CPUE, the solid lines the standardized CPUE and the dotted lines the 95% confidence intervals of the various models. The various model specifications are listed in detail in Table 2.

For this entire time period, and in terms of model goodness-of-fit, the best models when considering all regions were obtained using **Year + Month + Region + Vessel – Mod 14**. For the data from the REU core region the best model was similar but also considered the **Month:Area interaction – Mod 18** (Table 2). When considering only the best models for the entire region and for the REU core region, the variables

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

explaining most of the deviance were seasonality, in this case using month, followed by the year, vessel and the regional effects (Table 5).

Table 5. Deviance table for the explanatory variables used in the Reunion Island pelagic longline fishery for the albacore CPUE standardization of the 1994-2000 and 2005-2013 datasets, referring to the best candidate models considering all regions combined and the REU core region. The residual deviance (Df and Dev) refer to the specific degrees of freedom and deviance explained by each additional variable included sequentially in the models.

Model / Data	Variables	df	Dev.	Df	Dev	F-stat.	p-value
	Intersept only			29881	123987		
Mod14: All data (1994-2013), All regions	Year	15	5568	29866	118419	114.1	< 0.001
	Year + Month	11	32142	29855	86277	898.5	< 0.001
	Year + Month + Region	3	1941	29852	84336	199.0	< 0.001
	Year + Month + Region + Vessel	64	4298	29788	80038	20.7	< 0.001
	Intersept only			27484	112510		
Mod18: All data (1994-2013), REU core region	Year	15	4722	27469	107788	105.3	< 0.001
	Year + Month	11	30130	27458	77658	916.1	< 0.001
	Year + Month + Area	3	480	27455	77178	53.5	< 0.001
	Year + Month + Area + Vessel	64	4086	27391	73092	21.4	< 0.001
	Year + Month + Area + Vessel + Month:Area	33	736	27358	72355	7.5	< 0.001

In terms of residual analysis of those two best models for the entire time period, the residuals for the model corresponding to the core region (Mod18) seemed to be better than when considering all the regions, as they were more evenly distributed along the fitted values and with a more Normal-shaped distribution (Figure 16). Only a few outliers were detected, but in general the residual analysis did not detect any major problems with the models (Figure 16).

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

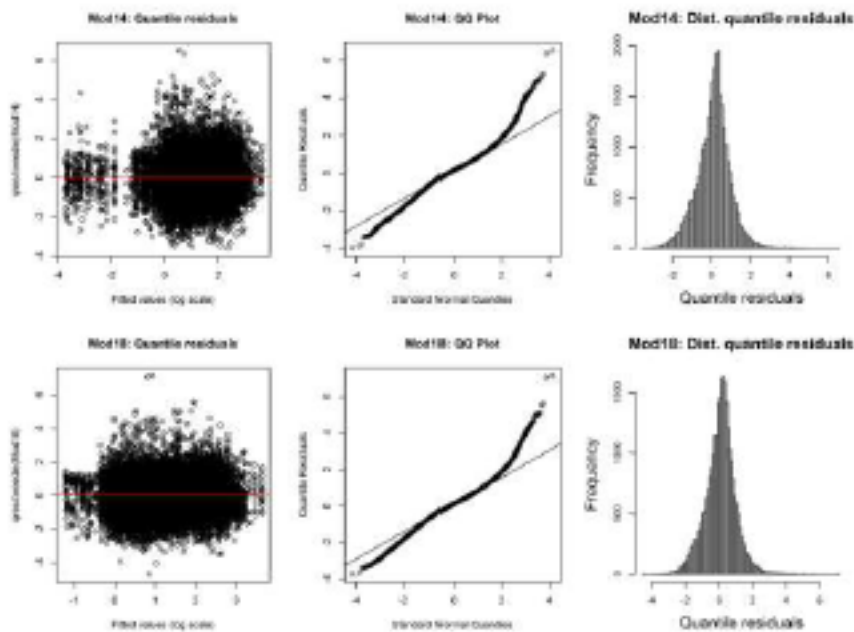


Figure 16. Residual analysis for the Reunion Island pelagic longline fishery albacore CPUE standardization of the 1994-2000 and 2005-2013 combined datasets, referring to the best candidate models considering all regions combined (Mod14) and the REU core region (Mod18). The plots on the left represent the quantile residuals along the predicted values (log scale), the plots in the middle represent the Q-Q Plot and the plots on the right the histogram with the residuals frequency distribution.

3.3.6. Sensitivity analysis

The sensitivity analysis in terms of the chosen error distribution revealed that the Tweedie and the Negative Binomial models produced almost identical standardized indices. The lognormal model was also very similar but with some slight differences, while the Delta-method approach produced the largest differences between these four tested approaches (Figure 17). However, the decreasing trend between 1994-1997, followed by an increase until 2000, and then a general decrease for the later period (2005-2013), was similar for all tested models, despite the detail differences noted between the models (Figure 17). In fact, the Tweedie and the Negative Binomial models resulted in practically identical indexes, with only some very minor differences. With regards to the Tweedie and the Lognormal models most of the indices was very similar, with the main differences detected especially for the most recent years, with the index obtained with the Lognormal model decreasing more than with the Tweedie model in those later years (Figure 17). By the contrary, with the Delta-method, larger differences were detected both in the initial and in the later time periods, and those

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

differences were common to all other models. In terms of goodness-of-fit, the R^2 values obtained were also very similar, specifically 35.4% for the Tweedie, 35.2% for the Lognormal and 36.1% for the Negative Binomial model. With the Delta-method the R^2 values obtained were 37.8% for the positives-only Lognormal model and 14.8% for the Negative Binomial model with the proportion of positives. However, the values obtained with the Delta-method cannot be compared directly to the other models, as only part of the data (positives only) is modeled with one of the components (lognormal component), while with the Binomial model the component modeling the expected proportion of positive sets and not the CPUE.

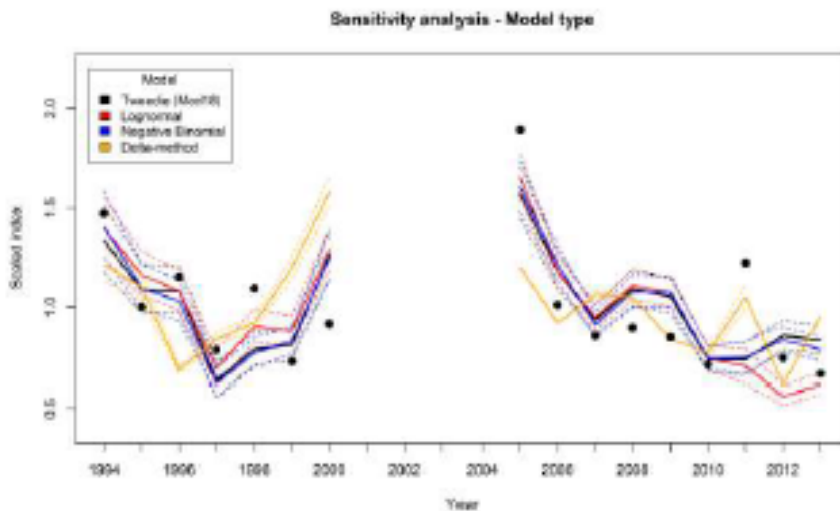


Figure 17. Sensitivity analysis to the model type (error distribution), for comparing the standardized albacore CPUE indexes obtained with the final Tweedie model (Mod 18), with a Lognormal model (adding $c=1$ to the CPUE), a Negative Binomial (modeling catches in N and using number of hooks as offset) and with the Delta-method approach (modeling separately the positive CPUE with a lognormal and the proportion of positives with a binomial logistic). The scaled annual indexes of abundance are represented as lines (with the 95% confidence intervals as dotted lines), and the black circles represent the nominal scaled CPUE.

3.3.7. Quarterly CPUE model

The quarterly index CPUE model was also applied to the two combined datasets, using the run Mod18 specifications (best model selected from the REU core region with the entire time series), in that particular case using the quarterly seasonal effects instead of the monthly effects, and taking into account the interactions between years and quarters. In that model it was possible to observe the strong quarterly effects in the albacore catch rates, which were consistently capturing more fishes during the warmer periods of the year, particularly during the 4th quarter of each year (Figure 18). This helps to highlight

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

the high seasonality of the albacore catches in this fishery, as the albacores are only present in the fishing grounds and taken by this fishery during part of the year.

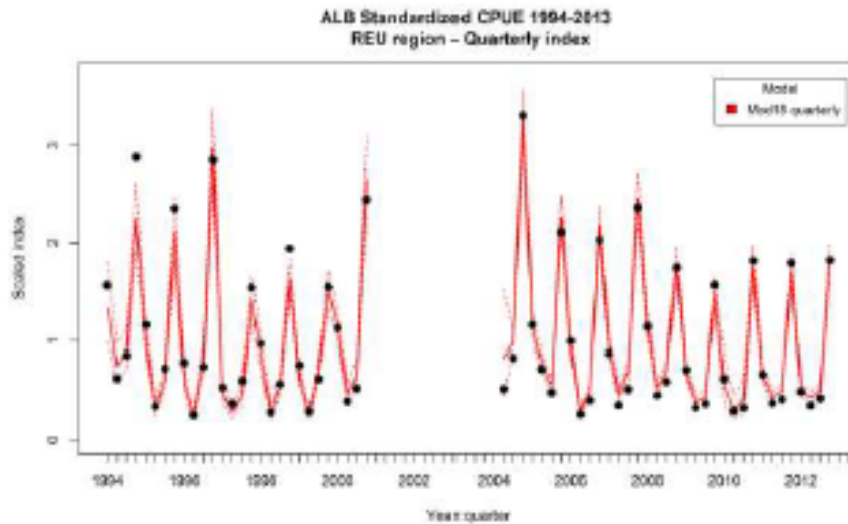


Figure 18. Standardized quarterly albacore CPUE indexes for the 1994-2000 and 2005-2013 data periods (voluntary and mandatory logbooks) of the Reunion Island pelagic longline fishery, considering the catches in the REU core region. The black circles represent the nominal CPUE, the solid red lines the standardized CPUE and the dotted red lines the 95% confidence intervals.

4. Conclusions

After testing the various available datasets for the two different time periods, comparing the use of the entire region *versus* the REU core area and performing a sensitivity analysis to the model type used, we concluded that run **Mod 18** (as specified in **Table 2**, with the index plotted in **Figures 15 and 17**, the residuals plotted in **Figure 16**, and the deviance table presented in **Table 5**, seemed to be the best approach to standardize the annual albacore CPUE index from the Reunion Island pelagic longline fishery. It should be noted that **Mod6** is also very well fitted to the data, however that specific model is only using the initial years of the time series and not all the available datasets.

The final annual standardized CPUE index values for the Reunion Island pelagic longline fishery with the respective confidence intervals and coefficients of variation, which represents a further contribution for the future stock assessment of the species in the Indian Ocean, are presented in **Table 6**.

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

Table 6. Standardized albacore CPUE index (N/1000 hooks) for the Reunion Island pelagic longline fishery in the Indian Ocean between 1994 and 2013, suggested to be used in future stock assessments, including the index value, the 95% confidence intervals (CI) and the coefficient of variation (CV, %).

Year	Estimate	Upper 95%CI	Lower 95%CI	CV (%)
1994	3.80	4.31	3.35	6.3
1995	3.10	3.47	2.77	5.7
1996	3.08	3.43	2.77	5.4
1997	1.81	2.06	1.60	6.4
1998	2.25	2.50	2.03	5.2
1999	2.31	2.53	2.10	4.6
2000	3.59	3.97	3.25	5.0
2001	-	-	-	-
2002	-	-	-	-
2003	-	-	-	-
2004	-	-	-	-
2005	4.48	4.86	4.13	4.1
2006	3.36	3.63	3.11	3.9
2007	2.67	2.88	2.47	3.8
2008	3.11	3.38	2.86	4.2
2009	3.00	3.25	2.76	4.1
2010	2.11	2.29	1.94	4.2
2011	2.11	2.36	1.88	5.7
2012	2.44	2.65	2.25	4.1
2013	2.38	2.58	2.19	4.1

The presented index has the advantages of using the entire time series period available (1994 to 2013, with missing years between 2001 and 2004). Furthermore by using a Tweedie model, the CPUE can be modeled directly and there is no need to add a constant to the CPUE to remove the zeros (as has to be done with the lognormal model) or to combine two different models (as has to be done with the Delta-method). As was shown by Shono (2008), adding a constant to the CPUE seems to be a good approach when the percentage of zeros is relatively low (<10%), but may produce biased results for datasets with larger percentages of zeros, as was the case of the present datasets with 20.5-25.3% of zeros (depending on the dataset).

An alternative approach with very similar results would be to use a Negative Binomial model, with the only shortcoming of this approach the fact that the Negative Binomial being a discrete distribution and therefore being limited to modeling the catches in numbers (counts). However, we would not recommend applying this approach if the catches would have been modeled in biomass. In this specific case, the Tweedie distribution (as a continuous distribution) can model the CPUE directly, while the

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

Negative Binomial used was modeling the catches in counts (N) and using the effort (number of hooks) as an offset variable in the model. Additionally, a Poisson model was also tested instead of the Negative Binomial, but not used due to the fact that the albacore CPUE data was overdispersed (dispersion parameter = 5.89).

In terms of using the all three regions *versus* the core region of the fishery (Reunion - REU) and albacore catches, one limitation when using only the core region is the possible loss of information on eventual spatial changes in the population (e.g. range contraction). However, when the standardized CPUEs were compared between the all combined areas of operation of the fishery with the REU core area only, the major CPUE trends were very similar indicating that such possible spatial changes were not being lost when modeling only the core region. In that way, the models for the REU core region seem to be able to reflect the changes in the albacore population in the entire region of the fishery.

Another tested option was to use a quarterly model, and it was interesting to note the seasonal variability in the quarterly CPUE index, with higher albacore catch rates during the warmer period, particularly in quarter 4. This quarterly model is reflecting the dynamics of the species and the albacore catches within the fishery along the quarters, while in the proposed annual standardized index (as presented in Mod18) those seasonal effects were removed from the annual index, as in that model the seasonal factors (in that particular case using months) were considered. Additionally, in the proposed final annual index the interactions between month and area were also considered, meaning that if the seasonal effects were different between the various regions those were also taken into account in the final annual CPUE index.

Another issue that has some influence in the results of this work is the FL-W relationship used to convert from catch in biomass to catch in numbers, and in this study we used the "*Length & weight conversion equations used for IOTC species*". However, it should be noted that the relationships currently used for IOTC albacore comes from South Atlantic ICCAT data (equation from Penney 1994) but with an error introduced in IOTC ($b= 3.0973$ and not 3.0793). As such, and also considering other relationships available specifically for the Indian Ocean (e.g. Setyadji et al. 2012; Xu and Tian 2011; Zhu et al. 2008; Hsu 1999; Huang et al. 1990), this relationship currently accepted by IOTC might not be the most appropriate one for the Indian Ocean albacore. An albacore biological revision is currently being carried out by Ifremer, and will be presented in a separate document during the IOTC-WPTmT5.

Finally, one possibly important shortcoming of this work is the fact that targeting effects were not directly included in the models, but it is possible that the relative importance of the species in the fishery may have changed over time. For future research, it would be recommended to compile and collect additional data, especially operational details that could be used as proxy indicators for the fishery targeting effects, such as setting depth, bait and hook type used, and any other factors that the skippers identify as relevant. However, the final models used included a vessel

IOTC–2014–WPTmT05–12 Rev_1

identification factor and those may, to some extent, also be accounting for possible species targeting effects (i.e. swordfish *versus* albacore) that vary between the different vessels. Additionally, the fact that the models for the core region of the catches (were the targeting effects are likely to be less important, particularly during the warmer season when the albacore catches are higher) were producing similar results to the models for the entire fishery, which seems to suggest that the presented models were not majorly influenced by possible unaccounted targeting effects or, that the vessel effects already included are taking into account those possible targeting effects.

5. Acknowledgments

This work was carried out as part of project GERMON, GEneTic stRucture and Migration Of albacore tuna (GERMON Project) funded by the Fond Européen pour la Pêche – FEP and Ifremer (Ref n°39704/DMSOI/2013). The authors are grateful to Dale Kolody (CSIRO Marine and Atmospheric Research, Hobart, Tasmania, Australia) for providing help in the initial development stages of this work in terms of database management and R-code scripts.

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

6. References

- Becker, R.A., Wilks, A.R., Brownrigg, R. 2013a. mapdata: Extra Map Databases. R package version 2.2-2. <http://CRAN.R-project.org/package=mapdata>
- Becker, R.A., Wilks, A.R., Brownrigg, R., Minka, T.P. 2013b. maps: Draw Geographical Maps. R package version 2.3-6. <http://CRAN.R-project.org/package=maps>
- Bivand, R. 2013. classInt: Choose univariate class intervals. R package version 0.1-21. <http://CRAN.R-project.org/package=classInt>
- Bivand, R., Lewin-Koh, N. 2013. maptools: Tools for reading and handling spatial objects. R package version 0.8-27. <http://CRAN.R-project.org/package=maptools>
- Campbell, R.A. 2004. CPUE standardisation and the construction of indices of stock abundance in a spatially varying fishery using general linear models. *Fisheries Research*, 70: 209-227.
- Candy, S.G. 2004. Modeling catch and effort data using generalized linear models, the tweedie distribution, random vessel effects and random stratum-by-year effects. *CCAMLR Science*, 11: 59-80.
- Carvalho, F., Hazin, H., Hazin, F.H.V., Wor, C., Murie, D., Travassos, P., Burgess, G. 2009. Catch trends of blue and mako sharks caught by Brazilian longliners in the Southwestern Atlantic Ocean (1978-2007). *Collective Volume of Scientific Papers ICCAT*, 64(5): 1717-1733.
- Coelho, R., Santos, M.N., Lino, P.G. 2012. Update of the standardized CPUE series for major shark species caught by the Portuguese pelagic longline fishery in the Indian Ocean. *IOTC Working Document*, IOTC-2012-WPEB08-29.
- Coelho, R., Lino, P.G., Santos, M.N. 2013. Standardized CPUE for the shortfin mako (*Isurus oxyrinchus*) caught by the Portuguese pelagic longline fishery. *Collective Volume of Scientific Papers ICCAT*, 69(4): 1591-1604.
- Cortés, E. 2009. Standardized catch rates for blue and mako sharks from the U.S. pelagic longline logbook and observer programs. *Collective Volume of Scientific Papers ICCAT*, 64(5): 1595-1613.
- Dunn, P.K. 2012. tweedie: Tweedie exponential family models. R package version 2.1.3.
- Fox, J., Weisberg, S. 2011. *An {R} Companion to Applied Regression*, Second Edition. Thousand Oaks CA: Sage.
- Gerritsen, H. 2013. mapplots: Data visualisation on maps. R package version 1.4. <http://CRAN.R-project.org/package=mapplots>

IOTC–2014–WPTmT05–12 Rev_1

- Hazin, H., Frédou, T., Travassos, P., Hazin, F., Carvalho, F. 2008. Standardization CPUE series of albacore (*Thunnus alalunga*) caught by Brazilian longliners in the Atlantic Ocean. *Collective Volume of Scientific Papers ICCAT*, 62(3): 934-943.
- Hilborn, R., Walters, C.J. 1992. *Quantitative Fisheries Stock Assessment: Choice, Dynamics and Uncertainty*. Chapman and Hall, New York. 570 pp.
- Hsu, C.C. 1999. The length-weight relationship of Albacore, *Thunnus alalunga*, from the Indian Ocean. *Fisheries Research* 41: 87-92
- Huang, C.-S., Wu, C.-L., Kuo, C.-L., Su, W.-C., 1990. Age and growth of the Indian Ocean albacore, *Thunnus alalunga*, by scales. IPTP Working Paper, FAO IPTP/TWS/90/53, pp.
- Hojsgaard, S., Halekoh, U., Robison-Cox, J., Wright, K., Leidi, A.A. 2013. doBy: doBy - Groupwise summary statistics, general linear contrasts, population means (least-squares-means), and other utilities. R package version 4.5-9. <http://CRAN.R-project.org/package=doBy>
- Kolody, D., Poisson, F., Bourjea, J. 2010. Reunion Longline Swordfish Catch Rate Standardization. *IOTC Working Document*, IOTC–2010–WPB–03.
- Lee, L-K., Chang, F-C., Chen, C-Y., Wang, W-J., Yeh, S-Y. 2012. Standardized CPUE of Indian albacore (*Thunnus alalunga*) based on Taiwanese longline catch and effort statistics dating from 1980 to 2011. *IOTC Working Document*, IOTC–2012–WPTmT04–18.
- Lee, S., Kim, Z.G., Nishida, T., Lee, M.K. 2012. Standardization of albacore catch rates of Korean tuna longline fisheries in the Indian Ocean (1986-2010). 2012. *IOTC Working Document*, IOTC–2012–WPTmT04–17_Rev 1.
- Lenth, R.V. 2013. lsmeans: Least-squares means. R package version 1.06-05. <http://CRAN.R-project.org/package=lsmeans>
- Matsumoto, T., Nishida, T., Okamoto, H. 2012. Standardization of albacore CPUE by Japanese longline fishery in the Indian Ocean. *IOTC Working Document*, IOTC–2012–WPTmT04–10 Rev_1.
- Maunder, M.N., Punt, A.E. 2004. Standardizing catch and effort data: a review of recent approaches. *Fisheries Research*, 70: 141–159.
- Neuwirth, E. 2011. RColorBrewer: ColorBrewer palettes. R package version 1.0-5. <http://CRAN.R-project.org/package=RColorBrewer>
- Nishida, T., Matsumoto, T., Kitakado, T. 2012. Stock and risk assessments on albacore (*Thunnus alalunga*) in the Indian Ocean based on AD Model Builder implemented Age-Structured Production Model (ASPM). *IOTC Working Document*, IOTC–2012–WPTmT04–21 Rev_4.

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

- Ortiz, M., Arocha, F. 2004. Alternative error distribution models for standardization of catch rates of non-target species from a pelagic longline fishery: billfish species in the Venezuelan tuna longline fishery. *Fisheries Research*, 70: 275-297.
- Penney, A.J., 1994. Morphometric relationships, annual catches and catch-at-size for south African caught south Atlantic albacore (*Thunnus alalunga*). International Commission for the Conservation of Atlantic Tunas, Coll. Vol. Sci. Pap. 42(1): 371-382.
- Poisson F., Taquet. M. (Eds). 2001. L'espadon : de la recherche à l'exploitation durable. Programme Palangre Réunionnais, Rapport final, 248pp.
- Pons, M., Travassos, P., Domingo, A., Hazin, H., Hazin, F. 2009. Standardized CPUE of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) caught by the Uruguayan and Brazilian pelagic longline fleets (1980-2006). *Collective Volume of Scientific Papers ICCAT*, 63(3): 977-987.
- Pradhan, N.C., Leung, P. 2006. A Poisson and negative binomial regression model of sea turtle interactions in Hawaii's longline fishery. *Fisheries Research*, 78: 309-322.
- Punt, A.E., Walker, T.I., Taylor, B.L., Pribac, F. 2000. Standardization of catch and effort data in a spatially-structured shark fishery. *Fisheries Research*, 45: 129-145.
- R Core Team, 2013. A language and environment for statistical computing. Version 2.15.3. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>.
- Setyadi, B., Novianto, D., Nugraha, B., Sadiyah, L. 2012. Catch and size distribution of albacores (*Thunnus alalunga*) in the Eastern Indian Ocean. IOTC-2012-WPTmT04-13.
- Shono, H. 2008. Application of the Tweedie distribution to zero-catch data in CPUE analysis. *Fish. Res.*, 93: 154-162.
- Stabler, B. 2013. shapefiles: Read and Write ESRI Shapefiles. R package version 0.7. <http://CRAN.R-project.org/package=shapefiles>
- Uosaki, K., Shono, H. 2008. Standardized CPUE for albacore using lognormal and negative binomial models for the Japanese longline in the Atlantic Ocean. *Collective Volume of Scientific Papers ICCAT*, 62(3): 911-933.
- Venables, W.N., Ripley, B.D. 2002. *Modern Applied Statistics with S*. 4th Edition. Springer, New York.
- Warnes, G.R. 2012. gmodels: Various R programming tools for model fitting. R package version 2.15.3. <http://CRAN.R-project.org/package=gmodels>
- Wickham, H. 2009. ggplot2: elegant graphics for data analysis. Springer New York.

IOTC-2014-WPTmT05-12 Rev_1

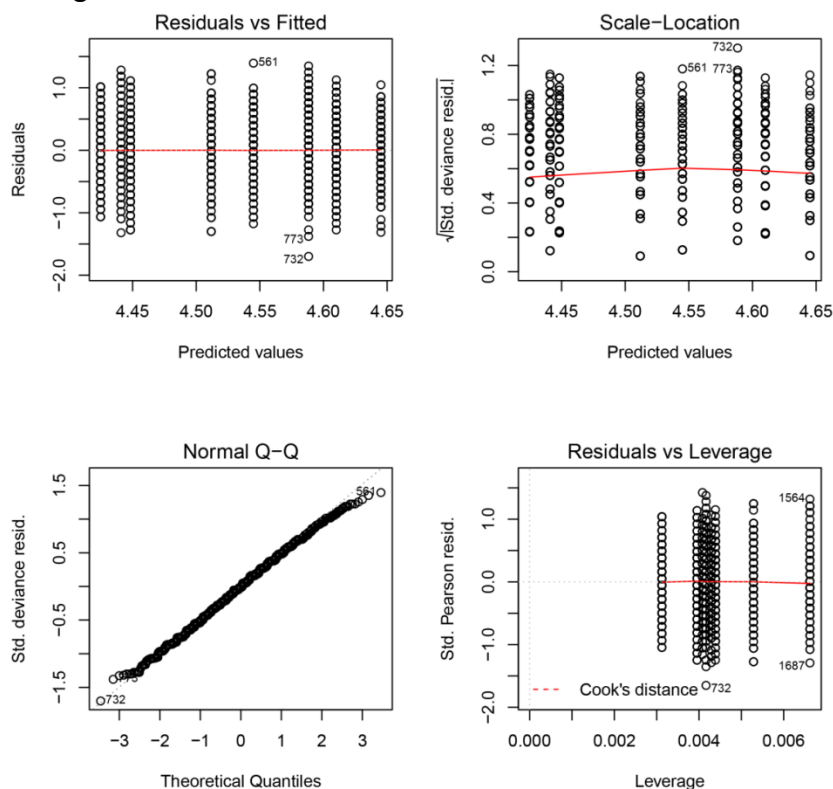
Wickham, H. 2012. scales: Scale functions for graphics.. R package version 0.2.3. <http://CRAN.R-project.org/package=scales>

Wood, S.N. 2006. Generalized Additive Models: An Introduction with R. Chapman and Hall/CRC.

Wood, S.N. 2011. Fast stable restricted maximum likelihood and marginal likelihood estimation of semiparametric generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society (B)*, 73(1): 3-36.

Zhu, G., Liuxiong, X., Yingqi, Z., Dai, X. 2008. Length-frequency compositions and weight-length relations for big-eye tuna, yellowfin tuna, and albacore (Perciformes: Scombridae) in the Atlantic, Indian, and Eastern Pacific Oceans. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 38(2): 157-161.

Annexe C. Distribution des résidus du modèle linéaire généralisé effectué sur la distribution en taille des thons germons.



Annexe D. Protocole d'amplification PCR de l'ADN mitochondrial chez le thon germon.

Pour un volume PCR final de 25 μ L :

- 12,4 μ L d'eau ultra-pure,
- 2,5 μ L de Buffer à 10 mM,
- 0,1 μ L de Taq (5 U/ μ L),
- 2,5 μ L de DNTP à 2 mM,
- 1,25 μ L de l'amorce sens (P3) à 10 μ M, 1,25 μ L de l'amorce anti-sens (PB) à 10 μ M,
- 5 μ L d'ADN,
- complété par de l'eau ultra pure pour atteindre 25 μ L.

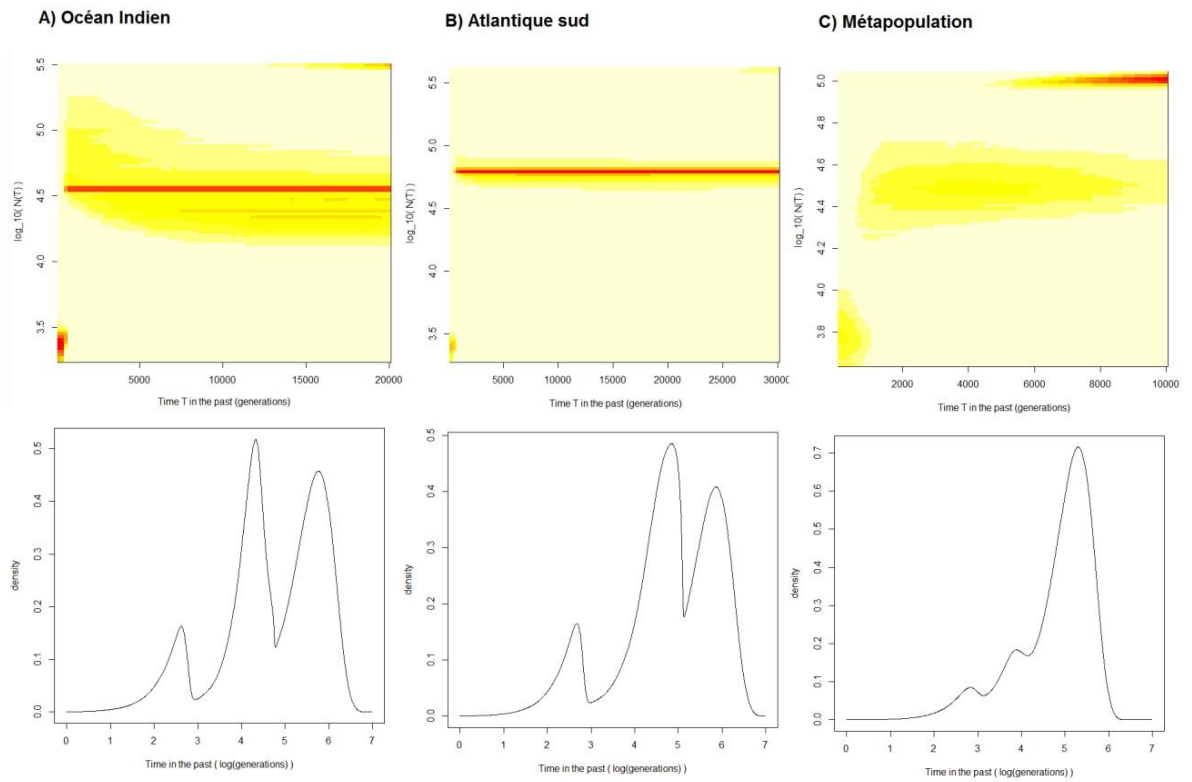
Le programme pour la phase d'amplification de l'ADNmt sur thermocycleur a été le suivant :

- 5 min à 94°C (activation de la Taq, dénaturation de l'ADN),
- 30 cycles de 45 s à 95°C (dénaturation), 45 s à 50°C (hybridation spécifique des amorces), 1 min à 72°C (élongation),
- 5 min à 72°C (phase d'élongation finale),
- ∞ min à 4°C (pour conserver le produit de la PCR).

Annexe E. Table des FST, FIS et FIT par marqueurs microsatellites du thon germon sélectionnés (Panel B). La moyenne et l'écart-type sont présentés en fin de colonne.

Marqueurs Panel B	FIS	FIT	FST
ThuAla-mt-02	0,07442	0,0768	0,00257
ThuAla-mt-05	0,07361	0,07598	0,00256
ThuAla-mt-06	0,07348	0,07583	0,00254
ThuAla-mt-07	0,0742	0,07656	0,00255
ThuAla-mt-08	0,07131	0,07368	0,00256
ThuAla-mt-09	0,07182	0,07416	0,00251
ThuAla-mt-10	0,07313	0,07551	0,00257
ThuAla-mt-12	0,07374	0,07608	0,00253
ThuAla-mt-13	0,07259	0,07494	0,00254
ThuAla-mt-14	0,07453	0,07687	0,00253
ThuAla-mt-15	0,07373	0,07605	0,00251
ThuAla-mt-16	0,07268	0,07506	0,00257
ThuAla-mt-23	0,07452	0,07684	0,00251
ThuAla-mt-25	0,07432	0,07638	0,00222
ThuAla-mt-26	0,07336	0,07573	0,00256
ThuAla-mt-28	0,07433	0,07672	0,00259
ThuAla-mt-29	0,07428	0,07668	0,00259
ThuAla-mt-30	0,07468	0,07698	0,00249
ThuAla-mt-31	0,07455	0,07688	0,00252
ThuAla-mt-33	0,07417	0,07638	0,00239
ThuAla-mt-34	0,07434	0,07668	0,00252
Tth12-29	0,07461	0,07695	0,00252
tth14	0,07341	0,07578	0,00256
tth157	0,07493	0,07725	0,00251
Tth16-2	0,07028	0,07251	0,00239
Tth17	0,05557	0,05774	0,00230
Tth185	0,07519	0,07757	0,00257
Tth-21	0,07416	0,07653	0,00256
tth226	0,07396	0,07632	0,00254
Tth254	0,07351	0,07584	0,00251
Tth-5	0,07098	0,07335	0,00256
tth62	0,07381	0,07613	0,00251
Ttho-1	0,07407	0,07642	0,00254
Ttho-6	0,07227	0,07463	0,00254
Ttho-7	0,07328	0,07513	0,00199
Moyenne :	0,07316	0,07548	0,00250
Ecart-type	0,01868	0,01883	0,00068

Annexe F. Distributions des tailles efficaces en fonctions des temps de coalescence (figures du haut) et signaux des goulots d'étranglement (figures du bas) à partir du modèle VarEff (Nikolic et Chevalet 2014) chez le thon germon pour la population de l'océan Indien (A), de l'Atlantique sud (B) et en fusionnant les deux populations (C).



Annexe G. Identification microscopique des stades de développement des oocytes chez le thon germon dans l'Ouest de l'océan Indien.

Stade de développement des ovocytes	Caractéristiques
Croissance primaire	
Chromatine nucléaire	L'ovocyte est entouré de quelques cellules de follicules squameuses. Le nucleus est grand et situé au centre, entouré par une fine couche de cytoplasme contenant un grand et unique nucléole.
Périnucléolaire	La taille du nucleus augmente et les nucléoles à sa périphérie se multiplient. Les «corps de Balbiani" migrent du nucleus vers le cytoplasme. Pour finir, des vacuoles apparaissent dans le cytoplasme et le matériel précurseur du chorion commence à s'accumuler en groupe.
Formation d'alvéoles corticale	Apparition de vésicules sphériques à la périphérie du cytoplasme. Ces vésicules augmentent en taille et en nombre pour former des rangées donnant lieu aux alvéoles corticales. Des gouttes d'huile commencent à s'accumuler dans le cytoplasme. A ce stade, le chorion et le couches folliculaires sont apparentes.
Vitellogène (vitellins)	
	Ce stade se caractérise par l'apparition de "vrai" vésicules vitelline dans le cytoplasme. En outre, la séparation du chorion au sein des deux couches s'est réalisé: radiation zonale intérieure et extérieure. Ce stade se divise en 3 stades différents :
Vtg 1	Des gouttelettes d'huile occupent la zone plus cytoplasmique que granulaire vitélline.
Vtg 2	Des gouttelettes d'huile occupent autant la zone cytoplasmique que granulaire vitélline.
Vtg 3	Des gouttelettes d'huile occupent moins la zone cytoplasmique que granulaire vitélline.
Maturation	
Migration germinale vésiculaire (GVM)	Le nucleus (de la vésicule germinale) commence à migrer vers le pôle et les gouttelettes d'huile fusionnent pour coalescencer dans un unique globule d'huile.
Décomposition germinale vésiculaire (GVBD)	Le nucleus termine sa migration vers le pôle et l'unique gouttelette d'huile est clairement au centre de l'ovocyte.
Hydratation	Les granules vitéllines fusionnent dans des plaques vitéllines, pour finir dans une masse homogène. Le nucleus est désintégrée et les alvéoles corticales et le cytoplasme sont limitées à une couche mince périphérique. L'ovocyte augmente considérablement en taille en raison de

l'absorption de liquides. L'ovocyte est hydraté et il a un aspect translucide.

Annexes

Annexe H. Fréquence d'occurrence (0%), nombre moyen (MN ± ec), poids reconstitué moyen (PMR ± ec) des proies trouvées dans les estomacs du thon germon collectés dans quatre régions de l'océan Indien.

Ordre	Familles	Espèces	Le Cap			Mozambique			ISSG			MONS			
			MN±SD	PRM±SD	O%	MN±SD	PRM±SD	O%	MN±SD	PRM±SD	O%	MN±SD	PRM±SD	O%	
Decapoda	Enoplateuthidae	<i>Abraliopsis pfefferi</i>	<0.1±0.1	<0.1±0.1	0.3	2.6±16	2.6±16.0	2.6	1.8±9.6	2.1±10.7	5.3				
		<i>Abraliopsis gilchristi</i>	0.2±2.6	0.1±0.8	0.7										
		<i>Abraliopsis</i> spp.	<0.1±0.3	<0.1±0.1	1.4				<0.1±0.3	0.1±1.5	0.5				
			<i>Ancistrocheirus lesueurii</i>	0.2±2.1	0.5±5.3	1.0				0.2±2.2	1.9	<0.1±0.4	<0.1±0.1	0.7	
			<i>Pterygioteuthis</i> sp.				0.1±0.6	<0.1±0.4	2.6						
			<i>Pyroteuthis margaritifera</i>	<0.1±0.2	<0.1±<0.1	0.7									
			Enoplateuthidae sp1	1.6±7.2	0.6±4	10.7	0.2±1.1	0.2±1.2	2.6	1.8±11.5	1.7±11.2	4.3	0.1±1.4	0.1±1.2	0.7
			Und. Enoplateuthids	0.1±1	<0.1±<0.1	0.3				1.1±8.4	1.3±9.6	2.9			
		Chiroteuthidae	Chiroteuthis sp1							0.4±3.9	0.7±6	2.4			
			Chiroteuthis sp3							<0.1±<0.1	<0.1±0.2	0.5			
			Chiroteuthis sp4							<0.1±0.2	<0.1±0.4	0.5			
		Cranchiidae	<i>Cranchia scabra</i>	0.1±0.8	<0.1±0.2	0.7				0.1±0.6	<0.1±0.1	1.0			
			<i>Taonius</i> sp.	<0.1±0.3	<0.1±0.3	1.0									
			Und. Cranchiids	0.5±6.1	0.5±6.3	1.7									
		Grimalditeuthidae	<i>Grimalditeuthis bonplandi</i>							<0.1±0.5	<0.1±0.3	0.5			
		Histioteuthidae	<i>Histioteuthis dofleini</i>							0.5±5	0.5±4.1	1.9			
			<i>Histioteuthis meleagroteuthis</i>							<0.1±0.2	<0.1±0.2	0.5			
			<i>Histioteuthis hoylei</i>	<0.1±<0.1	<0.1±1.2	0.3				0.5±4.5	1±9.1	1.4			
			<i>Histioteuthis</i> sp.	0.3±3.1	0.2±2.7	1.4				0.2±3.5	0.4±5.6	0.5			
		Lycoteuthidae	<i>Lycoteuthis lorigera</i>	17.3±33.1	25.8±40.5	32.8									
		Mastigoteuthidae	<i>Mastigoteuthis</i> sp.				0.3±2	0.3±2.1	2.6						
		Octopoteuthidae	<i>Octopoteuthis rugosa</i>	0.1±2	0.2±2.9	1.0				<0.1±0.4	<0.1±0.1	0.5			
			<i>Octopoteuthis</i> sp.				0.4±2.3	1.2±7.2	5.1						
		<i>Taningia danae</i>	<0.1±0.4	<0.1±<0.1	1.4				0.1±1	<0.1±0.3	1.0	0.1±0.8	<0.1±0.3	3.3	
	Ommastrephidae	<i>Eucleoteuthis luminosa</i>							1.4±8.7	2.2±12.5	5.3				
		<i>Ommastrephes bartramii</i>	<0.1±0.7	0.3±5.8	0.7				1.2±10.4	1.9±13.3	1.9				
		<i>Ornithoteuthis volatilis</i>	3.3±12.3	2.8±12.6	20.7	1.7±8.1	2.1±9.4	12.8	0.4±3.9	0.2±2.1	1.9	0.2±1	0.4±3.1	4.0	
		<i>Sthenoteuthis oualaniensis</i>	<0.1±0.4	0.1±1.8	0.7	3.2±16.1	5.1±17.9	12.8	6.3±19.8	7.9±23	16.8	0.5±2.1	1.3±5.3	8.0	
		<i>Todarodes</i> sp.	0.1±0.6	<0.1±0.2	1.4										
		Und. Ommastrephids	0.1±1.5	<0.1±0.7	1.4	3.4±16.7	4.7±20.4	5.1	2.6±15.7	2.9±16.8	2.9				
	Onychoteuthidae	<i>Callimachus rancureli</i>	0.1±1.4	<0.1±0.3	2.1	3±16.1	4±17.2	10.3	7.9±19.3	10.3±24.8	26.0	0.1±0.7	<0.1±0.5	0.7	
		<i>Onychoteuthis banksi</i>	0.2±3.1	0.3±4.9	1.7	0.3±2	0.5±3.2	2.6	3±13.4	5.1±18.6	10.6	<0.1±0.2	<0.1±0.4	0.7	
		<i>Onykia loenbergii</i>							<0.1±0.3	0.2±3.3	0.5				
		Und. Onychoteuthids	1.5±6.9	1.2±6.4	11.0	0.5±1.7	1.5±5.3	10.3	0.9±6.8	1.2±9.3	1.9	0.1±1.4	0.4±5.1	0.7	
	Sepiolidae	Und Sepioids	0.3±3.2	0.1±0.9	4.1				0.3±2.6	0.1±0.6	1.9	<0.1±0.2	<0.1±0.1	0.7	
	Spirulidae	<i>Spirula spirula</i>	0.1±0.8	<0.1±<0.1	0.7										
	Thysanoteuthidae	<i>Thysanoteuthis rhombus</i>				<0.1±0.3	1±6.3	2.6	<0.1±0.2	<0.1±0.7	0.5				
Octopoda	Argonautidae	<i>Argonauta argo</i>	0.4±3.8	0.4±5.2	2.8	2.6±16	2.6±16	2.6	0.5±3.9	1.2±8.7	2.9	0.7±8.2	0.7±8.2	1.3	
	Bolitaenidae	<i>Japetella diaphana</i>				0.4±1.6	1.2±5.2	5.1	1±5.6	1.4±8.7	4.3				
	Ocythoidae	<i>Ocythoe tuberculata</i>	0.2±2.3	0.6±5.8	2.1										
		<i>Tremoctopus violaceus</i>				0.2±1.2	2.5±11.5	5.1	<0.1±0.5	0.3±3.4	1.0				
		Und. Octopods	<0.1±0.1	<0.1±0.4	0.3				0.1±1.4	0.3±4	0.5				
		Und. Cephalopods	0.2±1.3	<0.1±0.5	3.4				2.1±13.9	1.9±13.8	2.4				
	Céphalopodes		27±35.7	34.2±41.7	65.5	18.9±33.4	29.5±37.7	56.4	35.1±37.7	45.3±42.4	67.3	1.8±8.9	3.0±11.7	15.3	

Ordre	Familles	Espèces	Le Cap			Mozambique			ISSG			MONS			
			MN±SD	PRM±SD	O%	MN±SD	PRM±SD	O%	MN±SD	PRM±SD	O%	MN±SD	PRM±SD	O%	
Amphipoda	Brachyscelidae	<i>Brachyscelus cruscolum</i>	3.1±12.7	2.2±11.7	14.5	0.2±1.1	<0.1±<0.1	2.6							
	Cyphocaridae	<i>Cyphocaris faurei</i>	<0.1±0.1	<0.1±<0.1	0.3	<0.1±0.3	<0.1±<0.1	2.6	0.1±0.8	<0.1±<0.1	1.0				
	Oxycephalidae	<i>Streetsia</i> sp.	<0.1±0.3	<0.1±<0.1	0.7										
	Phronimidae	<i>Phronima sedentaria</i>	0.3±2.8	0.1±1.2	2.8				0.1±1.4	0.1±0.8	0.5				
	Phrosinidae	<i>Phrosina semilunata</i>	4.2±13.2	2.4±11.9	27.2	1.4±8	<0.1±0.5	5.1	0.2±1.3	<0.1±0.1	1.9	<0.1±0.1	<0.1±<0.1	0.7	
	Platyscelidae	<i>Platyscelus ovoides</i>	0.6±7.1	0.4±5.9	1.4	1.7±10.7	2.2±13.5	2.6	1±7.5	0.7±7.3	5.3				
Stomatopoda	Lysiosquillidae	<i>Lysiosquilla tredecimdentata</i>	0.3±2.5	<0.1±1.4	2.8	1.4±5.8	0.3±1.2	12.8	0.8±5.4	0.6±6	5.3	0.3±1.8	0.1±1.2	4.0	
	Odontodactylidae	<i>Odontodactylus scyllarus</i>				4±10.2	1.1±3	25.6	3.8±12.6	1.7±10.4	17.3	0.2±2.1	0.1±1	2.7	
	Squillidae	<i>Neoanchisquilla tuberculata</i> <i>Natosquilla investigatoris</i>	0.1±0.7	<0.1±0.8	0.7	1.5±5.5	0.6±2.1	12.8	0.7±3.5	0.3±2	5.8	0.1±1.4	<0.1±0.4	1.3	
Decapoda	Enoplometopidae	<i>Enoplometopus</i> sp.	<0.1±0.3	<0.1±0.2	0.7	0.1±0.6	<0.1±<0.1	2.6	4.1±14	1.4±9.4	13.5	<0.1±0.1	<0.1±<0.1	0.7	
	Oplophoridae	<i>Janicella spinicauda</i>							0.5±4.5	<0.1±0.5	1.9				
		<i>Oplophorus typus</i>				0.2±1.3	0.2±1.2	2.6	0.5±3.7	0.3±3.1	1.9	<0.1±0.3	<0.1±0.1	0.7	
		<i>Oplophorus</i> sp.	0.3±4.4	0.2±2.9	0.3										
		Und. Oplophorids	0.3±5.9	0.3±5.9	0.3				0.1±1.5	0.1±1.1	1.0				
		Und. Carids	0.6±7	0.5±6.1	0.7										
		Paguridae	Hermit crab	1.8±10.4	0.9±8.4	6.6									
		Palinuridae	<i>Jasus</i> sp.	2.6±12.1	1.5±9.5	11.7									
		Und. Palinurids							<0.1±<0.1	<0.1±<0.1	0.5				
		Pandalidae	<i>Heterocarpus laevigatus</i>	<0.1±0.4	<0.1±0.8	0.3	0.4±2.3	0.2±1.2	5.1				<0.1±0.4	<0.1±<0.1	0.7
			<i>Heterocarpus</i> sp.	5.7±16.9	2.4±10.7	19.7	0.2±1	0.2±1	2.6	0.3±2.9	0.1±0.9	1.9			
		Penaecidae	<i>Funchalia taanangi</i>	<0.1±0.3	<0.1±<0.1	0.3				0.2±1.9	0.3±3	1.4	<0.1±0.1	<0.1±0.2	1.3
			<i>Funchalia woowardi</i>	0.1±0.7	0.1±0.8	0.7									
			<i>Gennadas</i> sp.	0.1±1.5	<0.1±0.5	0.7									
	Und. Penaecids		<0.1±0.2	<0.1±1.1	1.4				0.2±2.7	<0.1±0.7	1.0				
	Sergestidae	Und. Sergestids	0.2±1.4	<0.1±0.5	3.4										
	Scyllaridae	<i>Parribacus antarcticus</i>							0.1±1.1	<0.1±0.1	0.5				
	Larves Crustacés		3.4±14.1	2±12	14.8	1±5.4	0.4±2.5	7.7	1.4±7.4	<0.1±0.2	7.2	0.1±0.8	<0.1±<0.1	1.3	
	Und. Crustacea		0.4±2.9	<0.1±0.5	4.1				0.2±2.4	0.2±2.3	1.4				
	Crustacés		24±34.2	13.5±29.4	57.9	12.2±24	5.2±17	43.6	13.8±24.2	5.7±18.8	39.4	2.6±13.1	1.8±11.1	12.7	
Beloniformes	Scomberesocidae	<i>Scomberesox saurus</i>							0.1±1.2	0.3±3.9	0.5				
Clupeiformes	Engraulidae	<i>Engraulis</i> sp.	3.8±16.5	4.4±17.8	10.0										
Mugiliformes	Mugilidae	<i>Liza</i> sp.	0.2±2.3	0.6±7.4	0.7										
Perciformes	Bramidae	<i>Pterycombus petersii</i>							0.1±1	0.1±0.5	1.0				
		Und. Bramids							0.5±6.9	0.5±6.9	0.5				
		Carangidae	<i>Decapterus macarellus</i>						<0.1±0.7	<0.1±0.3	0.5				
			<i>Decapterus macrosoma</i>						<0.1±0.4	0.1±0.8	0.5				
			<i>Decapterus</i> sp.	0.1±0.7	0.2±2.4	1.4	2.6±16	2.6±16	2.6				2±12.7	2.5±13.7	4.7
		Und Carangids							0.6±7.3	0.8±8.4	1.0				
	Chiasmodontidae	<i>Chiasmodon niger</i> <i>Pseudoscopelus</i> sp.				0.7±4	0.8±4.1	5.1	1.3±6.1	1.3±6.5	7.2				
									1.1±6.7	1±6.4	4.8				

Annexes

Ordre	Familles	Espèces	Le Cap			Mozambique			ISSG			MONS		
			MN±SD	PRM±SD	O%	MN±SD	PRM±SD	O%	MN±SD	PRM±SD	O%	MN±SD	PRM±SD	O%
	Gempylidae	<i>Gempylus serpens</i>							0.3±2.5	0.4±4	1.4	<0.1±0.5	<0.1±0.3	0.7
		<i>lepidocybium flavobrunneum</i>				<0.1±0.3	<0.1±0.2	2.6						
		<i>Nealotus tripes</i>							<0.1±0.1	0.1±1.7	0.5			
		<i>Rexea prometheoides</i>							0.1±1.2	0.6±4.8	1.9			
		<i>Thyrsoideus marleyi</i>							0.3±3.5	0.8±7.4	2.4			
		Und. Gempylids	<0.1±0.3	0.1±1.8	0.7	0.2±1	0.5±3.1	2.6	0.1±1.1	0.1±0.8	1.0			
	Holocentridae	<i>Sargocentron</i> sp.							0.2±2.3	0.2±2.2	0.5			
	Istiophoridae	<i>Makaira mazara</i>							0.5±6.9	0.5±6.9	0.5			
	Nomeidae	<i>Cubiceps pauciradiatus</i>	<0.1±0.1	<0.1±0.5	0.3							69.4±45.5	69.4±45.5	70.7
		<i>Cubiceps capensis</i>	0.1±1.5	0.2±3.4	0.7				0.1±1.2	0.4±6.2	0.5			
	Pomacanthidae	Und. Pomacanthids							0.2±2.1	<0.1±0.5	1.9			
	Pomacentridae	<i>Plectroglyphidodon</i> sp.	<0.1±0.1	<0.1±<0.1	0.3									
		Und. Pomacentrids							<0.1±0.2	<0.1±0.1	0.5			
	Priacanthidae	<i>Cookeolus japonicus</i>							0.2±2.3	<0.1±0.6	0.5			
	Sombridae	<i>Thunnus</i> sp.										<0.1±0.3	0.1±1.1	1.3
	Scombrobracidae	<i>Scombrobrax heterolepis</i>							<0.1±0.1	<0.1±0.5	0.5			
	Sphyraenidae	Und. Sphyraenids							<0.1±0.6	<0.1±0.4	0.5			
	Stromateidae	Und. Stromateids							0.3±2.3	0.9±8	1.9			
	Zanclidae	Und. Zanclids							0.2±2.3	<0.1±0.3	0.5			
Scorpaeniformes	Dactylopteroideae	<i>Dactyloptena orientalis</i>							0.1±1.0	<0.1±0.2	1.0			
Tetraodontiformes	Balistidae	<i>Balistes punctatus</i>							0.2±2.8	0.2±2.9	1.0	<0.1±0.3	<0.1±0.1	0.7
		<i>Canthidermis maculata</i>				0.2±1	<0.1±0.4	2.6						
		Und. Balistids							0.1±1.1	0.1±0.6	1.4			
	Monacanthidae	<i>Cantherhines</i> sp.							0.2±3.5	0.2±2.6	0.5			
		<i>Stephanolepis</i> sp.							0.4±3.6	0.3±2.8	1.4			
		Und. Monacanthids							0.2±2	0.3±2.6	1.4			
	Ostraciidae	<i>Lactoria</i> sp.							0.1±1.7	0.1±1.6	0.5			
		<i>Ostracion cubicus</i>							0.2±1.8	<0.1±0.1	1.4			
	Tetraodontidae	<i>Lagocephalus lagocephalus</i>				<0.1±0.2	<0.1±0.1	2.6						
		Und. Tetraodontids							<0.1±0.4	<0.1±0.2	0.5			
	Molidae	<i>Masturus lanceolatus</i>							0.1±1.4	<0.1±0.2	0.5			
		<i>Ranzania laevis</i>							1.1±9.2	1.4±11.2	1.9			
Anguilliformes	Nemichthyidae	Und. Nemichthyids							0.2±3	<0.1±0.5	0.5			
Atelepodoformes	Atelepodoideae	<i>Ateleopus natalensis</i>							0.2±3.5	0.4±6.3	0.5			
Aulopiformes	Alepisauridae	<i>Alepisaurus ferox</i>							0.3±2.2	0.8±7.1	2.4			
	Notosudidae	<i>Scopelosaurus hoedti</i>	<0.1±0.2	<0.1±0.6	0.3				<0.1±0.5	0.2±2.5	0.5			
		<i>Scopelosaurus</i> sp.	0.3±5.9	0.3±5.9	0.3				0.1±0.7	<0.1±0.2	1.0			
	Omosudidae	<i>Omosudis lowii</i>							0.6±4.3	1.1±6.8	3.8			
	Paralepididae	<i>Lestidium</i> sp.	<0.1±0.3	<0.1±0.5	0.3				0.1±1.2	0.1±0.7	1.0			
		<i>Lestrolepis intermedia</i>	0.6±7	0.5±6.3	1.0	0.1±0.5	0.3±1.4	5.1	4.1±14.5	4.8±16.5	15.9			
		<i>Lestidiops similis</i>							0.2±1.6	0.1±0.7	1.4			
		<i>Magnisudis atlantica</i>				0.2±1	0.3±2	2.6	1.9±9.4	2.8±12.8	8.7			
		<i>Paralepis</i> sp.				0.8±4.1	0.9±3.7	5.1	0.1±1.1	0.1±1.1	1.0			
	Scopelarchidae	<i>Benthalbella</i> sp.							0.1±1	0.3±2.2	1.4			
		<i>Scopelarchus analis</i>	0.1±1.5	0.3±5.3	0.3	0.1±0.4	0.2±1.3	2.6	0.9±4.8	0.8±5.9	5.3			

Ordre	Famille	Espèces	Le Cap			Mozambique			ISSG			MONS		
			MN±SD	PRM±SD	O%	MN±SD	PRM±SD	O%	MN±SD	PRM±SD	O%	MN±SD	PRM±SD	O%
Beryciformes	Berycidae	<i>Beryx splendens</i>							0.2±1.8	0.4±4	1.4			
		Und. Berycids							1.1±8.2	1.1±8.7	3.4			
	Diretmidae	<i>Diretmus argenteus</i>	0.1±1.5	<0.1±0.5	0.3	<0.1±0.3	0.2±0.9	2.6	2.3±9.7	4±15.6	10.1			
Gadiformes	Moridae	<i>Antimora rostrata</i>	<0.1±0.3	0.5±5.9	0.7									
	Bregmacerotidae	<i>Bregmaceros maclellandi</i>	0.3±3.6	0.2±2.6	2.1									
	Merlucciidae	<i>Merluccius</i> sp.	0.9±7.7	1.3±10.1	2.1									
Lophiiformes	Ceratiidae	<i>Ceratias tentaculatus</i>							0.1±0.9	0.2±3.2	0.5			
Myctophiformes	Myctophidae	<i>Diaphus effulgens</i>	0.1±0.8	0.2±2.6	2.1	0.3±2.2	0.2±1	2.6						
		<i>Diaphus lucidus</i>	<0.1±0.1	<0.1±0.4	0.7	2.5±10.8	1.4±6.9	5.1	2.6±13.6	1.7±11.4	5.3			
		<i>Diaphus ostensfeldi</i>	<0.1±0.7	<0.1±0.3	0.7									
		<i>Diaphus perspicillatus</i>				4.4±16.7	3.6±14.7	7.7	2.3±13	1.7±11.3	5.3	<0.1±0.6	<0.1±0.2	0.7
		<i>Diaphus</i> sp.	0.2±3	0.1±1.9	1.7	8.5±23.7	7.7±24.7	17.9	8±24.0	6.1±21.0	14.0			
		<i>Electrona risso</i>	<0.1±0.3	<0.1±<0.1	0.3				0.1±1.1	<0.1±0.7	0.5			
		<i>Gymnoscopelus</i> sp.	<0.1±0.1	<0.1±<0.1	0.3				0.1±0.9	<0.1±0.2	0.5			
		<i>Hygophum hygomii</i>	<0.1±0.4	<0.1±0.3	0.7									
		<i>Hygophum</i> sp.							0.1±1.7	<0.1±0.5	0.5			
		<i>Lampanyctodes hectoris</i>	11.7±27.3	10.8±27.2	23.4									
		<i>Lampadena luminosa</i>							0.2±3.5	0.4±6	0.5			
		<i>Lobianchia gemellarii</i>	0.1±0.7	<0.1±0.3	2.8				<0.1±0.6	<0.1±0.1	0.5			
		<i>Myctophum asperum</i>							0.8±7.8	0.5±6.9	1.9			
		<i>Symbolophorus evermanni</i>	<0.1±0.2	<0.1±0.7	0.3									
		<i>Symbolophorus barnardi</i>	3.7±14.7	4.7±17.8	9.0									
Und. Myctophids	<0.1±0.6	<0.1±0.2	0.7				0.1±1.3	0.1±0.7	1.0					
Osmeriforme	Microstomatidae	<i>Nansenia macrolepis</i>	0.3±3.1	1.2±8.1	3.4	0.2±1.1	1.3±7	5.1	4.4±16.1	3.7±15.6	12.0			
	Opisthoproctidae	<i>Opisthoproctus grimaldii</i>							<0.1±0.5	<0.1±0.1	0.5			
Stomiiformes	Sternoptychidae	<i>Argyropelecus aculeatus</i>							<0.1±0.2	<0.1±0.3	0.5			
		<i>Maurolicus muelleri</i>	23.8±36.9	24.6±38.3	37.2				<0.1±0.5	<0.1±0.1	0.5			
		<i>Sternoptyx</i> sp.							0.1±1.7	0.2±3.6	0.5			
		Und. Sternoptychids							0.1±1.7	<0.1±0.5	1.0			
		juvéniles côtiers				47.2±47.7	43.8±46.9	53.8	5.2±18.2	3.6±15.8	11.5	24.1±41.6	23.2±40.6	25.3
		juvéniles du large							0.2±1.4	0.2±2.3	1.4			
		larves poissons	<0.1±0.5	<0.1±0.9	0.7									
Und. Fish	0.3±5	0.3±5.7	1.0	0.7±2.5	0.6±2.4	10.3	1.6±10.3	1.5±10.8	4.3					
	Poissons		47±42.1	51±44.7	67.2	68.8±38.9	65.3±39.5	84.6	47.7±39.3	47.6±41.8	71.6	95.6±16.2	95.2±16.8	98.0

Annexes

Ordre	Famille	Espèces	Le Cap			Mozambique			ISSG			MONS		
			MN±SD	PRM±SD	O%	MN±SD	PRM±SD	O%	MN±SD	PRM±SD	O%	MN±SD	PRM±SD	O%
Thecosomata	Cavolinidae	<i>Cavolinia</i> spp	<0.1±0.3	<0.1±<0.1	0.3				0.6±3.5	<0.1±0.4	3.4			
		<i>Diacria trispinosa</i>							0.2±3.5	0.1±1.4	0.5			
Salpida	Salpidae	<i>Salpa maxima</i>	1.9±11.7	1.3±8.5	4.8				0.7±5.4	0.2±2.3	1.9			
		oiseau	<0.1±0.5	<0.1±0.2	0.3									
		végatal	<0.1±0.2	<0.1±<0.1	0.7	0.1±0.5	<0.1±<0.1	2.6	0.6±4.9	<0.1±0.2	2.9			
		Plastique							0.8±7.4	0.5±6.9	2.9			
		Autres mollusques							0.6±7	0.5±6.9	1.0			
	Autres		1.9±11.7	1.3±8.5	5.9	0.1±0.5	<0.1±<0.1	2.6	3.5±11.3	1.4±10.1	12			
		Nb stomachs			290			39			208			150