



**HAL**  
open science

**Diversité et différenciation génétiques des populations de tortues vertes (*Chelonia mydas*) dans les sites de ponte et d'alimentation du sud-ouest de l'océan Indien : Application aux stratégies de conservation de l'espèce**

Coralie Taquet

► **To cite this version:**

Coralie Taquet. Diversité et différenciation génétiques des populations de tortues vertes (*Chelonia mydas*) dans les sites de ponte et d'alimentation du sud-ouest de l'océan Indien : Application aux stratégies de conservation de l'espèce. Océan, Atmosphère. Université de la Réunion, 2007. Français. NNT: . tel-00473051

**HAL Id: tel-00473051**

**<https://theses.hal.science/tel-00473051>**

Submitted on 14 Apr 2010

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

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



THESE DE DOCTORAT DE  
L'UNIVERSITE DE LA REUNION

Pour obtenir le grade de  
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LA REUNION

Discipline : Biologie marine  
ECOLE DOCTORALE INTERDISCIPLINAIRE

Présentée par  
Coralie TAQUET

**Diversité et différenciation génétiques des populations de  
tortues vertes (*Chelonia mydas*) dans les sites de ponte et  
d'alimentation du sud-ouest de l'océan Indien :  
Application aux stratégies de conservation de l'espèce**

Thèse dirigée par Henri GRIZEL et Sylvie LAPEGUE  
et soutenue publiquement le 23 novembre 2007

Membres du jury :

Pr. Henrich BRUGGEMANN (Université de La Réunion)  
Dr. Serge PLANES (Université de Perpignan) Rapporteur  
Dr. Rémy PETIT (INRA Pierroton) Rapporteur  
Dr. Henri GRIZEL (Ifremer La Réunion) Directeur de Thèse  
Dr. Sylvie LAPEGUE (Ifremer La Tremblade) Codirectrice de Thèse  
Mr. Stéphane CICCIONE (Kélonia) Membre invité





« Les individus sont des artifices inventés par les gènes pour se reproduire »  
Jean-Pierre Henry

Cette thèse doit être citée comme suit :

Taquet C., 2007 - Diversité et différenciation génétiques des populations de tortues vertes (*Chelonia mydas*) dans les sites de ponte et d'alimentation du sud-ouest de l'océan Indien : Application aux stratégies de conservation de l'espèce. Thèse de Doctorat de l'Université de la Réunion, Biologie Marine, 226p.



*A ma famille que j'aime fort fort,*

*Mes parents,*

*Ma petite sœur,*

*Mes grands-parents,*



## Remerciements

En premier lieu, je tiens à remercier le Dr Henri Grizel, délégué régional à l'Ifremer La Réunion, qui m'a offert la possibilité de réaliser cette thèse et a accepté d'en être le directeur.

Un remerciement particulier au Dr Sylvie Lapègue, co-directrice de thèse, qui m'a accueillie dans le laboratoire Ifremer La Tremblade et m'a conseillée pour les traitements des données.

Je remercie également Jérôme Bourjea de l'Ifremer à la Réunion. Grâce à l'étude initiale qu'il a conduite dans ce domaine de la génétique des populations, cette thèse a pu être envisagée. Il a également contribué à sa réalisation par sa participation à la récolte des échantillons et au comité de thèse. Ainsi que Delphine Muths (Ifremer la Réunion) qui a participé aux dernières analyses génétiques.

Je dois associer à ces remerciements, Stéphane Ciccione, directeur de Kélonia, qui a assuré avec son équipe (Bernardin, François, Gino) une grande partie du support technique et la réalisation de nombreux prélèvements.

Je remercie également les autres membres du comité de thèse, les Docteurs Marc Soria, Matthieu Lecorre et Lionel Gagnevin pour leurs conseils, et les membres du jury le Professeur Henrich Bruggemann et les deux rapporteurs, les Docteurs Serge Planes et Rémy Petit qui ont accepté de consacrer de leur temps à cette thèse.

Je n'oublierai pas le Dr Bernard Reynaud qui m'a accueillie dans les locaux du CIRAD Pôle de Protection des Plantes, ainsi que le Dr Lionel Gagnevin et les membres de son équipe qui m'ont aidé pour la réalisation des analyses génétiques.

Je remercie également le Professeur René Galzin, le Dr Cécile Gaspar et le Dr Serge Planes pour l'aide qu'ils m'ont apportée concernant la Polynésie française, et Monique Simier de l'IRD à Sète pour son aide dans les managements des analyses statistiques sous R.

Un remerciement particulier est adressé à tous les collègues étrangers qui ont contribué à la réalisation de cette thèse, soit par l'apport de conseils scientifiques, soit par leur participation à la collecte des échantillons. Ne voulant oublier personne, la liste de ceux-ci est reportée en **Annexe 1**.

Je remercie vivement le Conseil Régional de la Réunion qui m'a attribué une allocation régionale de formation doctorale et a contribué au financement de ces recherches, avec l'Union Européenne (FSE et FEDER), et tous les responsables des organismes qui ont contribué à sa réalisation :

- l'université de la Réunion et son école doctorale l'EDI.
- la Préfecture des Terres Australes et Antarctiques Françaises.
- Météo France.
- les Forces Armées dans la Zone Sud de l'Océan Indien.
- l'Etat Major InterArmées.
- la Marine Nationale, en particulier l'équipage du La Grandière.
- la Gendarmerie Nationale.

Enfin, je n'oublierai pas tous les nombreux amis qui ont su me donner du courage lorsque j'en avais besoin et qui ont contribué à cette thèse et tous les collègues de l'Ifremer à la Réunion avec lesquels j'ai passé trois années constructives, ainsi que ceux du CIRAD 3P.

Une petite pensée pour les tortues vertes du sud-ouest de l'océan Indien qui ont permis, bien malgré elles, la réalisation de cette thèse.

# Table des matières

Remerciements .....	1-7
Table des matières .....	1-9
Abréviations, sigles et termes anglais utilisés .....	1-13
<b>Introduction .....</b>	<b>1-18</b>

---

## **Chapitre 1 : Les tortues vertes, des tortues marines franches .....**

---

I. Biologie, écologie et comportement de la tortue verte.....	1-26
A. Taxonomie, synonymie et principales caractéristiques morphologiques.....	1-26
B. Distribution.....	1-31
C. Habitat.....	1-32
D. Age, croissance, et temps de génération.....	1-34
E. Migrations.....	1-35
F. Alimentation.....	1-36
1. Régime alimentaire .....	1-36
2. Comportement et rythmes d'alimentation.....	1-37
G. Reproduction : .....	1-38
1. Comportement reproducteur : caractéristiques générales .....	1-38
2. Systèmes d'appariements et multipaternité.....	1-40
3. Philopatrie ou "Natal Homing" .....	1-40
II. Phylogénie et phylogéographie de la tortue verte .....	1-41
A. Notions et concepts.....	1-41
1. Espèces, taxon et sous-espèce .....	1-41
2. Populations, métapopulation et population idéale.....	1-43
B. Place de la tortue verte dans la phylogénie du groupe : .....	1-45
1. Les tortues marines : l'évolution à un rythme de tortue.....	1-45
2. La phylogénie du groupe : un sujet de débat.....	1-46
C. Etude de la phylogéographie globale : .....	1-47
1. Deux métapopulations.....	1-47
2. Les populations des sites d'alimentation sont des populations mixtes .....	1-48
3. Zones étudiées : SWIO une zone d'ombre.....	1-49
D. Structure des populations de la région Atlantique-Méditerranée.....	1-50
E. Structure des populations de la région Indo-Pacifique : .....	1-51
1. Le Pacifique Est .....	1-51
2. Le Sud-Est asiatique et l'Australie.....	1-51
3. L'océan Indien.....	1-52
F. Structuration génétique et contraintes environnementales.....	1-53
III. Conclusions et problématiques abordées : .....	1-54
A. La structure des populations dans la région n'est que partiellement connue	1-54
B. La structure des populations peut parfois être expliquée par des facteurs intrinsèques.....	1-55
1. Les agrégations de tortues en alimentation dans d'autres régions sont mixtes	1-55
2. Les mâles et les femelles influent différemment sur la structure des populations dans d'autres régions du monde .....	1-55
3. La structure génétique des agrégations d'immatures sont mixtes.....	1-56

C.	La structure des populations peut parfois s'expliquer par des facteurs extrinsèques.....	1-56
1.	L'aspect temporel est essentiel en biologie de la conservation.....	1-56
2.	La distance géographique ne permet pas toujours d'expliquer la distance génétique entre deux groupes.....	1-56
3.	Le contexte physique influence la structure des populations.....	1-56
D.	Les tortues sont plus nombreuses autour de la Réunion et des pontes ont lieu à nouveau.....	1-57

---

## **Chapitre 2 : Matériels et méthodes.....2-60**

---

I.	Zone d'étude, plan d'échantillonnage et prélèvements.....	2-60
A.	Stratégies d'échantillonnage.....	2-62
B.	Sites et campagnes d'échantillonnage.....	2-64
1.	Les îles Eparses.....	2-64
2.	Les Comores.....	2-70
3.	Madagascar.....	2-73
4.	Les Seychelles.....	2-74
5.	L'Afrique du Sud-Est.....	2-75
6.	Les Mascareignes : La Réunion.....	2-76
7.	La Polynésie française.....	2-78
C.	Bilan de l'échantillonnage.....	2-78
D.	Protocole de prélèvement d'échantillons de chair.....	2-82
II.	Les méthodes d'analyse.....	2-83
A.	Extraction de l'ADN.....	2-84
B.	Séquençage de la région contrôle de l'ADN mitochondrial.....	2-85
C.	Génotypage des allèles de 6 loci microsatellites.....	2-87
D.	Traitement et analyses statistiques.....	2-92
1.	Les statistiques descriptives.....	2-92
2.	Statistiques inférentielles.....	2-93
E.	Traitements spécifiques des données pour l'étude de la paternité.....	2-94

---

## **Chapitre 3 : Caractérisation des populations.....3-98**

---

I.	Présentation générale des données génétiques.....	3-98
A.	Haplotypes de la région contrôle de l'ADNmt.....	3-98
B.	Allèles de 6 loci microsatellites.....	3-102
C.	Discussion sur les méthodes d'analyses génétiques.....	3-105
II.	Diversité génétique : le SWIO, une zone riche ?.....	3-109
A.	Richesse et diversité haplotypiques.....	3-109
1.	Aspect quantitatif, la richesse haplotypique.....	3-109
2.	Diversité haplotypique.....	3-109
B.	Richesse et diversité alléliques.....	3-112
1.	Richesse allélique.....	3-112
2.	Diversité allélique.....	3-115
C.	Discussion sur la diversité génétique de la région.....	3-116
D.	Conclusions de l'étude de la diversité génétique : le SWIO, une riche zone de contact.....	3-120

III. Le SWIO, une zone de contact ou de mélange ?.....	3-121
A. Mise en évidence d'un brassage génétique .....	3-121
B. Mise en évidence d'un cline génétique .....	3-124
C. Conclusions de la section : le SWIO, une zone en cours de mélange.....	3-127
IV. Différenciation génétique.....	3-129
A. A partir des données mitochondriales .....	3-129
1. Haplotype Dominant. ....	3-129
2. Analyse des <i>Fst</i> et détermination des ensembles. ....	3-129
3. Analyse AMOVA et validation des ensembles.....	3-131
4. Conclusions sur les données mitochondriales.....	3-133
B. A partir des données microsatellitaires .....	3-135
1. Analyse des <i>Fst</i> et détermination des ensembles. ....	3-135
2. Arbre phylogénétique.....	3-138
C. Discussion sur la différenciation génétique .....	3-138
V. Conclusions du chapitre .....	3-141

---

**Chapitre 4 : Influence des facteurs intrinsèques et extrinsèques sur la structure des populations.....4-144**

---

I. Influence des facteurs explicatifs intrinsèques étudiés .....	4-144
A. Influence du 'sexe-âge' de l'individu : .....	4-144
1. Différences entre la structure génétique des femelles et celle des mâles....	4-144
2. Etude de la paternité.....	4-147
3. La structure des populations d'immatures diffère de celle des adultes.....	4-148
B. Influence de l'activité de l'individu : différences entre la structure des groupes en phase de reproduction et celle des groupes en phase d'alimentation .....	4-151
II. Influence des facteurs explicatifs extrinsèques étudiés.....	4-154
A. Influence des facteurs temporels :.....	4-154
1. Evolution de la composition génétique d'un groupe de tortues vertes au cours de l'année .....	4-154
2. Evolution de la composition génétique d'un groupe de tortues vertes entre deux années consécutives.....	4-156
3. Evolution de la composition génétique d'un groupe de tortues vertes après une ou deux décennies .....	4-157
B. Influence des facteurs spatiaux : .....	4-158
1. Influence de la distance géographique sur la structure des populations ....	4-158
2. Différences de composition d'une plage de ponte à l'autre .....	4-159
C. Influence des facteurs physiques :.....	4-161
III. Cas des tortues de la Réunion .....	4-163
IV. Conclusion du chapitre.....	4-166

---

**Chapitre 5 : Synthèse des résultats et applications aux stratégies de conservation de la tortue verte.....5-170**

---

I. La tortue verte : une espèce encore en danger ?.....	5-170
II. Le Sud-Ouest de l'océan Indien : une richesse génétique à préserver .....	5-172
III. Définition des unités de gestion (MUs).....	5-173

<b>Conclusion générale et perspectives de recherche .....</b>	<b>5-175</b>
Références Bibliographiques.....	5-178
Liste des illustrations.....	5-190
Liste des figures .....	5-190
Liste des tableaux .....	5-193
Annexe 1 : Liste des partenaires étrangers.....	5-198
Annexe 2 : Alignement des séquences des 33 haplotypes de la région contrôle de l'ADNmt mis en évidence dans cette étude.....	5-200
Annexe 3 : Liste des échantillons analysés comportant pour chaque individu l'haplotype et les tailles des allèles des 6 loci microsatellites mis en évidence par les analyses. ....	5-205
Annexe 4 : Références et résumé des articles publiés dans des revues à comité de lecture	5-221
Abstract .....	5-225
Résumé.....	5-226

## Abréviations, sigles et termes anglais utilisés

**ACP** = Analyse en Composantes Principales.

**ADN** = Acide DésoxyriboNucléique.

**ADNmt** = ADN mitochondrial.

**ADNn** = ADN nucléaire.

**ARN** = Acide RiboNucléique.

**ARNt** = ARN de transfert.

**Basking** = terme anglais signifiant ‘se chauffer au soleil’. Activité qui consiste pour une tortue marine en une phase de repos à la surface de l’eau.

**BATRAL** = BAtiment de TRansport Léger.

**Bottleneck** = terme anglais signifiant ‘goulot de bouteille’, traduit par ‘goulot d’étranglement’. Il s’agit d’un effondrement de l’effectif de la population engendrant un appauvrissement de la diversité génétique et la fixation de certains gènes par dérive génétique.

**bp** = *Base Pairs*. Paires de bases. Unité de longueur pour les séquences d’acides nucléiques.

**Buffer** = solution tampon.

**Bycatch** = capture accidentelle.

**CBD** = *Convention for Biological Diversity*. Convention pour la diversité biologique ; convention de Bonn pour la conservation des espèces sauvages migratrices.

**CCL** = *Curved Carapace Length*. Longueur curviligne de la carapace.

**CEDTM** = Centre d’Etude et de Découverte des Tortues Marines. Ancien nom de Kélonia.

**CIRAD** = Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement.

**CIRAD 3P** = Pôle de Protection des Plantes du CIRAD.

**CITES** = Convention Internationale sur le Commerce des ESpèces en danger ou Convention de Washington.

**Clade** = anglicisme. Un clade, ou groupe monophylétique, regroupe tous les taxons qui partagent une même innovation évolutive et leur ancêtre commun exclusif. Par extension, on désigne par le terme ‘clade’ des ensembles de populations ou d’haplotypes se différenciant très nettement des autres.

**Ferme CORAIL** = Compagnie Réunionnaise d'Aquaculture et d'Industrie Littorale. Nom de la société d'élevage de tortues vertes, localisée sur le site de Kélonia, et qui s'est reconvertie en centre d'étude, le CEDTM.

**CRIOBE** = Centre de Recherche Insulaire et Observatoire de l'Environnement.

**DMSO** = DiMethyl SulfOxide.

**dNTP** = desoxyNucleotide TriPhosphate. Déoxyribonucléotides triphosphates.

**DO** = densité optique, fait référence à la mesure effectuée par un fluorimètre.

**EDI** = Ecole Doctorale Interdisciplinaire de l'université de la Réunion.

**EDTA** = *EthyleneDiamine TetraAcetic*. Acide éthylène-diamine-tétraacétique, de formule chimique  $C_{10}H_{16}N_2O_8$ .

**EMIA** = Etat-Major InterArmées.

**EPHE** = Ecole Pratique des Hautes Etudes.

**ESU** = *Evolutionary Significant Unit*. Unité évolutionnellement significative.

**FAZSOI** = Forces Armées dans la Zone Sud de l'Océan Indien.

**FEDER** = Fonds européen de développement régional.

**FFESSM** = Fédération Française d'étude et de Sport Sous Marin.

**FSE** = Fonds Social Européen.

*Fst* = Symbole de l'indice de fixation, qui exprime la diminution de l'hétérozygotie d'une sous-population provoquée par la dérive génétique.

**Homing** = Terme anglais faisant référence au fait de rentrer chez soi. Il désigne l'ensemble des comportements de retour au gîte, où un individu retourne vers son 'gîte' dont il a été éloigné naturellement ou artificiellement.

**HPLC water** = *High Performance Liquid Chromatography water*. Eau pour chromatographie en phase liquide à haute performance, eau extrêmement pure utilisée notamment en biologie moléculaire.

**IAM** = *Infinite Allele Model*. Modèle "allèle infini" de mutation des microsatellites.

**Ifremer** = Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer.

**IRD** = Institut de Recherche pour le Développement.

**ISTPM** = Institut scientifique et technique des pêches maritimes, un des deux organismes français ayant fusionné en 1982 pour donner l'Ifremer.

**KESCOM** = *Kenya Sea Turtle Conservation Committee*. Comité pour la conservation des tortues marines du Kenya.

**Land Basking** = termes anglais signifiant respectivement 'terre' et 'se chauffer au soleil'. Activité qui consiste pour une tortue marine en une phase de repos à terre, sur la plage.

**MARPOL** = *convention to prevent MARine POLLution*. Convention pour la prévention de la POLLution MARine par les bateaux.

**Minimum spanning network** = terme anglais signifiant 'réseau à enjambement minimal'. Représentation en réseau des haplotypes étudiés.

**MTSG** = *Marine Turtle Specialist Group*. Groupe de spécialiste des tortues marines de l'UICN.

**MU** = *Management Unit*. Unité de gestion.

**Natal Homing** = Termes anglais signifiant 'retour dans son chez soi natal', traduits en français par le terme philopatrie. Chez les tortues marines femelles, il s'agit de revenir pondre sur sa plage de naissance et pour une immature de venir s'alimenter dans un site proche de son site de naissance.

**PCR** = *Polymerase Chain Reaction*. Réaction en chaîne de polymérisation.

**Ranching** = terme anglais signifiant 'élevage'. Activité d'élevage où le cycle de vie de l'espèce n'est pas entièrement maîtrisé. L'individu est prélevé dans le milieu aux premiers stades de son développement (à l'émergence pour les tortues marines) et effectue le reste de son développement (phase de grossissement) en captivité, jusqu'à sa commercialisation.

**RFLP** = *Restriction Fragment Length Polymorphism*. Polymorphisme de longueur de fragments de restriction.

**RH** = abréviation de l'estimateur de l'indice *Fst* mis au point par **Robertson & Hill (1984)**.

**RH'** = abréviation de l'estimateur de l'indice *Fst* mis au point par **Raufaste & Bonhomme (2000)**.

**SCL** = *Straight-line Carapace Length*. Longueur droite de la carapace.

**SCMRT-MPA** = *Seychelles Centre for Marine Research and Technology and Marine Parks Authority*. Centre seychellois pour la recherche et la technologie marine de l'autorité des parcs marins.

**Sic** = terme latin signifiant 'ainsi' indiquant que le terme doit être utilisé avec l'orthographe tel qu'elle est reportée.

**SMM** = *Stepwise Mutation Model*. Modèle de mutation par étapes des microsatellites.

**SWIO** = *South-Western Indian Ocean*. Sud-ouest de l'océan Indien.

**TAAF** = Terres Australes et Antarctiques Françaises.

**TAE** = solution tampon constituée de Tris., d'acétate et d'EDTA.

**TE** = solution composée de Tris. et d'EDTA.

**TED** = *Turtle Excluder Device*. Dispositif d'exclusion de tortues, dispositif destiné au chalut et visant à réduire les captures accidentelles.

**TNE** = solution tampon composée de Tris., de sel NaCl, et d'EDTA.

**TPM** = *Two-Phase mutation Model*. Modèle de mutation à deux phases des microsatellites.

**Tracking** = terme anglais signifiant 'pister'. Pour les animaux marins : suivi dynamique en temps réel d'un individu marqué avec une marque émettrice à l'aide d'une embarcation équipée d'un hydrophone directionnel.

**Transall** = appellation courante du 'C-160 Transall', avion militaire français.

**Tris.** = Trishydroxyméthyl aminométhane ou 2-amino-2-hydroxyméthyl-1,3-propanediol. Sa formule chimique est  $C_4H_{11}NO_3$ .

**UICN** = Union Internationale pour la Conservation de la Nature, traduction de l'anglais *International Union for Conservation of Nature* (IUCN).

**ULM** = Ultra Léger Motorisé.

**Var.** = variété.

**WC** = abréviation de l'estimateur de l'indice *Fst* mis au point par **Weir & Cockerham (1984)**.

**WIOMSA** = *Western Indian Ocean Marine Science Association*. Association pour les sciences marines dans l'ouest de l'océan Indien.

**WWF** = *World Wildlife Fund*. Fond pour la vie sauvage mondiale.

**ZEE** = Zone Economique Exclusive.

## Codage des sites d'échantillonnage :

Code	Nom du site ou du pays
AFS	Afrique du sud
ALD	Aldabra (Seychelles)
COS	Cosmolédo (Seychelles)
EUR	Europa
GLO	Glorieuses
IRA	Nosy Iranja (Madagascar)
JDN	Juan de Nova
KEN	Kenya
MAD	Madagascar
MADNO	Nord-ouest de Madagascar
MADO	Ouest de Madagascar
MADSO	Sud-ouest de Madagascar
MAY	Mayotte
MOH	Mohéli
MOZ	Mozambique
POL	Polynésie française
RUN	Réunion
SEY	Seychelles
TAN	Tanzanie
TRO	Tromelin

## Codage des catégories d'individus :

**88-92** = prélèvements issus d'individus élevés en captivité et nés à Tromelin entre 1988 et 1992.

**Ali** = **Alim** = individus en alimentation.

**BB** = prélèvements effectués sur des émergentes (1 par nid)

**Elèv** = individus élevés en captivité.

**F** = femelles.

**I** = **Im** = immatures.

**ImP** = Immatures s'alimentant dans une zone de Ponte.

**M** = mâles.

**Mort** = prélèvements effectués sur des individus mort, des cadavres.

**P** = **Ponte** = femelles en ponte ou prélèvements effectués sur des émergentes (1 par nid).

**pater** = prélèvements d'émergentes pour l'étude de paternité (plusieurs individus par nid).

**Pete** = prélèvements de femelles en ponte en été.

**Phiver** = prélèvements de femelles en ponte en hiver.

**PMoya** = femelles ayant pondu sur la plage de Moya (Mayotte).

**PN'G** = **PNGouj** = femelles ayant pondu sur la plage de N'Gouja (Mayotte).

**PSazi** = femelles ayant pondu sur le plage de Saziley (Mayotte).

**Sauv** = individus sauvages.

## Introduction

Pour de nombreuses cultures à travers le monde la tortue symbolise l'univers et la sagesse (**Chevalier et Gheerbrant, 1997**). Cependant, les tortues marines n'ont pas toujours été traitées par le passé avec la sagesse qu'elles symbolisent. A l'heure actuelle, bien qu'elles soient considérées comme emblématiques de la vie marine, les 7 espèces de tortues marines figurent en Annexe 1 de la Convention de Washington (CITES) et sur la liste rouge de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN). Cela veut dire qu'elles ont toutes été jugées comme des espèces 'en danger d'extinction' ou 'en danger critique d'extinction' par les experts internationaux. L'état des populations, en terme d'abondance et éventuellement de diversité génétique (quand celle-ci est disponible), les tendances d'évolution de ces populations, les menaces naturelles (autres espèces) ou anthropiques, qui pèsent sur elles, constituent autant de critères pris en compte pour la classification des espèces surveillées par l'UICN.

Hormis l'homme, les prédateurs des tortues marines s'attaquent généralement aux individus lors des premiers stades de leur vie. Parmi ces prédateurs, seules les populations des espèces commensales de l'homme, comme les rats ou les chiens, se développent et prolifèrent, augmentant ainsi la menace pesant sur les tortues marines. Les autres prédateurs ne constituent pas, en général, une source de déséquilibre pour ces populations. La plus grande source de menace qui pèse à l'heure actuelle sur les tortues marines reste encore l'homme, que ce soit de manière directe ou indirecte. Tout d'abord, les tortues marines font l'objet d'une exploitation directe, soit de manière légale pour les pays qui n'ont ratifié aucune convention internationale les concernant, soit illégale dans les autres pays par le biais du braconnage (pays signataires de conventions pour la conservation). La viande et les œufs constituent une source de nourriture, et notamment de protéines, pour les populations locales des pays en voie de développement. Ayant par ailleurs la réputation d'être aphrodisiaques, un commerce s'est développé autour de ces denrées qui ne sont alors plus vitales mais hédoniques. Avec ce commerce, le plus souvent illégal, les activités de braconnage ont pris leur essor. De la même manière, les écailles et les os sont encore exploités en raison de leur attrait en artisanat (bijoux, marqueterie). Les tortues marines sont également victimes de captures accidentelles de la part des pêcheries industrielles (pêche à la palangre, pêche au chalut). Le développement massif des emballages plastiques dans les dernières décennies constitue une cause de mortalité supplémentaire car ces éléments en plastique peuvent se confondre avec des méduses ou des algues. Enfin, la réduction de leurs habitats, due à l'urbanisation et au développement du tourisme, contribue également à leur déclin.

Cinq espèces de tortues marines s'alimentent et se reproduisent dans le sud-ouest de l'océan indien. La tortue verte est la plus abondante, avec 4 zones majeures de ponte sur les 18 recensées pour l'espèce (**Seminoff, 2004**) et de vastes zones d'herbier ou d'alguaie. La région du sud-ouest de l'océan Indien joue donc un rôle important dans le maintien des populations de tortue verte, une espèce qui conserve son statut "d'espèce en danger d'extinction" depuis 1982. Conscient de l'enjeu que représentent la sauvegarde du patrimoine zoologique mondial et du fort attrait éco-touristique que constitue cette espèce, tous les pays du sud-ouest de l'océan Indien ce sont engagés en faveur de la sauvegarde de la tortue verte. Malheureusement, la plupart des pays n'ont pas pour l'instant les moyens matériels ou financiers d'endiguer les nombreuses menaces qui pèsent encore sur cette espèce dans la région (braconnage, dégradation des habitats). Les mesures de gestion et de conservation mises en place ont néanmoins porté leurs fruits puisque dans certains sites comme les Comores les populations de tortues vertes ont connu une réelle augmentation depuis quelques

décennies. Malgré cela, la situation dans la région demeure préoccupante et il est impératif de mettre en place des plans de gestion durable pour cette espèce, prenant en compte l'ensemble des populations, aussi bien les individus en alimentation que les femelles en ponte. Les biologistes de la conservation doivent faire face à deux difficultés majeures dans l'élaboration de ces plans de gestion.

La première est que la tortue verte, comme beaucoup de tortues marines, est une espèce fortement migratrice. Elle peut parcourir des milliers de kilomètres pour se rendre de son site d'alimentation à son site de ponte, qui sont, dans la majorité des cas, bien distincts. Il est donc courant que les individus d'une même population s'alimentent sur les herbiers d'un pays et pondent sur les plages d'un autre. Dans ce cas, on peut facilement comprendre qu'il est indispensable de protéger ces deux zones à la fois, car il serait vain de protéger la tortue verte au moment de sa ponte, si elle reste fortement menacée sur ces sites d'alimentation. Il apparaît donc nécessaire que le plan de gestion élaboré soit régional et qu'il implique tous les pays de la région dans le cadre d'une véritable coordination internationale.

La deuxième difficulté provient du fait que la tortue verte est entièrement herbivore à l'âge adulte. Lors des phases d'alimentation, les individus ayant un régime principalement constitué de phanérogames dans notre région, sont inféodés à des zones côtières très peu profondes et facilement accessibles par l'homme. Par ailleurs, les femelles sont extrêmement vulnérables au moment de la ponte (peu de motricité). Des risques existent également en zones océaniques où des captures accidentelles peuvent survenir sur les palangres dérivantes et dans les sennes utilisées par les flottilles thonières. Les tortues marines encourent donc des risques sur l'ensemble de leurs habitats, c'est pourquoi les mesures de protection et de gestion doivent également être prises sur toute l'étendue de ces divers habitats.

Ces raisons nous ont conduits à nous intéresser aux différentes catégories d'individus (femelles en ponte, individus en alimentation, immatures, émergentes) et à prélever nos échantillons aussi bien sur les sites de ponte, d'alimentation et de développement de l'espèce, répartis dans tout le sud-ouest de l'océan Indien.

La conservation d'une espèce demande en priorité d'avoir une bonne connaissance de sa biologie. Or, de ce point de vue, les espèces marines sont plus difficiles à étudier du fait de leur moindre accessibilité par rapport aux espèces terrestres (**Avise, 1998**). Ainsi, de nombreux aspects de la biologie des tortues vertes restent encore de nos jours inconnus ou méconnus. La grande majorité des études réalisées sur la tortue verte, avant la dernière décennie, portait sur les femelles en ponte et sur l'estimation des paramètres de la reproduction. Plus récemment, le développement de nouvelles techniques comme le marquage par balise Argos (**Pelletier et al., 2003 ; Girard et al., 2006**), l'utilisation de marques archives (**Ciccione & Rolland, 2005**), de télémétrie acoustique (**Taquet et al., 2006**) mais également la génétique (**Bourjea et al., 2007**), ont permis de mieux étudier certains aspects de la biologie et de l'éthologie de cette espèce qui avaient jusqu'alors été peu explorés. L'essor de la génétique constitue une grande avancée en biologie de la conservation, non seulement parce qu'elle apporte des informations importantes sur le comportement, le cycle de vie ou la démographie (**Avise, 1998**), mais aussi, et surtout parce qu'elle permet d'appréhender la structure génétique des populations et leur diversité génétique. Car la conservation d'une espèce ne dépend pas seulement du nombre total d'individus et du sex-ratio, elle dépend aussi de sa diversité génétique et de sa capacité à maintenir cette diversité d'une génération à l'autre. Une espèce avec une forte diversité génétique et dont la grande majorité des individus se reproduit (effectif efficace important) aura une probabilité d'extinction moins forte qu'une espèce proche ayant un effectif globalement plus important mais un effectif efficace plus faible. C'est pourquoi, la génétique est un outil de plus en plus utilisé en biologie de la conservation, en complément des études purement démographiques.

Dans le sud-ouest de l'océan Indien, de nombreux programmes de suivi des populations ont été réalisés et plusieurs sont toujours en cours actuellement (sur les îles Eparses, à Mayotte, au Mozambique, aux Seychelles). Cependant, relativement peu d'études ont porté sur des marqueurs moléculaires (**Bonhomme et al., 1987** ; **Broderick et al., 1997** ; **Mortimer & Broderick, 1999** ; **Bourjea et al., 2007**). L'objectif de cette thèse est donc de construire, grâce à l'utilisation de l'outil génétique, une image la plus précise possible de la structure génétique des populations de tortues vertes du sud-ouest de l'océan Indien. Pour cela, il était essentiel d'étudier la diversité génétique globale de l'espèce dans la région, mais également la distribution de cette diversité au plan géographique. Cette répartition est l'un des éléments clés qui nous permettra de différencier des groupes d'individus en identifiant ainsi différentes populations et leur structure. L'étude de divers facteurs, intrinsèques ou extrinsèques, influençant cette structure et sa dynamique apportent des informations complémentaires importantes pour l'élaboration de plans de gestion et de conservation efficaces.

Cette étude appartient pleinement au domaine de la génétique des populations, cependant les résultats obtenus peuvent fournir des éléments utiles pour la conservation de l'espèce, et plus particulièrement pour l'élaboration de plans de gestion. En effet, la problématique de la conservation est toujours présente en trame de fond lorsque l'on étudie d'une espèce menacée, et ce même si la problématique de recherche semble purement fondamentale.

Des mesures de conservation efficaces passent également par la détermination d'unités de gestion (MUs) qui constituent en quelque sorte les clés de voûte des populations. En effet, en biologie de la conservation, on distingue deux types d'unités populationnelles : les unités évolutivement significatives (ESUs) et les unités de gestion (MUs) (**Moritz et al., 1995**). Les premières sont des populations isolées historiquement et sont donc significativement divergentes des autres au niveau de l'ADNmt et de l'ADNn, elles sont monophylétiques. Elles permettent la conservation et la gestion de la diversité génétique. Les unités de gestions quant à elles sont constituées de populations démographiquement indépendantes qui divergent au niveau de un ou de plusieurs marqueurs moléculaires. Contrairement aux ESUs, leur détermination ne prend pas en compte les aspects phylogénétiques. De part leur nature, ces unités jouent un rôle dans la gestion d'entités plus importantes. Elles constituent des unités d'écologie moléculaire et des éléments de base en biologie de la conservation (**Moritz et al., 1995**). La finalité de cette thèse est donc, à partir des informations obtenues par l'étude de la structure des populations, de déterminer différentes MUs présentes dans la zone qui constitueront autant d'éléments de base pour l'élaboration de plans régionaux de gestion et de conservation efficaces.





*Chapitre 1 : Les tortues vertes, des  
tortues marines franches*



# Chapitre 1 : Les tortues vertes, des tortues marines franches

Les tortues vertes (*Chelonia mydas*) sont des reptiles, vertébrés hétérothermes, possédant des phanères de type écaille. Elles appartiennent au 244 espèces de l'ordre des Chéloniens (ou Testudinés), car elles possèdent une carapace formée de deux groupes de plaques osseuses : la dossière et le plastron ; et au sous-ordre des Cryptodires puisque leur cou ne se replie pas latéralement. Leur ancêtre, marin, vivait au tertiaire et mesurait 6 m de long en moyenne. Avec les 6 autres espèces de tortues marines (Márquez, 1990 ; Bjorndal, 1997 ; Spotila, 2004), elles forment la super-famille des Chelonioides, qui a compté par le passé jusqu'à 4 familles et 16 genres. Si le trait commun essentiel de ces espèces est le caractère marin de leur habitat, elles présentent en outre de très nombreuses caractéristiques morphologiques et physiologiques communes. Elles n'hibernent et n'estivent pas. Seules 5 de ces espèces marines sont présentes dans le sud-ouest de l'océan Indien. En plus de la tortue verte, qui est l'objet de cette thèse, les tortues marines comptent (Figure 1-1) :

- **La tortue luth (*Dermochelys coriacea*).**

Seule représentante vivante de la famille des Dermochélyidés. Elle possède une fausse carapace, sans écaille. C'est la plus grande des tortues marines, elle peut atteindre 2,50 m, et peser plus de 900 kg. Elle se nourrit principalement de calmars et de méduses. On la trouve dans tous les océans à l'exception de l'Arctique et de l'Antarctique.

- **La tortue olivâtre (*Lepidochelys olivacea*).**

Elle a un régime alimentaire très varié : crabes, méduses, oursins, mollusques, crevettes et algues. C'est la plus abondante des tortues marines. Elle est répartie globalement dans les eaux tempérées et tropicales, et est limitée par l'isotherme 20°C. Elle est cependant absente de presque toutes les îles océaniques.

- **La tortue de Kemp (*Lepidochelys kemp*).**

C'est la plus petite des tortues marines. Elle se nourrit de crabes et de mollusques. Malgré les efforts de conservation, c'est la plus rare et la plus menacée des tortues marines. Elle vit dans la mer des Caraïbes et dans le nord de l'Atlantique. Elle est absente de l'océan Indien.

- **La tortue caouanne (*Caretta caretta*).**

Ses mâchoires puissantes lui permettent de se nourrir sans peine de crustacés et de mollusques. Son caractère agressif lui a valu son nom anglais "loggerhead" (imbécile). Elle est présente dans les eaux tropicales et pond principalement en Méditerranée, ainsi que du sud de la Floride au sud de la Caroline.

- **La tortue imbriquée (*Eretmochelys imbricata*).**

Elle possède un bec pointu et crochu. Son régime alimentaire est principalement constitué d'éponges, mais elle consomme aussi du corail, des oursins et des crabes. On la retrouve dans tous les océans tropicaux.

- **La tortue à dos plat (*Natator depressus*).**

Son régime alimentaire, très peu étudié, serait composé de zooplancton, de corail, de mollusques et de bryozoaires. C'est la tortue marine la moins connue, sa répartition géographique se limite aux eaux tropicales autour de l'Australie. Bien qu'actuellement non répertoriée en dehors de cette zone, des signalements non vérifiés font état de sa présence dans le nord de l'océan Indien, au Sri Lanka (Márquez, 1990).



**Figure 1-1** : Photos d'une tortue **a**) luth (©Doug Perrine/seapics.com) ; **b**) olivâtre (©Kélonia); **c**) de Kemp (©Doug Perrine/seapics.com) ; **d**) caouanne (C. Taquet) ; **e**) Imbriqué (M. Taquet) ; **f**) à dos plat (©Doug Perrine/seapics.com); **g**) verte (R. Botreau) et **h**) son variant phénotypique *agassizii* (un pêcheur).

# I. Biologie, écologie et comportement de la tortue verte

## A. Taxonomie, synonymie et principales caractéristiques morphologiques.

La première description scientifique de la tortue verte a été faite par Carl von Linné dans la 10<sup>e</sup> édition de son *Systema naturae* (**Linnaeus, 1758**). Elle était alors classée dans le genre *Testudo* comme les 10 autres espèces de tortues référencées par Linné. C'est l'observation des tortues vertes en ponte sur l'île de l'Ascension qui a conduit à la création de la *Testudo mydas* de Linné.

Les nombreux synonymes de *Chelonia mydas* (**Tableau 1-1**) sont les témoins des changements dans la phylogénie du groupe. L'accroissement des connaissances sur la faune mondiale et de ce fait l'augmentation du nombre d'espèces de tortues répertoriées, a conduit à la distinction entre tortues terrestres et marines par **Brongniart en 1799**. Ce dernier divise l'ordre des Cheloniens en 2 genres : *Testudo* (terrestres) et *Chelone*, *Chelonia* (marines), dans lequel la tortue verte est classée. La tortue verte passera du genre *Chelonia* (regroupant alors l'ensemble des tortues marines) au genre *Caretta* pour revenir ensuite au genre *Chelonia* au fil de l'évolution des techniques et des critères d'analyse. L'existence de variants phénotypiques de la tortue verte peut être la cause de la description de synonymes présentant des noms de genre moins courants, comme *Thalassiochelys* ou *Euchelys*. Les 3 derniers synonymes sont le fruit du débat, encore d'actualité, sur le statut des populations de tortue verte du Pacifique : espèces, sous-espèces, ou variants phénotypiques.

S'il existe pléthore de noms vernaculaires (**Tableau 1-2**) désignant la tortue verte, notamment de part sa large distribution géographique et son abondance, on retrouve tout de même des références communes qui témoignent de ce que représente la tortue verte pour les communautés locales. La première référence commune se rapporte bien sûr à l'aspect visuel de l'animal, avec sa caractéristique la plus évidente : sa couleur verte (États-Unis, Guatemala). De plus, outre le fait que la tortue verte puisse avoir des teintes très pâles, le terme "blanche" (Belize, Colombie) pourrait également faire référence à l'existence d'individus albinos chez cette espèce.

Dans beaucoup de pays, la tortue verte est tout simplement "tortue" (Comores, Seychelles) ou la tortue "franche" (Sénégal, Italie), c'est-à-dire selon le dictionnaire : qui n'a pas subi de mélange, qui a toutes les caractéristiques du type de son espèce. Elle est la première espèce de tortue marine décrite avec la tortue caouanne (**Linnaeus, 1758**) et elle est souvent prise en exemple pour illustrer l'idée de "tortue marine". La tortue verte représenterait donc la tortue marine type, pour de nombreuses communautés.

Enfin, la tortue verte est souvent désignée comme la tortue "comestible" (France), ou la tortue "à soupe" (Allemagne, Venezuela) et pas seulement pour les communautés des pays en voie de développement, où elle peut représenter une source importante de protéines. On constate que les notions de conservation de la biodiversité, ou de patrimoine naturel mondial, sont assez récentes et que la qualité première de la tortue verte reste encore dans certains pays sa comestibilité. Ceci est une contrainte supplémentaire pour l'élaboration de plans de conservation de l'espèce.

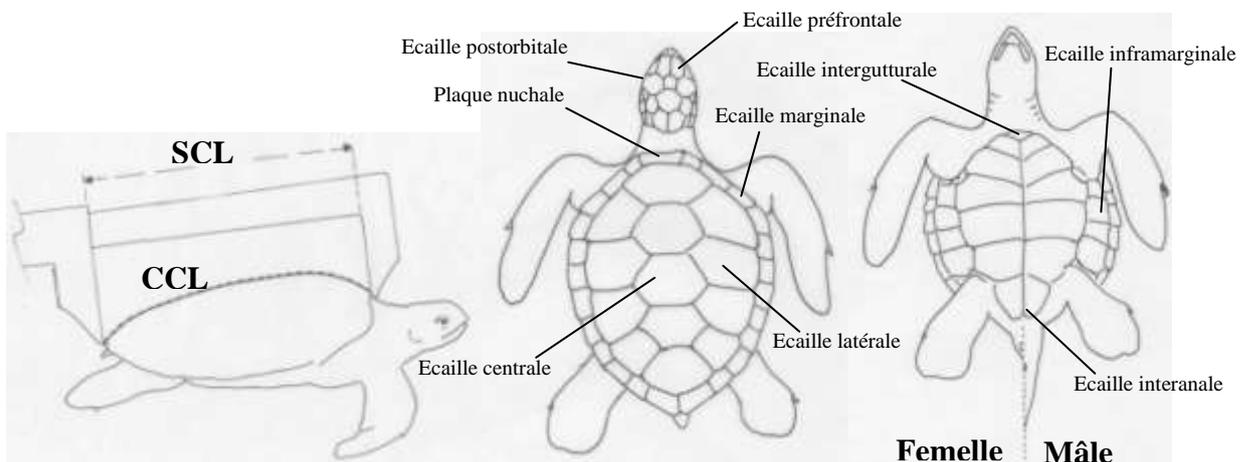
Synonyme	Auteur	Date
<b>*Testudo mydas</b>	<b>Linnaeus</b>	<b>1758</b>
<i>Testudo macropus</i>	Walbaum	1782
<i>Testudo viridis</i>	Schneider	1783
<i>Testudo japonica</i>	Thunberg	1787
<i>Testudo Marina Vulgaris</i>	Lacepède	1788
<i>Testudo viridi-squamosa</i>	Lacepède	1788
<i>Testudo chloronotus</i>	Bechstein	1800
<i>Chelonia mydas</i>	Brongniart	1800
<i>Testudo cepediana</i>	Daudin	1802
<i>Testudo rugosa</i>	Daudin	1802
<i>Chelone midas</i>	Brongniart	1805
<i>Chelonia mydas</i>	Schweigger	1812
<i>Chelonia virgata</i>	Schweigger	1812
<i>Caretta cepedii</i>	Merrem	1820
<i>Caretta esculenta</i>	Merrem	1820
<i>Caretta nasicornis</i>	Merrem	1820
<i>Caretta Thunbergii</i>	Merrem	1820
<i>Caretta Mydas</i>	Fitzinger	1826
<i>Chelonia maculosa</i>	Cuvier	1829
<i>Chelonia lachrymata</i>	Cuvier	1829
<i>Chelonia Midas, (var.) japonica</i>	Gray	1831
<i>Chelonia esculenta</i>	Weigmann & Ruthe	1832
<i>Chelonia bicarinata</i>	Lesson	1834
<i>Chelonia viridis</i>	Temminck & Schlegel	1834
<i>Chelonia Marmorata</i>	Duméril & Bibron	1835
<i>Chelonia (Chelonia) Mydas</i>	Fitzinger	1836
<i>Chelonia (Mydas) viridis</i>	Cocteau	1838
<i>Chelonia (Mydas) virgata</i>	Cocteau	1838
<i>Chelonia (Mydasea) mydas</i>	Gervais	1843
<i>Chelonia viridis</i>	Gray	1844
<i>Megemys mydas</i>	Gistel	1848
<b>**Chelonia mydas</b>	<b>Agassiz</b>	<b>1857</b>
<i>Chelonia formosa</i>	Girard	1858
<i>Euchelys macropus</i>	Girard	1858
<i>Chelonia tenuis</i>	Girard	1858
<i>Chelone macropus</i>	Strauch	1862
<i>Chelone virgata</i>	Strauch	1862
<i>Chelone maculosa</i>	Strauch	1862
<i>Chelone marmorata</i>	Strauch	1862
<i>Chelone albiventer</i>	Nardo	1864
<i>Chelone viridis</i>	Strauch	1865
<i>Thalassiochelys albiventer</i>	Günther	1865
<sup>+</sup> <i>Chelonia agassizii</i>	Bocourt	1868
<i>Mydas viridis</i>	Gray	1870
<i>Chelone midas (sic)</i>	Cope	1871
<i>Chelone mydas</i>	Boulenger	1889
<i>Chelonia mydas mydas</i>	Mertens & Müller	1928
<sup>(+)</sup> <i>Chelonia mydas japonica</i>	Mertens & Müller	1928
<sup>+</sup> <i>Chelonia mydas agassizii</i>	Carr	1952

**Tableau 1-1** : Liste des principaux synonymes de l'espèce *Chelonia mydas* (d'après Márquez, 1990). \* la première description scientifique de l'espèce ; \*\* le nom scientifique actuellement admis ; + synonymes faisant référence au variant phénotypique du Pacifique Est.

<b>Pays</b>	<b>Noms usuels</b>
<b>AFRIQUE DU SUD</b>	Asa, Fano, Groenseeskilpad (Afrikaans), Ifuclu, Icaha
<b>ALLEMAGNE</b>	Suppenschildkröte
<b>ILES ANDAMAN et NICOBAR</b>	Duch-kacchua, Yadi-da
<b>BELIZE</b>	White turtle
<b>BRESIL</b>	Arauana, Aruana, Suruana, Uruana
<b>CANADA</b>	Green turtle
<b>CARAIBES</b>	Kadaloe
<b>ILES CAROLINE</b>	Calap (Ponape), Melop (Palau), Wel mwon (Yap), Winimon (Truk), Won (Marshall)
<b>COLOMBIE</b>	Tortuga blanca or verde
<b>COMORES</b>	Nyamba, Tortue verte
<b>CUBA</b>	Tortuga verde
<b>ETATS UNIS</b>	Green turtle, black turtle
<b>ETHIOPIE</b>	Nyamba
<b>ILES FIDJI</b>	Ika dame, Mako loa, Vonu damu, Vonu loa
<b>FRANCE</b>	Tortue franche, Tortue mangeable, tortue comestible, <b>Tortue verte</b> (nom français officiel pour la FAO)
<b>GHANA</b>	Apuhulu, Ga-hala, Nzima-anjua
<b>GUATEMALA</b>	Tortuga verde
<b>HAWAII</b>	Honu
<b>INDE</b>	Peramai (Tamil)
<b>INDOCHINE</b>	Lemech, Vich
<b>INDONESIE</b>	Penyu daging, Penyu nijaul, Penyu sala
<b>ITALIE</b>	Tartaruga franca, Tartaruga verde
<b>JAPON</b>	Ao umi-game
<b>KENYA</b>	Green turtle, Nyamba
<b>MADAGASCAR</b>	fano zato, fano omby (individus de grande taille), fanonjoaty
<b>MALAYSIE</b>	Penyu agar, Penyu pulau
<b>MEXIQUE</b>	Jacona (juvenile), Tortuga blanca
<b>MOZAMBIQUE</b>	Assa Cabo Delgado, Ewe-klo, Itaruca, Kassa, Nrubi, Nyamba (Swahili)
<b>PHILIPPINES</b>	Pavvikan
<b>POLYNESIE FRANCAISE</b>	Tortue verte, honu
<b>PORTUGAL</b>	Tartaruga verde, aruanã
<b>ROYAUME UNI</b>	Green turtle
<b>SABA</b>	Penyu, Timbau
<b>SENEGAL</b>	Tortue franche, Tortue verte
<b>SEYCHELLES</b>	Torti
<b>SRI LANKA</b>	Gal kasbava, Mali kasbava, Mas kasbava, Pal amai, Perr amai
<b>SURINAME</b>	Krap'e
<b>TANZANIE</b>	Green turtle
<b>THAILANDE</b>	Tao-ta-nu
<b>TONGA</b>	Ika-ta'one (males), Tongo tongo, Tu'a'uli, Tu'alpolata (females), Tufonu
<b>URUGUAY</b>	Tortuga verde
<b>VENEZUELA</b>	Tortuga de sopa, Tortuga franca

**Tableau 1-2** : principaux noms vernaculaires de la tortue verte (d'après Márquez, 1990).

Comme tout membre de la famille des Cheloniidés, la tortue verte (*Chelonia mydas*, Linnaeus 1758 ; **Figure 1-2**, **Figure 1-3**) possède une vraie carapace, cordiforme et composée de plaques cornées (écailles). Les membres de cette famille présentent également des écailles sur la tête et les nageoires, une seule ouverture choanale, et des papilles uniquement présentes dans la gorge. La carapace de la tortue verte comporte sur sa face dorsale 5 écailles centrales, légèrement carénées chez les juvéniles, mais pas chez les adultes et les sub-adultes. Comme chez les 2 autres espèces de la sous-famille des Cheloniinés, la carapace possède 4 paires d'écailles latérales, les plus antérieures étant sans contact avec la plaque nuchale. Elle est presque ovale, et les écailles sont juxtaposées, fines, lisses et flexibles. Le plastron possède 12 écailles centrales et 4 paires d'inframarginales. Il présente souvent une écaille intergutturale (ou intergulaire) et parfois une interanale. Les écailles du plastron sont assez fines, et lisses. La tête est relativement petite (20% de la longueur de la carapace) et carrée. Elle présente 2 écailles pré-frontales allongées, et en général 4 postorbitales. Le museau est court, le bec non crochu, et la mâchoire inférieure est profondément dentelée. Les nageoires possèdent une seule griffe visible. La profondeur du corps, relativement concave chez l'adulte, représente 88% de sa longueur. La taille et le poids moyens des individus varient selon la région. Les femelles adultes font entre 81,2 cm SCL ('Straight Carapace Length' pour longueur droite de la carapace) pour la Guyane et 111,6 cm CCL ('Curve Carapace Length' pour longueur curviligne) pour les Comores. Les mâles, beaucoup moins étudiés, sont en général plus petits que les femelles. Les tailles moyennes vont de 90,4 cm CCL à 92,2 cm SCL suivant les régions, et les tailles records (mesurées au Yémen) sont 71 et 104 cm CCL pour des mâles matures (**Márquez, 1990**). Il y a dimorphisme sexuel : le mâle possède une queue plus longue, contenant le pénis. L'orifice cloacal de la femelle est situé vers la base de la queue, alors que celui du mâle est plus proche de l'extrémité de la queue, facilitant ainsi l'érection.



**Figure 1-2** : Caractéristiques morphologiques de la tortue verte.



**Figure 1-3** : Photos **a**) d'une tortue verte adulte (A. Diringer) ; **b**) en gros plan de la tête (A. Diringer) ; **c**) d'une femelle albinos (R. Botreau) ; **d**) d'un mâle (M. Taquet) ; **e**) d'une femelle après la ponte (C. Taquet) ; **f**) d'une émergente (C. Taquet) ; **g**) d'un juvénile (C. Taquet) ; et enfin **h**) d'une Immature (A. Diringer).

Il existe de nombreuses variantes de la face dorsale de la carapace, allant d'une coloration unie, à des combinaisons de couleurs jaunes, marrons et vertes, dans des tons qui s'étendent du très clair au très foncé. Les écailles présentent en général des stries radiales, et sont abondamment parsemées de taches noires. La face ventrale est blanche, blanchâtre ou crème. Les écailles de la tête et les nageoires des juvéniles sont bordées d'une étroite bande couleur crème. Les émergentes ont une carapace de 4-5 cm, marron foncé à presque noir, avec un bord blanc, comme la partie arrière des nageoires. Le dessous est blanc. Les populations de l'ouest du Pacifique ont des carapaces plus foncées (plus de mélanine), de même pour la face ventrale qui est verdâtre foncé (Márquez, 1990). En fait, ces tortues se rapprochent plus de la couleur du variant phénotypique *agassizii*. Par ailleurs, il existe des individus albinos (Figure 1-3 c).

Le variant phénotypique *Chelonia mydas agassizii* (Pacifique Est) se distingue de la forme "franche" par sa morphologie : la présence de 11 écailles marginales au lieu de 12 et sa couleur : noire au lieu de verdâtre (Figure 1-1 h). Il est en moyenne plus petit que la forme "franche" (Márquez, 1990).

### B. Distribution.

Les tortues vertes sont présentes (Figure 1-4) dans tous les océans entre 40° Nord et 35° Sud (en été). En Europe, elles peuvent même remonter jusqu'à 60° Nord (Angleterre). Dans le Pacifique Est, la présence du variant phénotypique *agassizii* (Marquez, 1990 ; Seminoff, 2004) serait signalée jusqu'à des latitudes beaucoup plus élevées : le long des côtes Canadiennes vers le nord et du Chili vers le sud (Figure 1-4, en vert).

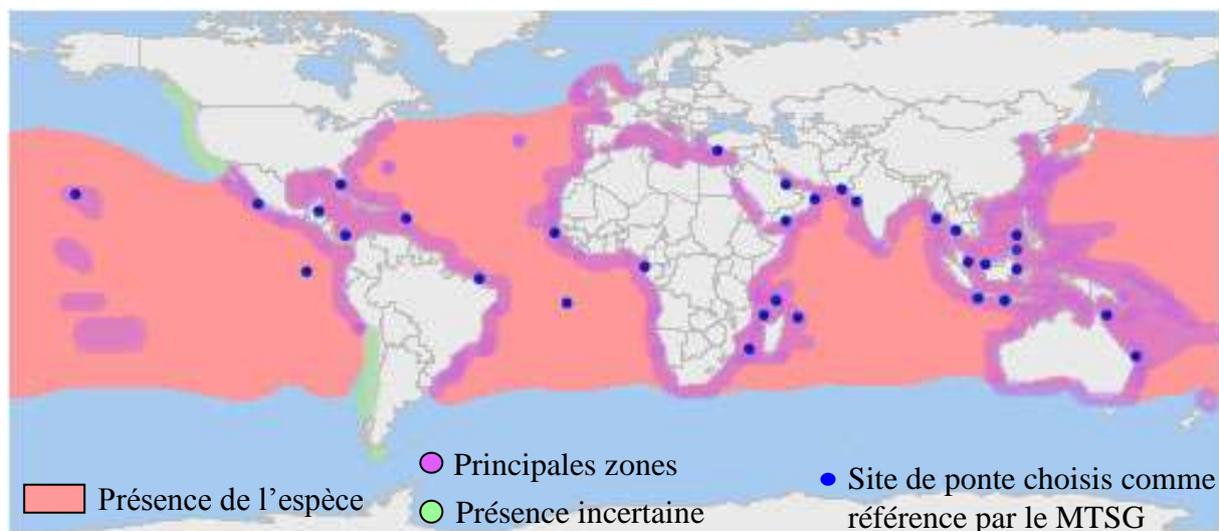


Figure 1-4 : Carte de répartition de la tortue verte (d'après Marquez, 1990 ; Seminoff, 2004)

Les plus grandes densités de populations se trouvent en zone néritique, le long des côtes continentales et autour des îles océaniques (Figure 1-4, en violet). La tortue verte est recensée dans les eaux côtières de 140 pays, mais elle ne pond que dans 80 d'entre eux. Parmi les 18 zones majeures de ponte pour l'espèce (définies comme ayant au moins 500 femelles en ponte par an), quatre sont situées dans le sud-ouest de l'océan Indien : les Comores, Europa, Tromelin, et les Seychelles (Seminoff, 2004).

Le suivi des populations se fait généralement au niveau des sites de pontes qui, tout en étant faciles d'accès, sont de bons indicateurs de l'état de santé des populations. Le groupe de spécialistes des tortues marines (MTSG) a sélectionné 32 sites de ponte comme points de référence pour le bilan du suivi de l'espèce (Seminoff, 2004). Parmi eux, on compte les quatre sites majeurs du sud-ouest de l'océan Indien que sont Europa, Tromelin, les Comores et les Seychelles.

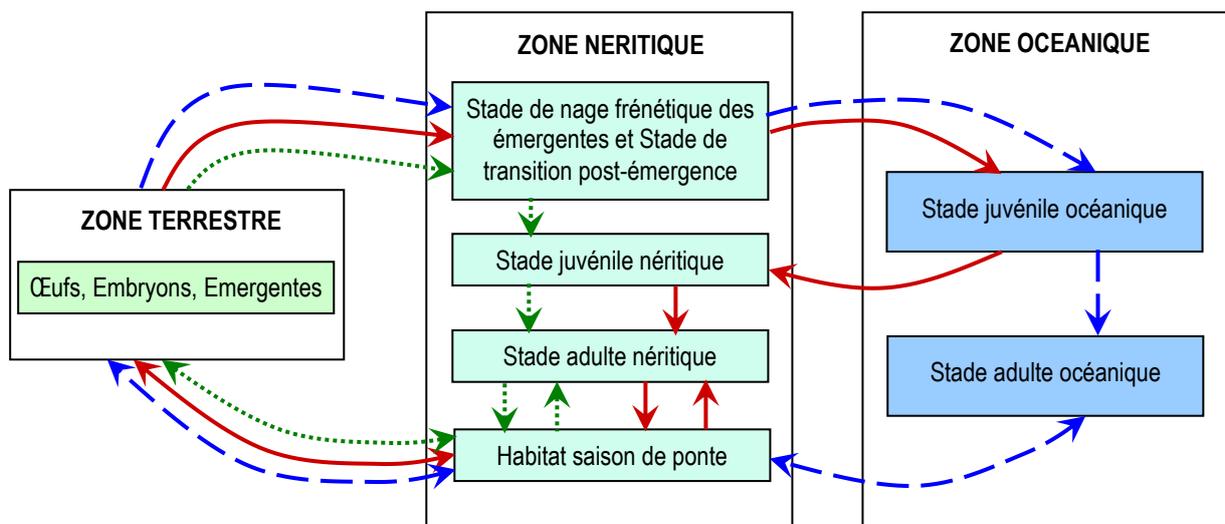
### C. Habitat.

Les tortues marines occupent différents habitats marins ou terrestres au cours de leur vie. Le temps passé à terre est extrêmement court, il concerne les œufs, les embryons, les émergentes, et pour de courtes périodes les femelles, puisque la ponte a lieu sur une plage à terre. En dehors des périodes de ponte, mâles et femelles peuvent se rendre à terre, pour de courtes périodes de repos spécifiques appelées “land basking”. Ce comportement a été décrit par **Dizon & Balazs (1982)** sur des tortues vertes et semble spécifique aux tortues des îles Hawaï, il peut se produire indifféremment le jour ou la nuit. Les tortues marines passent donc la quasi totalité de leur vie dans des habitats marins.

En étudiant la succession des types d’habitats au cours de la vie des 7 espèces de tortues marines, **Bolten (2003)** a pu mettre en évidence 3 schémas distincts (**Figure 1-5**). Les individus d’une même espèce suivent généralement un de ces trois schémas quelle que soit la zone géographique dans laquelle ils vivent. Seule, la tortue olivâtre suit un schéma différent selon la région considérée (type II en Atlantique et en Australie ; type III dans le Pacifique Est). D’une espèce à l’autre, les schémas diffèrent principalement au niveau de l’habitat de développement des juvéniles et de celui des adultes, hors phase de reproduction. La tortue à dos plat, seule espèce connue à suivre le type I, n’occupe jamais un habitat océanique au cours de sa vie. A l’inverse la tortue luth et la tortue olivâtre de l’est du Pacifique (type III), ont un développement entièrement océanique, excepté pour les phases liées à la reproduction.

La tortue verte suit un cycle de vie (**Figure 1-6**) de type II : les juvéniles commencent leur développement en milieu océanique et le terminent en zone néritique. Le passage du stade juvénile océanique au stade juvénile néritique est progressif et variable suivant les régions considérées. D’après **Bjorndal (1997)**, il se produirait lorsque le juvénile atteint une taille le mettant à l’abri de la plupart de ses prédateurs, c’est-à-dire autour d’une taille pivot de 20-25 cm en Atlantique Ouest et vers 35 cm pour Hawaï (Pacifique).

Bien que largement répandu, le caractère néritique de l’habitat inter-saison de ponte des tortues vertes adultes n’est pas absolu. En effet, grâce à l’utilisation de la télémétrie satellitaire et de l’analyse d’isotopes stables, **Hatase et al. (2006)** ont montré qu’environ 30% des femelles étudiées avaient un habitat inter-saison de ponte océanique. Dans ce cas, elles se nourrissent de macro-plancton présent dans la couche océanique au-delà de 20 m.



**Figure 1-5 :** Schéma des 3 types de cycle de vie existant chez les tortues marines (d’après **Bolten, 2003**). **.....** : Type I ; **→** : Type II ; **- - -** : Type III.

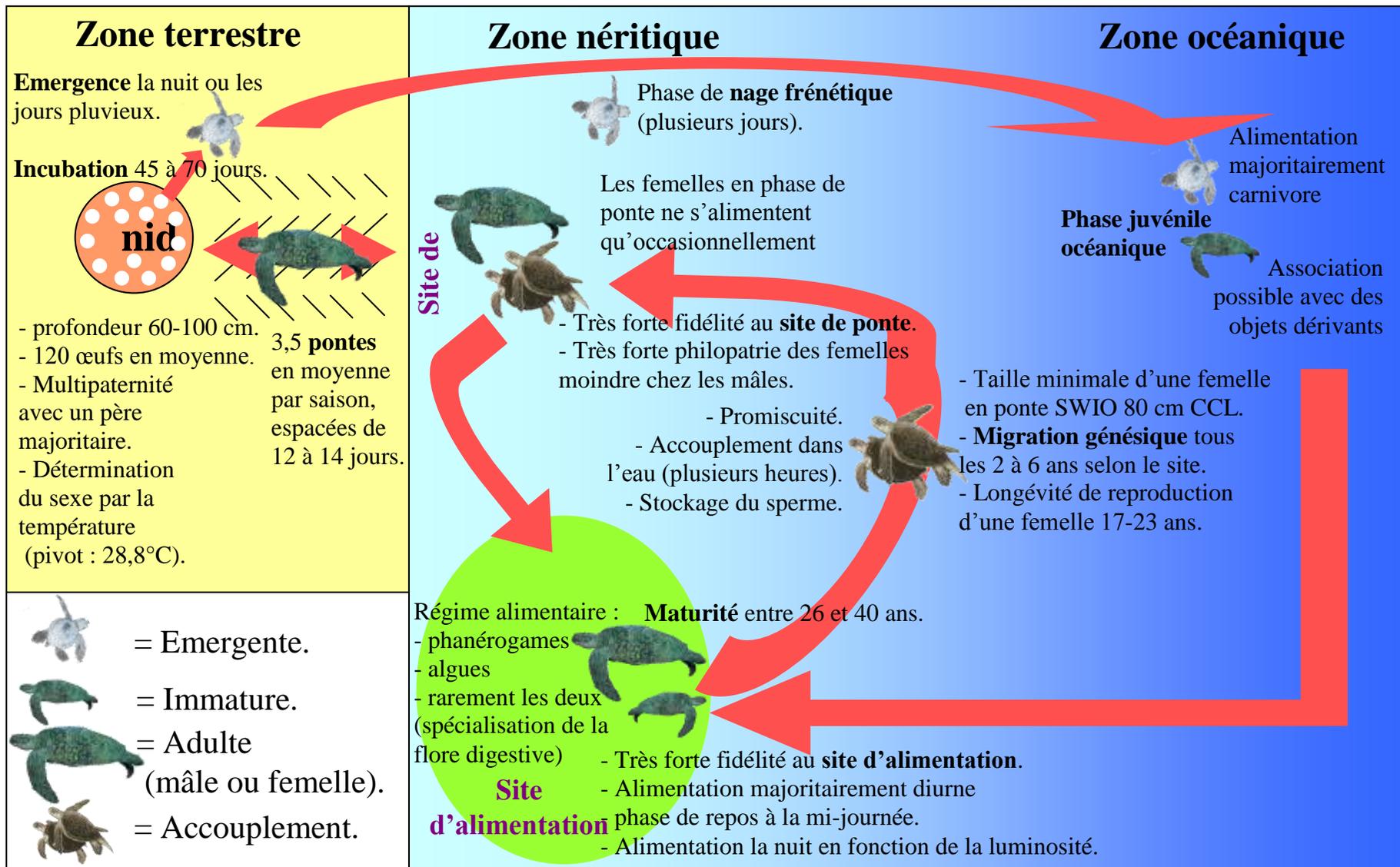


Figure 1-6 : Résumé du cycle de vie de la tortue verte (Chelonia mydas).

#### ***D. Age, croissance, et temps de génération.***

Jusqu'à récemment il n'existait pas de méthode fiable pour évaluer précisément l'âge d'une tortue marine. En effet, la croissance de ces espèces, fortement dépendante de la disponibilité en nourriture, rendait l'utilisation d'estimateurs morphométriques ou sclérochronologiques difficile. Néanmoins, en étudiant le diamètre de l'humérus de tortues vertes mesurant entre 26 et 96 cm, Zug et al. (2002) ont pu valider une courbe de croissance pour la phase de vie correspondant au taux de croissance le plus fort pour cette espèce. Il s'agit malheureusement d'une méthode destructrice qui ne peut pas être utilisée de manière systématique et standardisée pour estimer l'âge d'individus vivants. L'estimation de l'âge est encore plus difficile pour la phase adulte car les tortues vertes grandissent très peu après avoir atteint leur maturité (**Le Gall et al., 1985a ; Limpus & Chaloupka, 1997 ; Zug et al., 2002**).

La plupart des données disponibles sur la croissance et la longévité des tortues vertes provient, soit d'individus en captivité et ne peuvent donc pas être généralisées (**Le Gall, 1985**) ; soit d'estimations faites à partir de marquages-recaptures (**Frazer & Ehrhart, 1985 ; Frazer & Ladner, 1986 ; Le Gall et al., 1985a ; Limpus & Chaloupka, 1997**). Les valeurs estimées du taux de croissance diffèrent d'une région à l'autre et d'une étude à l'autre. Le modèle de von Bertalanffy semble le mieux adapté pour décrire la croissance de la tortue verte sur l'ensemble de son cycle de vie. Il prévoit un taux de croissance très important, quasi linéaire, dès l'émergence, puis un ralentissement progressif de la croissance jusqu'à des taux extrêmement faibles pour les individus dépassant 100 cm de SCL (**Mendonça, 1981 ; Zug et al., 2002**). Ce taux de croissance irait de 4-5 cm/an pour les juvénile (20-40 cm SCL) à 0,6 cm/an pour les individus atteignant 100 cm SCL. Par ailleurs, il semble que les jeunes femelles grandissent plus rapidement que les mâles (**Limpus & Chaloupka, 1997**).

En captivité, le dimorphisme sexuel apparaît vers l'âge de 7-8 ans et les premiers accouplements vers 10-12 ans (**Le Gall, comm. pers.**). Dans la nature, la majorité des études situe cette maturité beaucoup plus tard, entre 26 et 40 ans (**Mendonça, 1981 ; Frazer & Ehrhart, 1985 ; Frazer & Ladner, 1986 ; Limpus & Chaloupka, 1997 ; Zug et al., 2002**). Il apparaît toutefois plus de différences entre les études, qu'entre les régions considérées. Certains auteurs comme Márquez & Doi (1973), Le Toquin et al. (1980) cités par **Frazer & Ladner (1986)** ou **Balazs (1982)** situent la maturité de la tortue verte beaucoup plus tôt, entre 6 et 13 ans. Quoiqu'il en soit, ces estimations placent la tortue verte parmi les espèces à maturité tardive. Les tailles minimales mesurées chez des individus pubères (**Márquez, 1990**) sont de 65 cm CCL pour une femelle *agassizii* en ponte (México), 78 cm SCL pour une femelle en ponte (îles Salomon) et 71 cm pour un mâle (Yémen).

Le temps de génération est défini comme l'âge de la maturité auquel on ajoute la moitié de la longévité de reproduction qui est elle-même estimée entre 17 et 23 ans (**Fitzsimmons et al., 1995b ; Seminoff, 2004**). Pour une population de Heron Island, sans perturbation humaine, **Chaloupka et al. (2004)** estiment la longévité de reproduction moyenne à 19 années. Sur cette base, le temps de génération de la tortue verte serait donc compris entre 35,5 et 49,5 ans (**Seminoff, 2004**). La longévité totale de l'espèce serait donc bien supérieure à 50 ans dans la nature. Celle-ci est estimée à 60-70 ans en captivité (**Ciccione, comm. pers.**).

## ***E. Migrations.***

L'occupation de différents habitats, pouvant être séparés de plusieurs milliers de kilomètres, au cours de sa vie, fait de la tortue verte une espèce fortement migratrice. Les migrations effectuées sont plus ou moins actives suivant le stade considéré. S'agissant de l'étude de déplacements à grande distance, l'outil de prédilection utilisé est la télémétrie satellitaire (**Luschi et al., 1998 ; Cheng, 2000 ; Godley et al., 2002 ; Pelletier et al., 2003**).

La première migration de la tortue verte commence juste après l'émergence : il s'agit de la phase de nage frénétique qui conduit l'émergente jusqu'au large. C'est un déplacement actif. On connaît peu de choses sur le stade juvénile pélagique qui débute alors. Les déplacements de ces jeunes tortues sont supposés majoritairement passifs (courants océaniques), parfois en association avec des objets dérivants comme des radeaux de *sargassum* (**Carr & Meylan, 1980**). Les juvéniles vont ensuite activement et progressivement se rapprocher des côtes et de leur habitat de développement néritique. Des études récentes ont montré que même si ce déplacement est forcé par les courants océaniques, les juvéniles s'orientent vers les sites d'alimentation les plus proches de leur plage de naissance (**Luke et al., 2004 ; Naro-Maciel et al., 2007**), et ce, même si elles ont grandi en captivité (**Pelletier et al., 2003**). Ce comportement s'apparente au phénomène de philopatrie des adultes (cf. **Chapitre II.G.3**).

Une fois adulte, la tortue verte migre régulièrement de son site d'alimentation vers son site de reproduction où elle ne restera pas plus de quelques mois, avant de retourner vers son site d'alimentation. Ces migrations sont appelées migrations génésiques. Les distances parcourues diffèrent énormément, de quelques dizaines de kilomètre (N'Gouja - Saziley à Mayotte) à plusieurs milliers de kilomètres (Brésil - île de l'Ascension). Elles concernent à la fois les mâles et les femelles. Les expériences de retour au gîte (ou "Homing"), ainsi que les campagnes de marquages-recaptures, ont montré une forte fidélité à un site de ponte et d'alimentation précis, mais aussi une forte motivation des tortues à regagner ces sites après un déplacement contraint (**Le Gall & Hughes, 1987 ; Girard et al., 2006**).

De nombreuses études récentes cherchent à déterminer les mécanismes permettant aux tortues de s'orienter lors de ces migrations (**Papi & Luschi, 1996 ; Avens & Lohmann, 2003 ; Lohmann et al., 2004 ; Girard, 2005 ; Lushi et al., 2007**). Dès 1996, **Papi & Luschi** avaient observé que les mécanismes d'orientation des tortues marines étaient originaux et présentaient des caractéristiques communes avec ceux des Albatros. En plus des informations olfactives (dans l'air ou dans l'eau) et visuelles, plusieurs études ont démontré que les tortues vertes utilisent aussi des informations géomagnétiques (**Avens & Lohmann, 2003 ; Girard, 2005 ; Luschi et al., 2007**). L'utilisation de cartes mentales de type géomagnétique a été démontrée chez des immatures de tortue verte (**Lohmann et al., 2004**). Cependant, si on perturbe magnétiquement les tortues à l'aide d'aimants, celles-ci sont tout de même capables de s'orienter avec succès, bien que les trajets effectués soient moins efficaces (**Avens & Lohmann, 2003 ; Girard, 2005**). Ainsi, les tortues vertes peuvent utiliser plusieurs types d'informations pour s'orienter, toutes étant utiles mais aucune ne paraissant totalement indispensable. La capacité d'utiliser des informations provenant de sources diverses est un avantage certain en terme de valeur sélective des individus, mais aussi en terme d'adaptabilité de l'espèce.

Même si la tortue verte s'oriente avec succès vers sa destination, son trajet peut-être influencé par différents facteurs physiques comme les courants océaniques (**Luke et al., 2004 ; Girard, 2005**). Ainsi, au cours de leur migration génésique, les tortues marines adoptent parfois, pour se reposer, une posture particulière, appelée "basking", en relevant

leurs nageoires sur leur carapace (Images vidéo Taquet/FADIO). Cette posture favorise la dérive passive des tortues via les courants de surface. Dans leur étude du comportement de retour au gîte de femelles vers leur site de ponte, **Girard et al. (2006)** démontrent que la tortue verte ne compense pas la dérive liée aux courants de surface, qui influencent donc son trajet migratoire. Ces résultats montrent clairement l'influence des mouvements des masses d'eau de surface sur la structure des populations de tortue verte.

## ***F. Alimentation.***

### **1. Régime alimentaire**

Au cours de leur phase pélagique, les jeunes tortues vertes ont un régime alimentaire omnivore avec une forte dominance carnivore : crustacés, mollusques et à l'occasion poissons (**Bjorndal, 1997**). C'est au moment où elles se rapprochent des côtes que leur régime alimentaire change progressivement pour devenir entièrement herbivore. Elles viennent alors se nourrir sur les prairies sous-marines ou les herbiers présents le long des côtes, à de faibles profondeurs. Ainsi, les immatures (stade néritique) étudiées par **Brand-Gadner et al. (1999)** se nourrissent principalement de végétaux et préférentiellement d'algues. Elles privilégient les espèces à faible teneur en fibres et à forte teneur en azote.

La tortue verte est la seule tortue marine totalement herbivore à l'âge adulte, les autres ayant des régimes plutôt carnivores (**Bjorndal, 1997**). Elles se nourrissent de phanérogames sous-marines ou d'algues, et beaucoup plus rarement des deux, car le tube digestif des adultes est généralement spécialisé dans un type de fermentation microbienne. Les tortues ayant des régimes mixtes doivent ingérer des quantités de végétaux plus importantes à cause de la moindre efficacité de leur digestion. C'est le coût de la conservation de leur potentialité alimentaire (**Bjorndal et al., 1991, Bjorndal, 1997**). Le régime et les espèces consommées changent en fonction des régions. Peu d'études ont été menées sur ce thème dans l'océan Indien. Les tortues vertes de cet océan se nourrissent le plus souvent de phanérogames des genres *Halophila* (*Halophila ovalis*), *Thalassia*, *Posidonia*, *Halodule*, *Syringodium*, *Cymodocea*, et de *Thalassodendron ciliatum* (Seychelles et Comores), mais aussi d'algues comme *Gelidiella acerosa*, *Chaetomorpha aerea* et *Sargassum illicifolium* (**Bjorndal, 1997**). L'étude de contenus stomacaux de tortues réunionnaises mortes accidentellement et autopsiées à Kélonia (observatoire des tortues marines de la Réunion), ainsi que l'observation sous-marine d'individus en alimentation, laissent supposer que les tortues de la Réunion auraient un régime principalement composé d'algues rouges (**Ciccione, 2001**).

Cependant, sur les côtes australiennes, **Heithaus et al. (2002)**, ont montré, à l'aide de caméras vidéo fixées sur la carapace de tortues vertes adultes ou sub-adultes que les méduses et les cténophores pourraient avoir une place non négligeable dans leur régime alimentaire.

Il est impératif pour les tortues adultes de constituer des réserves de graisse avant d'entreprendre leurs migrations génésiques, durant lesquelles elles peuvent parcourir plusieurs milliers de kilomètres.

## 2. Comportement et rythmes d'alimentation

La fidélité des tortues vertes adultes à leurs zones d'alimentation, sur un cycle pluriannuel, a été mise en évidence dans le sud-ouest de l'océan Indien grâce à des campagnes de marquage à l'échelle régionale mais aussi à partir de suivis spécifiques de certains sites d'alimentation comme celui de N'Gouja à Mayotte notamment (**Ciccione & Rolland, 2005**).

La sédentarité de tortues vertes, immatures et adultes, pendant plusieurs mois dans une même zone d'alimentation a été démontrée à l'aide de marques électroniques et d'un réseau de stations d'écoute fixes (**Taquet et al., 2006**). Pour préciser le comportement et le rythme d'alimentation des tortues vertes à petite échelle, deux autres techniques de télémétrie ont été mises en œuvre : la radio-télémétrie (**Whiting & Miller, 1998 ; Seminoff et al. 2002**) et le suivi acoustique en temps réel d'une tortue marquée avec une marque émettrice à l'aide d'une embarcation équipée d'un hydrophone directionnel (**Mendonça, 1983 ; Odgen et al., 1983 ; Brill et al., 1995 ; Brand-Gadner et al., 1999 ; Seminoff et al. 2002**). Ces études montrent en général un fort attachement spatial des tortues vertes à des zones d'alimentation qui peuvent être de superficie très restreinte.

Sur le site de N'Gouja à Mayotte, à partir du suivi de plusieurs individus dotés d'émetteur acoustique, nous avons pu démontrer que les tortues vertes s'alimentent quotidiennement et qu'elles consacrent une grande partie de leur temps à brouter sur les herbiers (**Taquet et al., 2006**). Ces résultats ne sont pas surprenants car il s'agit de grands herbivores à digestion microbienne qui ont donc besoin d'ingérer une grande quantité de nourriture pour assurer leur subsistance et constituer, d'autre part, des réserves de graisse en vue de leur longue migration génésique. Qu'elles soient adultes ou immatures, les tortues s'alimentent majoritairement de jour, avec 2 phases d'alimentation, une le matin et une l'après-midi, entrecoupées d'une phase de repos autour de midi (**Mendonça, 1983 ; Odgen et al., 1983 ; Taquet et al., 2006**). La phase de repos autour de midi semble être plus marquée chez les immatures. L'alimentation nocturne, possible mais occasionnelle, présente une corrélation significative et positive avec la luminosité (**Taquet et al., 2006**). Ces résultats sur le rythme d'alimentation ne peuvent toutefois pas être généralisés à l'ensemble des populations de tortues vertes car plusieurs facteurs comme la morphologie du site d'alimentation, la répartition bathymétrique des herbiers sur ces sites, leur fréquentation par l'homme, influencent le rythme et le comportement des tortues. Ainsi à Hawaï, **Brill et al. (1995)** ont mis en évidence deux schémas d'alimentation distincts chez les immatures étudiées : certaines s'alimentant le jour, les autres (plus nombreuses) la nuit. Les phanérogames sous-marines étant généralement inféodées à des zones de faible profondeur, certaines études visaient à mettre en relation le comportement bathymétrique et les rythmes d'alimentation des tortues (**Hays et al., 2002 ; Seminoff et al., 2002**). Sur cette question particulière, si les résultats de **Hays et al. (2002)** sont en accord avec l'hypothèse d'une alimentation majoritairement de jour, ceux de **Seminoff et al. (2002)** se rapprochent plus de ceux de **Brill et al. (1995)** avec des tortues restant à faibles profondeurs la nuit. Ces divergences peuvent s'expliquer par une configuration différente des sites d'étude.

**Mendonça (1983)** a démontré qu'il existait un lien entre la température de l'eau et l'alimentation. D'après cette étude, les immatures ne fréquenteraient les sites d'alimentation que lorsque la température ambiante dépasse 25°C. Dans l'eau plus froide, ces immatures évolueraient de manière aléatoire à plus grande profondeur et en parcourant de grandes distances. En limitant l'accès à certains sites d'alimentation comme les mangroves, les grandes marées pourraient également avoir une influence sur les rythmes d'alimentation (**Limpus & Limpus, 2000**).

**Hays et al. (2002)** ont comparé le comportement bathymétrique des tortues femelles en phase de reproduction (île de l'Ascension) avec celui de tortues femelles gravides dans leur habitat d'alimentation (Chypre). Si les tortues de Chypre restent dans des eaux peu profondes, propices à une activité d'alimentation, celles de l'île de l'Ascension préfèrent des eaux plus profondes. Les tortues en phase de reproduction ne s'alimenteraient donc que de manière très occasionnelle, résultats confirmés par l'étude de contenus stomacaux, et ce indépendamment de la présence de nourriture.

L'utilisation de marques archives ou acoustiques, dotées de capteur de pression permet d'étudier les temps d'apnées, les temps de résidence en surface, mais aussi de mettre en évidence des profils types de comportement représentatifs des phases de repos ou au contraire d'alimentation (**Brill et al., 1995 ; Seminoff et al., 2006**). L'interprétation de ces profils est malheureusement fortement dépendante de la morphologie des sites d'étude. Si l'observation directe en plongée ou par vidéo permet dans certaines conditions particulières d'étudier le comportement alimentaire et bathymétrique des tortues marines, cette technique présente néanmoins certaines contraintes comme le biais induit par la présence de l'observateur (ou de l'équipement vidéo fixe), ou la visibilité souvent restreinte dans les mangroves et sur les herbiers peu profonds.

## ***G. Reproduction :***

### **1. Comportement reproducteur : caractéristiques générales**

L'accouplement se fait dans l'eau, le mâle s'accroche à la carapace de la femelle grâce aux griffes longues et recourbées de ses nageoires antérieures. Il recourbe sa queue contenant son pénis qui entre alors en érection et permet une fécondation interne. Il est fréquent d'observer des affrontements entre mâles (coups de bec) qui cherchent à s'accoupler avec la même femelle. L'accouplement peut durer plusieurs heures et la femelle est alors la seule à nager. La femelle stocke le sperme dans une spermathèque, et peut donc féconder ses œufs plusieurs mois après l'accouplement (**Fitzsimmons, 1998**). Dans certaines régions comme l'Australie, il a été démontré que les accouplements de tortues vertes avaient lieu dans des zones spécifiques, juste avant la saison de ponte (**Fitzsimmons, 1998**).

Comme la majorité des espèces de tortues marines, la tortue verte femelle se hisse la nuit sur la plage quand la marée est haute pour y pondre. Dans l'océan Indien, la femelle pond en moyenne 120 œufs (**Le Gall, 1985**), qui ont l'aspect et la taille approximative de balles de ping-pong, dans un nid profond de 60 à 100 cm creusé en limite haute de plage à l'abri des marées (**Le Gall et al., 1988**). A l'aide de ses nageoires, la tortue commence par creuser une cavité corporelle de grande dimension, puis elle aménage le puits de ponte en creusant de façon précise un trou cylindrique en utilisant ses nageoires arrières l'une après l'autre comme des cuillères. Après la ponte proprement dite, elle recouvre les œufs avec ses nageoires arrière en tassant bien le sable au niveau du puits de ponte, et enfin ramène du sable avec ses nageoires avant pour finir de couvrir le nid. Cette technique rend difficile la localisation ultérieure du nid. Durant toute l'opération, la femelle "pleure" pour éliminer l'excédent de sel (et le sable) grâce à sa glande à sel. De retour en mer, il est courant que les mâles tentent de s'accoupler avec les femelles venant juste de pondre (**Taquet M., comm. pers.**).

La température du nid détermine le sexe des jeunes, des températures supérieures à 28,8°C (température pivot) donnant naissance à plus de femelles que de mâles (**Godley et al., 2002**). Dans l’océan Indien, l’incubation dure entre 45 et 70 jours (**Le Gall, 1985**) en fonction de l’humidité du nid, de la température et a fortiori de la latitude de la plage. Le temps d’incubation peut aller jusqu’à 90 jours pour cette espèce (**Marquez, 1990**). Les jeunes cassent leur coquille grâce à leur “dent de l’œuf” (le “diamant” des poussins) qui se détache au bout de quelques semaines. Ils mettent alors un ou deux jours pour remonter à la surface, où ils attendent la nuit pour émerger. Le principal déclencheur de l’émergence serait un brusque changement de température, et non la température elle-même ou un gradient de température (**Glen et al., 2006**). Sur le chemin qui les conduit du nid à l’océan, ces tortues émergentes sont d’abord la proie des oiseaux comme les frégates ou les corneilles et des nombreux prédateurs terrestres comme les bernard-l’ermite, les crabes, les chiens, les chats, les civettes ou les mangoustes. Celles, peu nombreuses qui auront pu franchir ce premier obstacle, devront éviter les prédateurs aquatiques tels les carangues, requins, mérours et autres poissons carnivores. Lorsque l’émergence intervient le jour, les chances de survie de ces petites tortues sont quasiment nulles car pratiquement aucune émergente ne parvient jusqu’à l’eau. A Europa et à Tromelin par exemple, cela concernerait de 0 à 10% des éclosions les jours de beau temps et entre 90 et 100% pour les jours de fortes pluies diurnes (**Le Gall et al., 1985b**). On suppose que les émergentes trouvent la direction de la mer grâce aux reflets de la lune ou des étoiles sur l’eau, c’est pourquoi toute autre source de lumière artificielle (lampadaire ou lampe de poche) représente un danger supplémentaire.

Dès que les émergentes ont atteint l’eau, elles entrent dans une phase de nage frénétique, qui durera plusieurs jours et qui permettra aux rares survivantes d’atteindre le grand large. A ce stade, les jeunes tortues sont qualifiées de juvéniles et resteront au large pendant plusieurs années. Cette période correspond au stade “juvénile océanique”.

La tortue verte ne pond pas chaque année, son rythme de reproduction est en moyenne d’une ponte tous les 4 à 5 ans (**Le Gall et al., 1985a**), mais il varie selon les sites de ponte de 2 à 6 ans. La ponte est saisonnière, elle est plus ou moins étalée dans le temps en fonction du site considéré. Ainsi, chaque site a un profil “nombre total de pontes par jour” au cours de l’année qui lui est propre. Par ailleurs, une femelle pond en moyenne 3,5 fois dans une même saison de ponte, chaque ponte étant espacée de 12 à 14 jours (**Le Gall et al., 1986**). Les moyennes établies pour l’espèce sont : une saison de ponte tous les 2,86 ans ; une ponte tous les 12 jours ; et 2,93 pontes par saison (**Miller, 1997**).

L’attachement spatial des femelles à leur site de ponte est très marqué. Par la méthode de marquage-recapture visuelle à l’aide de marques métalliques, **Bosc & Le Gall (1986)**, ont montré une fidélité spatiale à des zones de ponte d’une taille voisine de 200 mètres sur les plages de l’île de Tromelin. Cet attachement à un site de ponte aussi précis géographiquement est d’autant plus remarquable que les pontes ont lieu à plusieurs années d’intervalle et que les sites de pontes sont éloignés de centaines, voire de milliers de kilomètres des sites d’alimentation (habitat inter-ponte des tortues). Les résultats obtenus par **Bosc & Le Gall (1986)** dans l’océan Indien sont confirmés par **Dizon & Balazs (1982)** dans le Pacifique. Grâce à la radio télémétrie, ces auteurs ont observé l’absence d’échange de femelles ou de mâles entre deux sites de ponte d’Hawaï espacés pourtant de seulement 9 km. Cette fidélité aux sites de ponte est supposée être associée à une forte philopatrie (**Chapitre II.G.3**).

## 2. Systèmes d'appariements et multipaternité

Le système d'appariement des tortues marines était très peu étudié jusqu'à l'apparition, il y a une quinzaine d'années, de marqueurs moléculaires adaptés à ce type d'étude comme les minisatellites et les microsattellites. En parallèle de la question centrale de la multipaternité, d'autres caractéristiques du comportement reproducteur de la tortue verte sont étudiées : comportement de cour, recherche et/ou choix d'un partenaire, comportements agonistiques (**Galbraith, 1993**). La multipaternité a une influence sur le brassage génétique entre individus. Par ailleurs, les conditions environnementales (température, pluie) diffèrent selon les nids, or plus il y a de pères différents, plus la diversité génétique au sein du nid est important, et donc plus on a de chance qu'au moins une partie des œufs survivent, car porteurs de génotypes plus adaptés.

De nombreuses espèces de tortues sont décrites comme étant promiscuitaires, c'est-à-dire qu'une femelle peut s'accoupler avec plusieurs mâles et inversement (**Pearse & Avise, 2001**). Le stockage du sperme et la multipaternité dans un nid sont également des caractéristiques répandues. Cette polyandrie, notamment associée au stockage du sperme, peut avoir certains avantages pour la femelle : l'assurance de pouvoir féconder ses futurs œufs, la diminution des risques d'infertilité des œufs en diversifiant les origines du sperme, augmenter le succès de la progéniture par la compétition du sperme lors du stockage en augmentant la diversité génétique (**Fitzsimmons, 1996 ; Pearse & Avise, 2001**). Chez la majorité des espèces, un des mâles contribue majoritairement au nid. La multipaternité a des influences au niveau populationnel, notamment sur la taille génétique des populations (plus grande en situation de promiscuité) et sur le niveau de variabilité génétique. Par exemple, il est intéressant de noter que même si les femelles et les mâles montrent une philopatrie, il peut y avoir flux de gènes par le biais d'accouplements "opportunistes" survenus lors des migrations génésiques (**Fitzsimmons et al., 1997a ; b**). Il est donc essentiel pour une conservation efficace d'une espèce, de bien connaître l'importance de ce phénomène de multipaternité (**Peare et al., 1994 ; Parker et al., 1996**).

## 3. Philopatrie ou "Natal Homing"

L'hypothèse de philopatrie prévoit que les tortues reviennent pondre sur leur site de naissance, et y restent fidèles par la suite. Un tel comportement de philopatrie des femelles limite les échanges entre colonies et favorise l'isolation des lignées maternelles dans les différents sites de ponte. La très forte différenciation génétique, notamment du point de vue l'ADN mitochondrial (ADNmt), des colonies (sites de ponte) de tortues vertes dans le monde, parfois seulement séparées de quelques kilomètres, est en accord avec cette hypothèse de philopatrie (**Bowen et al., 1992 ; Karl et al., 1992 ; Peare & Parker, 1996a ; Karl & Bowen, 1999**). Une deuxième hypothèse a été avancée pour expliquer la fidélité des femelles à un site de ponte. Celle-ci fait intervenir un phénomène de facilitation sociale : les jeunes femelles suivent des femelles plus expérimentées, en allant pondre sur le même site et y restent fidèles (**Allard et al., 1994**). Dans ce cas, l'isolation des lignées maternelles serait très faible, voir nulle. Actuellement, c'est l'hypothèse de la philopatrie qui est privilégiée.

Si la fidélité à un site de ponte a pu être démontrée chez la tortue verte par des études portant sur des techniques de capture-marquage-recapture (**Bosc & Le Gall, 1986**) et de "tracking" (Girard, 2005), l'hypothèse de la philopatrie est, elle, beaucoup plus difficile à démontrer. En effet, aucune des techniques de marquage actuelles ne permet de suivre une émergente jusqu'à l'âge adulte. L'utilisation de marqueurs moléculaires (protéines ou ADN) reste donc la seule méthode disponible pour trancher entre "Homing" et "Natal Homing". Notons que le développement récent de nouveaux microsattellites permet d'étudier le

phénomène de philopatrie chez les mâles également (Roberts et al. 2004 ; Lee et al., 2007). Celui-ci serait moins important que chez les femelles.

## II. Phylogénie et phylogéographie de la tortue verte

### A. Notions et concepts.

#### 1. Espèces, taxon et sous-espèce

Le terme ‘espèce’ possède à deux principales définitions dans le dictionnaire. La première fait référence à l’espèce en tant que niveau taxonomique : *niveau de la classification des êtres vivants, placé immédiatement sous le genre et comprenant lui-même des sous-espèces et des variétés*. La seconde définition correspond au sens commun du terme : *ensemble d’êtres vivants possédant des caractères anatomiques, morphologiques et physiologiques communs, qui reproduisent entre eux des êtres semblables et également féconds*. Cependant, ces deux définitions semblent assez floues. Ceci est dû au fait que la notion d’espèce soit difficile à définir clairement. En effet, chaque organisme vivant est différent et la variabilité tant phénotypique que génotypique du monde vivant engendre une sorte de continuité du vivant. Il est alors difficile d’établir des seuils objectifs et efficaces permettant de classer les organismes dans des ensembles bien distincts, et ce quel que soit le niveau taxonomique considéré.

Ainsi, on serait tenté de dire que la classe des Mammifères est uniquement constituée d’organismes vivipares, alors que les Reptiles sont tous ovipares. Pourtant les Monotrèmes sont des mammifères ovipares, alors que le serpent caméléon est vivipare et que le lézard vivipare est ovovivipare, la viviparité n’est donc pas un critère valable. Par contre, tous les mammifères allaitent leurs petits, alors qu’aucun reptile ne le fait. De même le critère des phanères permet lui aussi de distinguer parfaitement ces deux classes de vertébrés : les Mammifères et leurs phanères de type ‘poil’ d’un côté ; les Reptiles et leurs ‘écailles’ de l’autre.

Cette perpétuelle recherche de nouveaux critères plus adaptés, constitue l’un des facteurs d’évolution de la notion d’espèce depuis son apparition avec celles de la zoologie et de l’histoire naturelle. La théorie de l’évolution de Darwin et l’apparition de la génétique constituent les deux principaux tournants dans l’évolution de cette notion.

A l’origine, l’espèce est considérée comme *une constante absolue dans la nature* (Lamarck). Ainsi, les espèces sont fixes et il suffit d’une collection d’individus *typiques* (Linné) pour définir une espèce. Cette définition suppose que les individus ressemblent presque parfaitement à leurs parents, et surtout que le caractère spécifique est lui totalement constant d’une génération à l’autre. Par la suite, Cuvier définit l’espèce comme *la réunion des individus descendus l’un de l’autre ou de parents communs, et de ceux qui leur ressemblent autant qu’ils se ressemblent entre eux*. Ceci a donné naissance aux notions d’espèce ‘phénétique’ et d’espèce ‘taxonomique’. La première définit l’espèce comme un ensemble d’organismes vivants se ressemblant plus entre eux qu’à d’autres ensembles équivalents. La seconde notion considère qu’avec un grand nombre de critères, il est possible d’établir une limite claire et objective entre deux espèces différentes. La première est une notion plus empirique.

Le terme ‘taxonomique’ fait référence ici à la notion de ‘taxon’. Le ‘taxon’ regroupe tous les organismes possédant des caractères taxonomiques ou diagnostiques communs, ces derniers étant réputés homogènes au niveau taxonomique considéré. A la différence de l’espèce, le taxon intervient à tous les niveaux taxonomiques (classes, genres, espèces,...). Le

taxon se définit par son nom scientifique et sa circonscription, cette dernière étant l'ensemble des informations scientifiques permettant de 'circonscrire' le taxon.

La notion d'espèce 'taxonomique' présentant des lacunes, deux nouveaux critères sont venus s'ajouter à la notion d'espèce : l'interfécondité et l'isolement. L'interfécondité étant le fait que deux individus pris au hasard (mais de sexe opposés) peuvent se reproduire et donneront un produit viable et lui-même fécond. Par conséquent, deux individus très dissemblables peuvent appartenir à la même espèce et être donc interféconds, alors que deux individus semblables mais non interféconds appartiennent donc à deux espèces différentes (**Tocqueville**). C'est la définition la plus répandue, elle correspond à la notion d'espèce 'biologique' : ensemble de populations effectivement ou potentiellement interfécondes, qui sont isolées du point de vue reproductif d'autres ensembles équivalents. Cependant, si la non-interfécondité de deux individus garantit qu'ils appartiennent à deux espèces différentes, l'interfécondité elle ne suffit pas pour conclure qu'il s'agit de la même espèce. A l'instar des différentes espèces de tortues marines qui peuvent donner des hybrides viables.

Templeton (1989, cité par **Chandler & Gromko, 1989**) considère que le concept d'espèce est étroitement lié aux mécanismes qui forment ces espèces. De même, Mayr (cité par **Gould, 1994**) souligne l'importance de l'isolement géographique (barrière environnementale ou distance géographique) dans les mécanismes de formation des populations, des sous-espèces, et a fortiori des espèces. Cet isolement devient alors un critère dans la détermination des espèces, en étroite association avec l'isolement reproductif qui en découle.

Les critères d'interfécondité et d'isolement sont parfois difficiles à vérifier. Par exemple dans le cas d'espèces disparues dont il ne subsiste que des fossiles. De même, deux populations peuvent être isolées par une barrière environnementale alors qu'elles pourraient potentiellement se reproduire entre elles et qu'elles sont inter-fécondes. L'apparition de barrières environnementales est d'ailleurs l'une des causes des phénomènes de spéciation.

Par la suite, le concept de niche écologique vint s'ajouter à la notion d'espèce (**Van Valen, 1976**). L'espèce est alors une *communauté reproductrice de populations, reproductivement isolée d'autres communautés et qui occupe une niche particulière dans la nature*. La notion d'espèce 'écologique' vient de là : ensembles d'organismes vivants partageant la même niche écologique. Cependant, cette définition pose le problème de la définition d'une niche écologique.

L'utilisation de l'outil génétique et l'étude de la phylogénie ont permis une grande avancée dans la délimitation des espèces. C'est la notion d'espèce 'phylogénétique' : la plus petite lignée d'un ensemble d'organismes vivants pouvant être définie par une combinaison unique de caractères diagnostiques. Ces nouveaux outils sont également très utiles dans l'étude de l'évolution des espèces (**Hewitt, 2001**). Cependant, l'essor de l'outil génétique a eu un effet néfaste sur la systématique proprement dite en la rendant obsolète car plus à la mode, comme le souligne Mayr (1942 cité par **Gould, 1994**). Celui-ci souligne que la situation s'est depuis grandement améliorée et que les deux approches au lieu de s'affronter, se complètent.

Dans cette étude, nous avons considéré l'espèce 'tortue verte' en prenant en compte à la fois l'aspect 'biologique' et l'aspect génétique.

Une sous-espèce constitue en quelque sorte une forme intermédiaire dans le processus de spéciation. Il s'agit d'un ensemble d'individus qui se trouvent isolés des autres individus de l'espèce pour des raisons écologiques (barrière environnementale), anatomiques (forme du grain de pollen et de l'orifice du pistil), ou éthologiques (saison de reproduction). Cet ensemble va alors évoluer indépendamment de l'espèce source et finira par présenter des caractéristiques spécifiques, soit totalement nouvelles (mutations), soit par la fixation d'un caractère variable chez l'espèce source (dérive génétique). Cependant, l'interfécondité est en général encore possible entre les différentes sous-espèces et les divergences ne sont pas encore suffisamment marquées pour leur donner le statut d'espèce.

## 2. Populations, métapopulation et population idéale

Le terme 'population' a deux sens bien distincts. Le premier fait référence à l'ensemble d'échantillons sur lequel porte l'analyse en statistiques. Le deuxième est largement utilisé en biologie, bien qu'il soit rarement défini. On désigne communément une population comme étant une unité de reproduction : *un groupe d'individus de la même espèce vivant dans une zone géographique suffisamment restreinte pour que tout membre de la population puisse se croiser avec tout autre (à condition, bien sûr, qu'ils soient de sexes opposés)* (Hartl, 1994). Ce qui sous-entend que les individus d'une population se croisent plus entre eux qu'avec des individus de populations voisines. C'est à cette définition que l'on fait référence en biologie des populations.

L'aspect 'restreint' de la zone géographique est évidemment dépendant de l'espèce considérée, à l'instar de la tortue verte espèce fortement migratrice qui peut parcourir des milliers de kilomètres en quelques semaines, alors qu'un escargot aura un rayon d'action beaucoup plus limité.

La distinction de plusieurs populations chez une même espèce vient en partie du fait que les individus ne sont pratiquement jamais répartis de manière homogène et aléatoire dans le milieu. La structuration spatio-temporelle des individus d'une espèce dérive en partie de l'action de la structuration du milieu (milieux favorables, barrières environnementales), mais aussi de facteurs intrinsèques à l'espèce (comportements sociaux, grégarisme). C'est notamment pourquoi la détermination d'une population varie d'espèce à l'autre.

Par ailleurs, il faut nuancer cette définition pour les espèces migratrices, dont les aires de reproduction sont distinctes (dans l'espace et/ou le temps) des autres aires occupées par l'espèce (alimentation, repos). En effet, deux individus présents côte à côte dans la même aire d'alimentation, n'auront jamais l'occasion de se croiser, alors que deux individus s'alimentant dans deux sites différents mais occupant la même aire de reproduction pourront se croiser et appartiendront donc à la population. Cette précision prend tout son sens chez les tortues marines où les sites d'alimentation et de reproduction peuvent être distant de plusieurs milliers de kilomètres. C'est pourquoi l'on parle d'agrégations de tortues, et jamais de populations, au niveau des sites d'alimentation. Il est cependant possible que tous les individus présents sur un site d'alimentation appartiennent à la même population, mais se reproduisant ailleurs, ils ne peuvent constituer une unité de reproduction, donc ne forment pas une population.

En génétique des populations, des critères génétiques s'ajoutent au critère d'unité de reproduction. En fait, le terme 'population' ici ne fait pas référence au terme 'populations' dans son sens biologique, mais aux termes 'population locale', 'dème', 'population mendélienne' ou encore 'sous-population' (Hartl, 1994). Tous ces termes correspondent à la même notion, ils font référence à une sous-unité de croisement à l'intérieure d'une

population. Le principe est que les fréquences alléliques varient de manière significative entre les différentes sous-unités au sein d'une même population. Cela implique que la population soit structurée géographiquement et relativement grande. Ces divergences génétiques entre populations locales influencent l'évolution des caractères adaptatifs. L'ensemble des génotypes individuels forme le patrimoine génétique de la population locale qui lui est caractéristique, au même titre que sa localisation spatio-temporelle. C'est l'étude des patrimoines génétiques de ces populations locales et de leur évolution qui constituent la génétique des populations.

Dans le présent manuscrit, le terme 'population' désigne toujours (sauf dans les traitements statistiques) une 'population locale', car c'est dans ce sens que le terme est généralement employé en génétique des populations.

Une population fermée ou population isolée est une population n'ayant aucun échange d'individu avec les autres populations, il y a absence de migration. Lorsque des phénomènes de migration existent avec les populations voisines, on parle de population ouverte (**Muths, 2006**). Le terme 'métapopulation' est employé dans cette étude pour désigner l'ensemble des tortues atlantico-méditerranéennes d'une part et indo-pacifiques d'autre part. Ce terme fait en général référence à une communauté de populations locales indépendantes, interconnectées, entre lesquelles il existe des flux d'individus (**Chaloupka et al., 2004 ; Rivalan, 2004**).

Enfin, la notion de 'population idéale' ou 'population théorique idéale' désigne une population théorique, donc sans aucune réalité biologique, qui constituent un outil pour étudier l'évolution du patrimoine génétique d'une population. Cette population idéale doit répondre à un certain nombre de conditions :

- Population d'organismes diploïdes à reproduction sexuée et à générations non chevauchantes (un individu de la génération  $n$  ne peut pas se croiser avec un individu d'une autre génération).
- l'effectif de la population est infini.
- La population est close, pas de migration.
- Absence de sélection.
- Absence de mutation ou de distorsion de ségrégation méiotique (un individu hétérozygote produira autant de gamètes portant chaque allèle).
- La reproduction est panmictique : le choix du partenaire sexuel et la rencontre des gamètes sont totalement aléatoires.

Cette population théorique est construite de telle sorte qu'elle est la même évolution, en terme de coefficient de consanguinité  $f$ , que la population réelle à laquelle elle est associée. On considère en général que son effectif, appelé effectif génétique ou taille effective et noté  $N_e$ , correspond au nombre d'individus dans la population réelle qui participent réellement à la perpétuation de la population.

## ***B. Place de la tortue verte dans la phylogénie du groupe :***

### **1. Les tortues marines : l'évolution à un rythme de tortue**

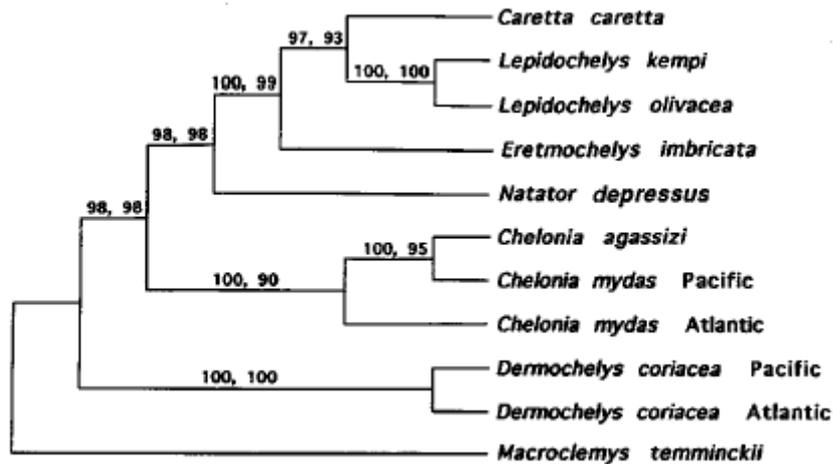
Des études portant sur des marqueurs moléculaires différents s'accordent sur le fait que les tortues présentent des taux d'évolution et une variabilité génétique plus faibles que la plupart des espèces de vertébrés et d'invertébrés (**Bickman & Carr, 1983 ; Bonhomme et al., 1987 ; Avise et al., 1992 ; Fitzsimmons et al., 1995a ; Olmo, 2005**).

L'étude de **Bonhomme et al. (1987)**, portant sur les protéines, montre l'existence simultanée d'une faible hétérogénéité et l'absence quasi-totale de diversification, entre bassins océaniques, chez la tortue verte. Ce constat est difficile à expliquer, contrairement à la faible diversité génétique observée qui se retrouve chez d'autres vertébrés de grande taille. Il ne s'agit vraisemblablement pas d'un effet "bottleneck" récent (effondrement démographique à un instant donné), puisque l'on observerait alors une différenciation des bassins océaniques. La faible variabilité génétique serait donc une caractéristique intrinsèque de cette espèce, et l'absence de divergence entre les bassins serait probablement, elle aussi, un élément stable et relativement ancien. Etant donné que ces observations ne correspondent pas aux théories dites "modernes" de l'évolution, on peut penser que les vitesses d'évolution biochimique sont extrêmement faibles chez les tortues marines : soit parce que les taux de mutation sont beaucoup plus faibles, soit parce que la valeur sélective de ces mutations est beaucoup plus faible que celle du génotype prédominant (en accord avec la théorie Mullerienne de l'évolution). Ceci est en accord avec la vitesse d'évolution de caryotype très faible chez les tortues démontrée par **Bickman & Carr (1983)**, confirmée ensuite par les travaux d'**Olmo (2005)**. Ce dernier a par ailleurs démontré grâce à l'étude de 1329 espèces de reptiles que le taux de changements chromosomiques des tortues marines (sous-ordre des Chelonioidea) était le plus faible parmi les reptiles. **Olmo (2005)** parle même de stratégie évolutionnellement conservatrice chez les tortues et les crocodiles avec de grands chromosomes faiblement compartimentés, limitant les recombinaisons. De même, le taux de microévolution moyen de l'ADN mitochondrial est beaucoup plus faible chez les tortues (**Avise et al., 1992**). En effet, on observe des divergences au niveau des séquences considérablement plus faibles (2 à 14 fois) que celles attendues, calculées à partir des dates d'apparition de barrières géographiques ou des divergences observées chez d'autres espèces (autres que des tortues) présentant des phylogéographies similaires. Plusieurs hypothèses sont avancées : un temps de génération très long chez les tortues, des taux métaboliques très faibles, l'existence d'une période de stase phylétique ou une grande stabilité des paramètres de la niche écologique (**Bonhomme et al., 1987 ; Avise et al., 1992**), les deux premières hypothèses étant les plus répandues. Cependant, il n'a pas encore été possible de trancher et il reste de la place pour d'autres hypothèses. Ainsi, selon **Bonhomme et al (1987)**, l'existence d'un flux de gènes suffisant entre bassins océaniques pourrait expliquer la faible différenciation des populations.

La situation semble légèrement différente pour les loci microsatellites. En effet, d'un côté, la conservation des séquences flanquant les microsatellites, et donc la conservation de ces loci sur près de 300 millions d'années peut s'expliquer par un faible taux de substitution nucléotidique comme celui observé sur l'ADNmt (**Avise et al., 1992 ; Bowen et al., 1993**). Mais d'un autre côté, tout se passe comme si le processus de glissement de la polymérase, qui est à la base de la formation des microsatellites, fonctionnait de manière similaire chez les tortues et chez les autres vertébrés comme les mammifères par exemple. Ainsi, le polymorphisme des séquences microsatellites proprement dites est aussi élevé, et même dans certains cas plus élevé, chez les tortues marines.

## 2. La phylogénie du groupe : un sujet de débat.

La phylogénie des tortues marines est encore aujourd'hui un sujet de débat. Les résultats diffèrent en fonction des critères considérés (**Figure 1-7**), et plus particulièrement suivant le marqueur moléculaire choisi et le modèle d'évolution de celui-ci considéré pour les études récentes (**Bowen et al 1993 ; Dutton et al., 1996 ; Bowen & Karl 1997**).



**Figure 1-7** : D'après **Dutton et al. (1996)** : arbre obtenu en combinant les résultats des études sur le gène ND4-leucine (ARNt) et sur le gène du cytochrome b, en incluant (valeurs des bootstraps de droite) ou non (valeurs de gauche) les données provenant de la région contrôle de l'ADNmt.

Certains éléments sont communs comme la place de la tortue luth (groupe sœur de la famille des Chélonidés) ou les affinités entre les tortues dites de "Ridley" (olivâtre et de Kemp) et la tortue Caouanne (*Caretta caretta*). L'une des principales différences est la place de la tortue verte (tribu des Cheloniinés), ainsi que les relations entre différentes populations à l'intérieur de cette espèce (Atlantique, Pacifique Ouest, Pacifique Est = *agassizii*). Un autre point important est de savoir si la tortue à dos plat (*Natator depressus*) présente des affinités avec la tribu des Caretteni ou avec celle des Chelonini (**Bowen et al., 1993 ; Dutton et al., 1996**). **Bowen & Karl (1997)** obtiennent des résultats assez différents à partir de l'étude des caractères reproductifs et de l'ADNmt. Dans le premier cas, *Natator depressus*, par exemple, se place dans une branche à part des autres tortues marines, et la tortue caouanne est plus proche de la tortue verte que des tortues de Ridley. Tandis qu'avec l'ADNmt, l'arbre phylogénétique obtenu est identique à celui de **Bowen et al. (1993)** pour le même marqueur moléculaire.

Le statut de la tortue noire ou *agassizii*, apparentée à la tortue verte et présente dans tout le Pacifique Est est un grand sujet de débat. Alors que certains auteurs la considèrent comme une espèce à part, *Chelonia agassizii*, notamment pour des raisons géopolitiques ; d'autres placent la distinction à un niveau inférieur à l'espèce, parlant de *Chelonia mydas mydas* et de *Chelonia mydas agassizii* comme deux groupes paraphylétiques (**Bowen et al., 1993**) ou deux sous-espèces. Cependant, la plupart des études, portant sur de nombreux marqueurs moléculaires (séquence d'ADNmt, RFLP d'ADNn,...), n'ont apporté aucun soutien à la distinction de plusieurs sous-unités taxonomiques au sein de *Chelonia mydas*. Ainsi, les espèces ou sous-espèces *C. m. mydas* (Atlantique), *C. m. agassizii* (Pacifique Est) et *C. m. japonica* (océan Indien et Pacifique Ouest) ne semblent pas avoir lieu d'être (**Bonhomme et al., 1987 ; Dutton et al., 1996 ; Bowen & Karl, 1997**). La tortue verte du Pacifique Est

(EPGT) serait une unité populationnelle, une population mélanistique de la tortue verte (Dutton et al., 1996 ; Karl & Bowen, 1999 ; Chassin-Noria, 2002 cité par Chassin-Noria et al., 2004).

L'étude des hybrides entre les différentes espèces de tortues marines (Karl et al., 1995) apporte des éléments intéressants. L'identification de tels hybrides est quasi-impossible à partir de critères morphologiques. Néanmoins, l'étude de l'ADN nucléaire à une seule copie a permis de démontrer leur existence (Karl et al., 1995). L'étude de l'ADN mitochondrial a ensuite permis d'identifier les lignées maternelles de ces hybrides. On a pu ainsi constater qu'avec des lignées évolutives séparées depuis 10-75 millions d'années, les tortues marines constituent les plus vieilles lignées de vertébrés capables de produire des hybrides viables. Cependant, l'intervention humaine sur le cycle de vie de ces tortues (altération des habitats,...) a peut-être favorisé l'apparition de ces hybrides.

### *C. Etude de la phylogéographie globale :*

#### **1. Deux métapopulations**

La grande majorité des études portant sur la phylogéographie globale de la tortue verte montrent une nette dichotomie entre les populations de l'Atlantique et de la Méditerranée d'une part, et les populations du Pacifique et de l'océan Indien d'autre part, et ce quel que soit le marqueur utilisé (Bowen et al., 1992 ; Karl et al., 1992 ; Karl & Bowen, 1999 ; Roberts et al., 2004).

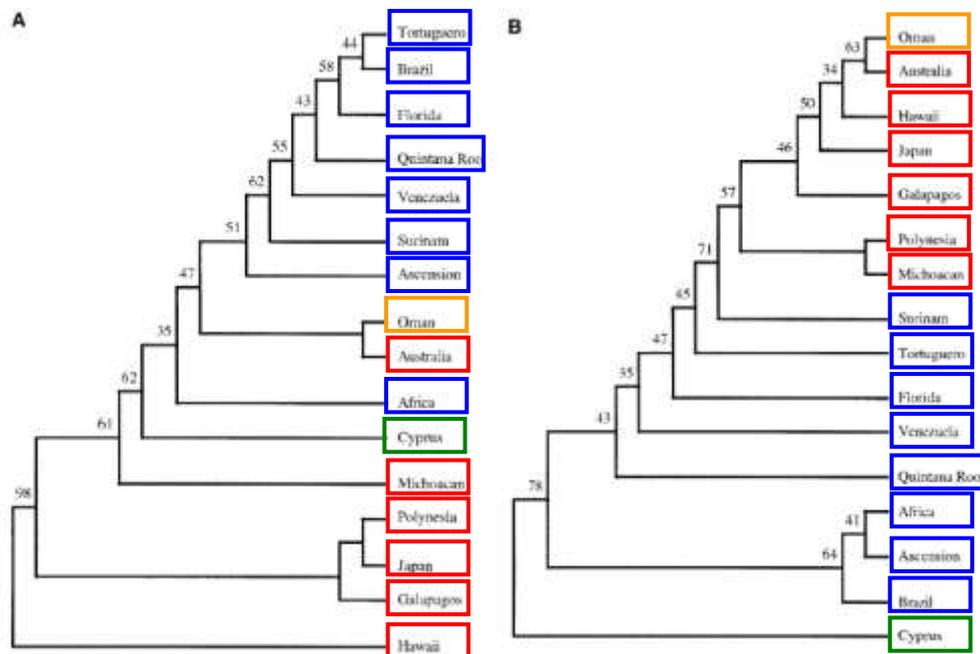
Cependant, Bonhomme et al. (1987) trouvent une très faible différenciation au niveau des protéines entre les 3 bassins océaniques (atlantique, pacifique et indien), mais il s'agit dans ce cas d'une étude phénotypique. De plus, les sites échantillonnés au niveau de l'océan Indien sont Europa et Tromelin, c'est-à-dire des sites proches de la limite entre les zones Atlantique-Méditerranée et Indo-Pacifique. Dans les autres études génétiques, les échantillons proviennent au contraire de régions éloignées de cette zone de contact.

Par ailleurs, si globalement il apparaît une dichotomie génétique entre Atlantique-Méditerranée et Indo-Pacifique, les résultats diffèrent à une échelle plus fine en fonction des marqueurs moléculaires choisis, mais aussi en fonction du choix du modèle d'évolution de ce marqueur (Bowen et al., 1992 ; Karl et al., 1992 ; Fitzsimmons et al., 1997b ; Karl & Bowen, 1999 ; Roberts et al., 2004).

L'un des principaux éléments variant est la place des tortues australiennes et d'Oman. Ces deux populations sont très proches génétiquement, elles sont même indiscernables au niveau de l'ADN nucléaire. Cela peut s'expliquer par une relative proximité géographique, par l'absence de barrière environnementale et par la présence de courants est-ouest favorables. Il est par contre étonnant qu'elles présentent, dans certaines études, plus d'affinités pour les populations atlantiques et méditerranéennes que pour celles de l'Indo-Pacifique beaucoup plus proches géographiquement (Karl et al., 1992 ; Roberts et al., 2004).

En prenant l'exemple de l'étude de Roberts et al. (2004) portant sur 4 loci microsatellite de la tortue verte, on voit que les résultats diffèrent beaucoup selon que l'on choisisse le modèle "allèle infini" (IAM) ou le modèle par étapes (SMM) comme modèle de mutation de ces microsatellites (Figure 1-8). Or, les résultats obtenus à partir de l'hypothèse IAM s'accordent bien avec le contexte géographique et l'existence possible d'un flux de gènes

entre l'Atlantique et le Pacifique par le canal de Panama. Le modèle SMM, qui est lui le plus fréquemment admis en ce qui concerne les microsatellites (**Goodman, 1997**), donne des résultats plus surprenants. Un troisième modèle à "2 phases", pourrait constituer une solution alternative, puisqu'il s'agit en quelque sorte d'un hybride des 2 autres modèles (**Roberts et al., 2004**).



**Figure 1-8 :** Arbres de la phylogéographie globale de la tortue verte obtenus à partir de 4 loci microsatellite (**Roberts et al., 2004**):

(A) à partir de l'indice  $\Delta\mu^2$  de distance génétique, basé sur le modèle SMM  
 (B) à partir de l'indice standard  $D$  de distance génétique, basé sur le modèle IAM

A de rares exceptions près, les colonies (sites de reproduction) étudiées sont toutes significativement différentes du point de vue de l'ADN mitochondrial, donc vis-à-vis de la lignée maternelle. C'est-à-dire que les tortues qui composent une colonie ont toutes la même origine, les colonies sont monophylétiques. Ceci peut notamment s'expliquer par un comportement de philopatrie important chez les femelles.

## 2. Les populations des sites d'alimentation sont des populations mixtes

Contrairement aux sites de reproduction, constitués d'une seule population, les agrégations de tortues des sites d'alimentation sont en général constituées de tortues ayant des origines différentes. On parle alors de "population mixte" : c'est-à-dire d'une agrégation formée à partir de plusieurs populations reproductives avec des contributions variables (**Bass et al., 1998 ; Lahanas et al., 1998 ; D'Aloia & Al-Ghais, 2000 ; Luke et al., 2004 ; Naro-Maciel et al., 2007**). Dans la majorité des études génétiques portant sur des agrégations d'individus en alimentation, la zone d'étude se situaient dans la région Atlantique-Méditerranée. L'importance de la contribution d'une colonie à l'agrégation d'un site d'alimentation ne dépend pas uniquement de la distance géographique qui les sépare. Ainsi, si dans l'étude de **Lahanas et al. (1998)** ce facteur suffit à expliquer les résultats obtenus, elle est insuffisante dans le cas de la Barbade (**Luke et al., 2004**). En revanche, la composition de l'agrégation de

la Barbade est en accord avec la répartition des courants océaniques dans cette région (**Luke et al., 2004**). Les tortues s'alimentant sur la côte nord-est du Nicaragua semblent provenir soit de Tortuguero (Costa Rica), soit de la colonie de l'île des Aves (Venezuela)/ Surinam (**Bass et al., 1998**).

De ce fait, **Formia (2002)** a pu démontrer que le déclin de populations mixtes (sites d'alimentation) n'affecte pas seulement les populations reproductives proches mais aussi des populations plus lointaines qui contribuent de manière significative à l'agrégation considérée. Par exemple, alors que l'on croyait que les tortues pondant sur l'île de l'Ascension allaient toutes s'alimenter le long de la côte Brésilienne, on s'aperçoit que l'Afrique de l'ouest contribue dans de larges proportions à cette colonie. Cette idée est notamment reprise dans l'étude de **Naro-Maciel et al. (2007)** portant sur des populations mixtes de l'Amérique du Sud. Leur protection affecterait de manière positive les colonies, même très éloignées, qui leur sont liées.

### 3. Zones étudiées : SWIO une zone d'ombre

Beaucoup d'études génétiques ayant pour but la phylogéographie globale de la tortue verte portaient sur les mêmes 16 sites d'échantillonnage répartis dans le monde, et parfois même les mêmes échantillons (**Karl et al., 1992 ; Bowen et al., 1992 ; Karl & Bowen, 1999 ; Roberts et al., 2004**). Cela permettait de comparer sans risque de biais les résultats obtenus à partir de marqueurs moléculaires différents. Cependant, ces sites d'échantillonnage n'étaient pas également répartis : 6 pour le Pacifique (2 dans la partie ouest et 4 à l'est), 8 pour l'Atlantique (dont 3 pour les Caraïbes), 1 seul pour la Méditerranée, ce qui peut s'expliquer par la faible superficie relative de celle-ci, et enfin seulement 1 site pour l'océan Indien, Oman (nord de l'océan Indien). Il est frappant de constater qu'aucun site du sud-ouest de l'océan Indien n'ait été choisi, alors que cette région est importante dans la démographie de l'espèce (cf. **Chapitre II.B**).

Seuls **Bonhomme et al. (1987)** ont réalisé une étude globale incluant des échantillons de cette région, mais il s'agissait d'une étude phénotypique. A l'exception de celle-ci, les seules études incluant cette région sont des études régionales (**Mortimer & Broderick, 1999 ; Broderick et al. 1997 ; Bourjea et al. 2007**). Une porte sur les Chagos (**Mortimer & Broderick, 1999**), et les 2 autres sur les Seychelles et les îles océaniques de la région. Toutes ces études concernent uniquement des femelles en ponte. Le sud-ouest de l'océan Indien constitue donc une zone d'ombre, qu'il est essentiel d'étudier et de replacer dans la phylogéographie globale de l'espèce, afin d'élaborer des plans de conservation à partir d'une vision plus complète de la structure des populations de tortues vertes.

#### ***D. Structure des populations de la région Atlantique-Méditerranée***

L'étude d'**Encalada et al. (1996)** a permis de mettre en évidence l'existence de deux ensembles principaux : un regroupant les populations de l'ouest des Caraïbes et de la Méditerranée, et l'autre celle de l'est des Caraïbes, de l'Atlantique Sud et de l'ouest de l'Afrique. En 1994 déjà, **Lahanas et al.** avaient démontré une grande divergence génétique entre les tortues de l'est des Caraïbes et celles de l'ouest, ainsi qu'une relation inverse entre la taille des populations de femelles en reproduction et la diversité de l'ADNmt. Il semble en effet que dans cette région, les grandes populations aient subi par le passé des phénomènes de "bottleneck" (goulot d'étranglement démographique) les rendant très peu diversifiées par un "effet de fondation". La présence d'une seule population dans toute la partie sud de l'Atlantique est en accord avec les résultats obtenus par **Formia (2002)** et **Naro-Maciel et al. (2007)**. **Encalada et al. (1996)** ont également tenté de reconstituer l'histoire phylogéographique de la métapopulation Atlantique-Méditerranée : le stock ancestral, situé autour de la latitude de l'île de l'Ascension aurait donné naissance à la population Caraïbes Est-Atlantique Sud-Afrique de l'ouest, ainsi qu'à celle de l'ouest des Caraïbes. La population de la Méditerranée serait apparue secondairement, à partir de la population de l'ouest des Caraïbes. Cette étude montre qu'il est possible d'utiliser la génétique pour reconstituer l'histoire des populations.

L'île des Aves et le Surinam ne diffèrent pas génétiquement de façon significative, de même que la Guinée Bissau et l'île de l'Ascension, et dans une moindre mesure la région de Quintana Roo (Mexique) et la Floride. Les tortues de ces régions pouvant donc être considérées comme faisant partie de la même population (**Encalada et al., 1996**). La Floride est par ailleurs supposée être une colonie récente : moins de 10 000 ans (**Bowen et al., 1992**). Inversement, on peut observer une microstructuration des populations à l'échelle d'une plage (**Peare & Parker, 1996a ; b**). En effet, ces auteurs ont mis en évidence, pour deux années différentes, une corrélation négative significative entre la distance entre deux nids et la similarité génétique des femelles pour la plage de Tortuguero, Costa Rica (7 km de long). Par contre, aucune corrélation significative n'a été montrée pour la plage de Melbourne, Floride (14 km de long). Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer cette différence : des niveaux différents de perturbation humaine entre les deux plages, une précision du comportement de philopatrie différente selon les populations, l'effet de l'âge relatif de ces colonies, l'influence de la présence d'individus d'autres espèces ou une mortalité des tortues émergentes différentes (**Peare & Parker, 1996a ; b**). La fidélité à une si petite échelle au niveau d'un site de ponte a par ailleurs été démontrée dans d'autres régions du monde. Ainsi, par la méthode capture-marquage-recapture à l'aide de bagues d'identification métalliques (type Monel Tag), **Bosc & Le Gall (1986)** ont démontré un attachement des femelles à une zone de plage de 200 m de long. Cependant, aucune étude génétique permettant d'identifier un éventuel lien avec la structure des populations n'avait alors été menée.

## *E. Structure des populations de la région Indo-Pacifique :*

### **1. Le Pacifique Est**

La région de Michoacan au Mexique a fait l'objet de plusieurs études notamment en 1998 et en 2004 (**Chassin-Noria et al., 1998 ; Chassin-Noria et al., 2004**). La diversité génétique de cette région est élevée comparée à celles d'autres régions comme le Surinam ou l'île de l'Ascension (**Encalada et al., 1996 ; Chassin-Noria et al., 1998**) et ce malgré le déclin considérable de cette population. En effet, la taille génétique ( $N_e$ ) des populations de femelles, c'est-à-dire l'effectif d'une population idéale présentant la même évolution (coefficient de consanguinité  $f$ ) que la population réelle, a perdu un ordre de grandeur en une quarantaine d'années (**Chassin-Noria et al., 2004**). On peut donc supposer que cette faible  $N_e$  reste suffisante pour maintenir une diversité génétique de la population (**Chassin-Noria et al., 1998**). Les 4 colonies étudiées par **Chassin-Noria et al. (2004)** distantes au maximum de 45 km demeurent indiscernables génétiquement, et font donc partie de la même population.

### **2. Le Sud-Est asiatique et l'Australie**

Les études réalisées par Moritz et ses collaborateurs autour de l'Australie avaient pour but de déterminer des unités de gestion (MUs) dans l'optique de l'élaboration de plans de conservation efficaces (**Moritz et al., 1995 ; Moritz et al., 2002**). Ils ont identifié 17 MUs et mis en évidence deux caractéristiques essentielles : (1) un groupe de colonies séparées les unes des autres par au moins quelques milliers de kilomètres a de grandes chances d'inclure plusieurs MU distinctes ; (2) une grande chaîne de colonies adjacentes a des chances de former une seule MU. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Dethmers et al. (2006)** qui ont combiné l'analyse de l'ADNmt avec la méthode de marquage-recapture de femelles. Ils ont montré que l'isolement par la distance expliquait seulement 12% de la structure observée des populations. De plus, il semble qu'il y ait dans cette région une grande divergence des fréquences haplotypiques entre les différents groupes de colonies, bien que chaque haplotype soit largement distribué géographiquement. Par ailleurs, les haplotypes sont souvent très divergents (**Moritz et al., 2002**).

**Fitzsimmons et al. (1996)** présentent des résultats similaires du point de vue de l'ADNmt : les différentes régions autour de l'Australie diffèrent significativement, mais ce n'est pas le cas des colonies à l'intérieur de ces mêmes régions. Cependant, en ce qui concerne les fréquences alléliques aux marqueurs microsatellites, les 2 régions citées aux extrémités de la grande barrière de corail (NorthernGBR et SouthernGBR) ne divergent pas. Les auteurs ont donc supposé l'existence d'un flux de gène via les mâles. En 1997, **Fitzsimmons et al. (b)** montrent que ce manque de diversité de l'ADNn le long de la grande barrière de corail serait dû à la migration des tortues du sud de la barrière à travers la zone d'accouplement des tortues du nord, donnant lieu à des accouplements opportunistes.

### 3. L'océan Indien

**D'Aloia & Al-Ghais (2000)** ont montré que les tortues s'alimentant à Ras Al Khaimah (Emirats Arabes Unis) formaient une population mixte. Plusieurs hypothèses sont émises concernant l'origine des 2 haplotypes présents, mais les résultats ne leur permettent pas de trancher. Les tortues vertes femelles nidifiant dans les Chagos présentent des haplotypes (région contrôle de l'ADNmt) communs dans l'est et dans l'ouest de l'océan Indien : C3 et Aa, mais aucun haplotype de la péninsule arabique. Il est toutefois important de noter que cette étude concerne que 3 échantillons de tortues vertes, il est donc difficile de conclure (**Mortimer & Broderick, 1999**). **Formia (2002)** confirme l'existence d'une grande divergence génétique entre les populations de l'Atlantique (Afrique de l'Ouest) et celles de l'océan Indien (les Comores). Cependant, sur les 3 haplotypes mis en évidence aux Comores (10 échantillons), un seul (IND1) est présent en Atlantique (sur le site de Corisco, individus en alimentation). Ces 3 haplotypes, par ailleurs très proches, étant fortement différents de ceux habituellement trouvés en Atlantique, Formia suppose que les deux individus (IND1) observés sur le site atlantique de Corisco pourraient être des tortues de l'océan Indien en migration trophique exceptionnelle dans l'Atlantique. Par ailleurs, **Bonhomme et al. (1987)** ne mettent pas en évidence de différence significative entre l'île de Tromelin et celle d'Europa au niveau protéinique.

Ces deux résultats diffèrent sensiblement de ceux de **Broderick et al. (1997)** et de **Bourjea et al. (2007)**. En effet, **Broderick et al. (1997)** démontrent que Europa et Tromelin appartiennent à des populations différentes, et que si la population de Tromelin est indiscernable génétiquement de celle des Seychelles, celle d'Europa est, elle, beaucoup plus proche des populations de l'Atlantique. Elle en est même génétiquement indiscernable. Ces auteurs supposent donc que Europa est une colonie récente issue de l'Atlantique grâce à un flux de gènes (lignée maternelle) par le sud de l'Afrique (Cap Agulhas). Les résultats de **Bourjea et al. (2007)** confortent l'hypothèse que le cap de Bonne Espérance n'est pas, ou n'a pas été, une barrière environnementale infranchissable durant le dernier million et demi d'années. En effet, sur les 288 individus analysés, 48 présentent le même haplotype (CM8) typique de l'Atlantique. Les résultats de cette étude supposent par ailleurs l'existence de 2 populations dans le SWIO : le nord du canal du Mozambique (NMC) et le sud (SMC). CM8 étant majoritaire dans le SMC, et étant réparti le long du canal selon une sorte de gradient, les auteurs supposent que la limite entre les 2 métapopulations (Atlantique-Méditerranée et Indo-Pacifique) se situerait au milieu du canal et serait maintenue à cause de la configuration courantométrique de la zone. En effet, la présence de gyres divergents au milieu du canal, constituerait une barrière, affectant principalement les individus immatures, plus sensibles aux courants. Les auteurs mettent également en évidence une corrélation significative entre distance génétique et distance géographique au niveau du canal. Cette étude a également permis la découverte d'un nouvel haplotype, jusqu'à présent spécifique au SWIO : Glo33.

A l'inverse, **Roberts et al. (2004)** supposent qu'il existe un flux de gènes par les lignées paternelles allant de l'océan Indien vers l'Atlantique. En effet, les résultats sur l'ADN mitochondrial (maternel) en leur possession montraient une très grande divergence entre l'océan Indien et l'Atlantique, alors que leurs résultats sur les microsatellites (biparentaux) laissaient apparaître au contraire une certaine proximité génétique.

Ainsi, 9 haplotypes ont été décrits dans le sud-ouest de l'océan Indien (**Formia, 2002 ; Bourjea et al., 2007**). L'un d'entre eux (Glo33), découvert par **Bourjea et al. (2007)**, étant pour l'instant spécifique au sud-ouest de l'océan Indien.

## *F. Structuration génétique et contraintes environnementales*

L'étude du contexte physique permet de mieux comprendre la structure des populations de tortues marines et leurs origines. Divers facteurs peuvent être considérés. Ainsi, **Carr & Coleman (1974)** expliquent les 2000 kilomètres que parcourent les tortues du Brésil pour aller pondre sur l'île de l'Ascension par l'extension de l'océan Atlantique et les mouvements du plancher océanique qu'elle a induit. Il y a 80 millions d'années, les côtes américaine et africaine étaient très proches, avec au centre et à proximité l'île de l'Ascension, donc facilement accessibles aux tortues. L'Atlantique s'est ensuite formé progressivement et l'île de l'Ascension s'est retrouvée à 2000 km de la côte brésilienne. Les femelles étant fortement philopatrices, elles auraient continué de fréquenter l'île. Ce raisonnement peut également s'appliquer aux tortues de l'Afrique de l'Ouest venant elles aussi pondre sur l'Ascension (**Formia, 2002**). Un raisonnement analogue a été proposé par **Le Gall (1989)** pour expliquer d'autres migrations génésiques, comme dans les Caraïbes. Par ailleurs, cette théorie est en accord avec les analyses génétiques effectuées par **Bowen et al. (1989)**.

**Encalada et al. (1996)** suggèrent que leurs résultats concernant la formation des différentes populations (colonisation, ...) sont en accord avec l'évolution géologique de leur zone d'étude et plus particulièrement les événements de glaciations. Le rôle des périodes glaciaires et inter-glaciaires, via l'inondation de certains sites, dans des dérives des motifs de migrations génésiques ayant perduré par la suite est également évoqué par **Hirth (1978)**.

Enfin, la répartition des courants marins est citée dans de nombreuses études comme un des facteurs explicatifs de la structure des populations de tortues marines (**Luke et al., 2004 ; Roberts et al., 2004**). En effet, **Girard (2005)** a montré que les trajets migratoires des tortues marines pouvaient être fortement corrélés aux courants de surface. **Roberts et al. (2004)** émettent l'hypothèse d'un passage récent de tortues vertes (mâles) de l'océan Indien vers l'Atlantique via le Cap Agulhas, ce qui est en accord avec la configuration des courants à cet endroit (**Peeters et al., 2004**), avec historiquement des échanges plus importants lors des périodes glaciaires. Par contre, le sens de migration proposé par **Bourjea et al. (2007)**, c'est-à-dire le passage de tortues (femelles) de l'Atlantique vers l'océan Indien, est contraire au courant général observé dans cette zone.

### III. Conclusions et problématiques abordées :

Au vu des résultats concernant la biologie et la phylogéographie de la tortue verte obtenus dans d'autres régions du monde ou sur d'autres catégories d'individus, un certain nombre de pistes de recherche se sont dégagées. Celles-ci doivent permettre d'appréhender la structure des populations de tortues vertes dans le sud-ouest de l'océan Indien de la manière la plus complète possible. Les paragraphes suivants présentent les problématiques de recherche qui sont abordées dans cette étude.

#### *A. La structure des populations dans la région n'est que partiellement connue*

Le sud-ouest de l'océan Indien constitue une zone d'ombre dans la phylogéographie globale de la tortue verte, alors qu'elle constitue une zone d'intérêt d'une part par l'importance des populations présentes en termes démographiques, et d'autre part du fait qu'il s'agit d'une zone de contact entre les métapopulations Atlantico-Méditerranéenne et Indo-Pacifique. Tous les pays de la région se sont engagés en faveur de la protection de cette espèce. Néanmoins, s'agissant d'une espèce fortement migratrice, il est nécessaire que les actions entreprises soient coordonnées à l'échelle de la région. Ceci n'est possible que par une parfaite connaissance des populations présentes et de leur structure génétique.

Jusqu'à présent les études menées dans la région visaient les femelles en ponte et abordaient surtout les lignées maternelles. Il apparaît donc essentiel d'étudier également des individus en alimentation et de prendre en compte les lignées paternelles, afin d'apporter le maximum d'éléments de réponse à la question :

#### → **Quelle est la structure globale des populations de tortues vertes dans la région ?**

Afin de répondre à cette question, une démarche en 3 étapes a été adoptée :

- étudier les caractéristiques génétiques des populations de l'ensemble de la région : le sud-ouest de l'océan Indien est-il une zone riche ?
- étudier le brassage génétique global sur l'ensemble de la région : le sud-ouest de l'océan Indien est-il une zone de mélange ?
- étudier la différenciation génétique au sein de la région : comment se structurent les populations dans le sud-ouest de l'océan Indien ?

De nombreux facteurs explicatifs, aussi bien intrinsèques qu'extrinsèques, de la structure génétique des populations de tortue verte ont pu être mis en évidence dans d'autres régions du monde. Identifier ces facteurs et étudier leur influence permet de mieux comprendre la structure existante des populations, mais aussi d'appréhender sa future évolution.

## ***B. La structure des populations peut parfois être expliquée par des facteurs intrinsèques***

### **1. Les agrégations de tortues en alimentation dans d'autres régions sont mixtes**

Dans toutes les études portant sur des individus en alimentation (adultes et/ou immatures), le caractère mixte de ces agrégations de tortues vertes a été démontré (**Bass et al., 1998 ; D'Aloia & Al-Ghais, 2000**). L'une des conséquences de cet état de fait en biologie de la conservation est que l'évolution de cette agrégation aura une influence sur plusieurs populations. Elle devra être gérée différemment d'une agrégation uni-populationnelle. Or aucune étude génétique portant sur des individus en alimentation n'a encore été menée dans la région. C'est pourquoi des sites d'alimentation de la région font partie des sites d'échantillonnage de cette étude. Notre problématique étant :

**→ Les tortues en phase d'alimentation dans la région forment-elles des agrégations mixtes ?**

### **2. Les mâles et les femelles influent différemment sur la structure des populations dans d'autres régions du monde**

Les éventuelles différences de comportement entre mâles et femelles, notamment concernant la philopatrie, peuvent avoir des conséquences sur la structure des populations. Ainsi, les études de **Roberts et al. (2004)** et de **Bourjea et al. (2007)** évoquent des flux de gènes entre l'Atlantique et l'océan Indien qui se feraient par le biais d'individus d'un seul sexe (respectivement mâles et femelles). Cependant la grande majorité des études et la totalité des études dans la région portent sur les femelles en ponte, et ne prennent donc pas en compte les mâles. Dans cette étude, outre l'aspect distribution spatiale des mâles d'une population, qui est abordée au niveau d'agrégations d'alimentation, nous avons cherché à voir l'apport du mâle dans la structure observée des populations (biparentale).

**→ La structure des populations de mâles diffère-t-elle de celle des femelles ?**

Par ailleurs, si certaines caractéristiques reproductrices de l'espèce (promiscuité, stockage du sperme, multipaternité) favorise le brassage génétique, ce dernier peut être renforcé par un manque de philopatrie des mâles. En effet, si les mâles migrent vers des aires d'accouplement ou des sites de ponte qui ne sont pas ceux de la population à laquelle il appartient, il pourra alors se reproduire avec des femelles d'autres populations (elles fortement philopatrices), engendrant un important brassage génétique. Il apparaît donc important de tenter de répondre à ces deux questions :

**→ Quelles sont les caractéristiques de la paternité dans les nids de la région ?**

**→ Les mâles sont-ils philopatrics ?**

### **3. La structure génétique des agrégations d'immatures sont mixtes**

Les habitats de développement des immatures ne correspondent pas toujours à des sites d'alimentation des adultes, comme c'est le cas dans les îles Eparses. La présence d'immatures au niveau de sites de ponte est intrigante, et on se demande d'où viennent-elles. Si ce sont des individus revenus sur leur lieu de naissance, ou s'il s'agit d'individus d'autres populations qui ont choisis ces sites pour leur développement. De même, à l'instar de celles des adultes, les agrégations d'immatures étudiées jusqu'à présent sont toutes mixtes (**Lahanas et al., 1998** ; **Luke et al., 2004** ; **Naro-Maciél et al., 2007**). On peut donc se demander :

→ **Quelle est la structure des populations d'immatures ?**

#### ***C. La structure des populations peut parfois s'expliquer par des facteurs extrinsèques***

##### **1. L'aspect temporel est essentiel en biologie de la conservation**

S'agissant de conserver une espèce dans son état actuel ou de la ramener et de la maintenir dans un état antérieur plus satisfaisant, l'aspect temporel est un élément essentiel de la biologie de la conservation. Or si celui-ci a été très étudié du point de vue de la biologie des populations à la fois à court et à long terme, seul le long terme a été abordé en génétique des populations. Ainsi, **Encalada et al. (1996)** ont cherché à reconstituer l'histoire des populations de l'Atlantique et de la Méditerranée. Cependant, on ignore quelles sont les tendances à court terme de la structure des populations étudiées. Il est pourtant essentiel de se poser cette question dans le cadre de la conservation de la biodiversité de l'espèce :

→ **La composition génétique d'un groupe varie-t-elle dans le temps ?**

##### **2. La distance géographique ne permet pas toujours d'expliquer la distance génétique entre deux groupes**

Contrairement à d'autres études comme celle de **Lahanas et al. (1998)**, **Luke et al. (2004)** et **Peare & Parker (1996 a ; b)** ont montré que la distance géographique entre deux sites (ou deux nids) n'étaient pas suffisante pour expliquer la distance génétique existant entre les individus de ces 2 sites. On peut donc se demander ce qu'il en est dans notre région :

→ **La structure des populations est-elle influencée par des aspects spatiaux ?**

##### **3. Le contexte physique influence la structure des populations**

Dans d'autres régions du monde, des facteurs environnementaux comme la tectonique des plaques ou les courants océaniques ont été évoqués pour expliquer certaines particularités de la structure des populations. Par exemple, l'expansion de l'océan Atlantique pourrait expliquer pourquoi les tortues en alimentation sur les côtes d'Amérique du Sud et de l'Afrique occidentale parcourent des milliers de kilomètres pour aller pondre sur l'île de l'Ascension (**Carr & Coleman, 1974**). De même, **Bourjea et al. (2007)** évoque l'influence

des courants dans le canal du Mozambique sur le maintien de deux populations distinctes dans notre région. Dans cette étude, l'existence d'un lien éventuel entre la structure des populations observées et le contexte physique est discuté. Il s'agit de savoir :

**→ Existe-t-il une corrélation entre le contexte physique de la région et la structure des populations ?**

#### ***D. Les tortues sont plus nombreuses autour de la Réunion et des pontes ont lieu à nouveau***

Depuis quelques années, on voit de plus en plus de tortues s'alimentant autour de l'île de la Réunion. On observe également à nouveau des pontes sur les plages de l'île depuis 2004 après 60 ans de quasi absence. La première question que l'on peut se poser est :

**→ D'où proviennent les tortues réunionnaises ?**

Sont-elles des descendantes des populations originelles de tortues réunionnaises, ayant migré ailleurs en attendant le retour d'une situation propice ? Sont-elles des tortues venues d'autres sites de la région ou d'autres régions et attirées par un site devenu à nouveau hospitalier ? Ou sont-elles les tortues juvéniles de la ferme d'élevage (Kélonia) qui ont été relâchées il y a une vingtaine d'années dans le but d'étudier la phase juvénile ?

L'étude de ce cas particulier est l'occasion de discuter de l'influence de tous les facteurs que nous aurons traités séparément auparavant, pour une même localisation.

Pour conclure, nous rappellerons que les objectifs de cette étude sont : (1) d'acquérir des connaissances fondamentales sur les populations de tortues vertes du sud-ouest de l'océan Indien par le biais de l'outil génétique ; (2) de se servir de ces nouvelles connaissances pour proposer de nouveaux plans de conservation et de gestion, à l'échelle du sud-ouest de l'océan Indien, basés sur des réalités fonctionnelles et sur la génétique des populations. Ces deux types de connaissances devraient permettre la définition de MUs constituant les éléments de base en biologie de la conservation. Ce sont ces MUs que nous essayeront, *in fine*, de déterminer.



## *Chapitre 2 : Matériel et méthodes*

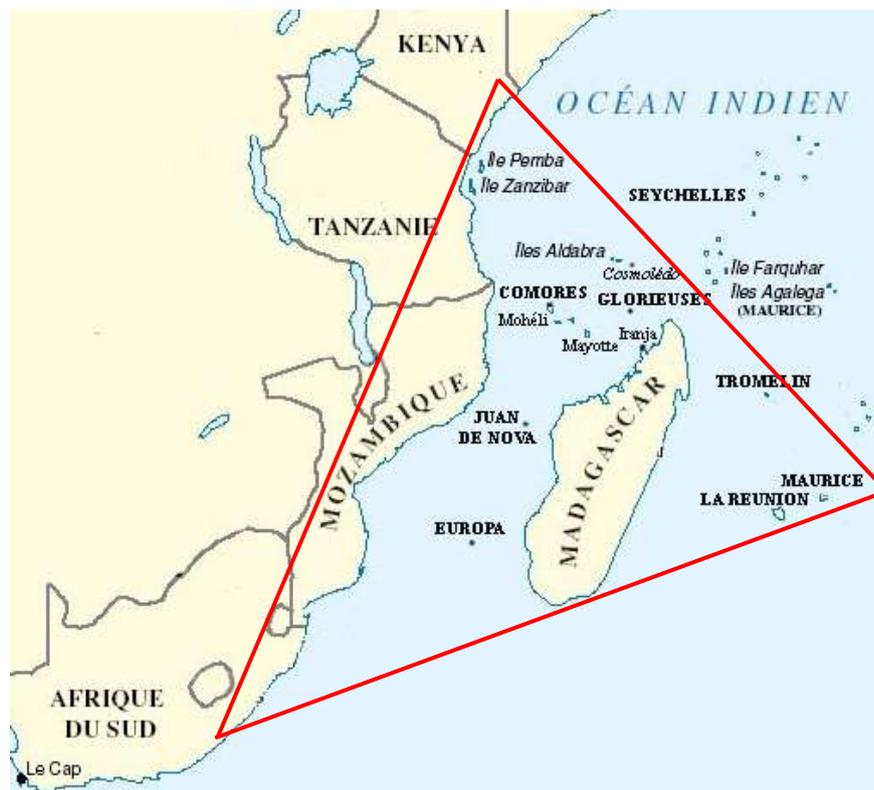


## Chapitre 2 : Matériels et méthodes.

### I. Zone d'étude, plan d'échantillonnage et prélèvements

Dans le présent manuscrit, nous désignons comme étant le sud-ouest de l'océan Indien la zone triangulaire délimitée par le Kenya, le cap de bonne espérance et l'île Maurice (**Figure 2-1**). Cette région, qui constitue notre zone d'étude, comprend des territoires appartenant à 9 pays différents : 4 pays de l'Afrique de l'est, Madagascar, 3 états insulaires et plusieurs territoires français.

Le climat général de la région (**Tableau 2-1**) varie du nord au sud en allant d'un climat équatorial au niveau du Kenya et des Seychelles, vers un climat tempéré à la pointe australe de l'Afrique du Sud, en passant par un régime tropical à la latitude moyenne des Mascareignes (Réunion, Maurice). L'océanographie de la région, et plus particulièrement les mouvements de masses d'eau, ont fait l'objet de nombreuses études (**Lutjeharms & Machu, 2000 ; Ruijter et al., 2002 ; Peeters et al., 2004**). Outre un régime général de courants dirigé majoritairement d'est en ouest dans l'océan Indien, la région présente certaines particularités comme le courant des aiguilles (**Peeters et al., 2004**) ou le réseau de tourbillons du canal du Mozambique (**Ruijter et al., 2002**) capables d'influencer la répartition géographique des tortues vertes.



*Figure 2-1 : Carte présentant la zone d'étude, le sud-ouest de l'océan Indien, ces limites étant symbolisées par un triangle rouge.*

Bien que la tortue verte soit présente dans tous les pays de la zone, on ne retrouve pas forcément chaque stade ou phase du cycle de vie de l'espèce sur l'ensemble de la zone étudiée. Par exemple, aucune ponte n'a jusqu'à ce jour été observée en Afrique du Sud. La densité des populations peut varier d'un facteur 100 d'un site à l'autre, comme par exemple entre Juan de Nova (quelques dizaines de femelles par an) et Tromelin (plusieurs milliers).

Pays	Ville ou île	Température mensuelle la plus basse (°C)		Température moyenne annuel (°C)	Température mensuelle la plus haute (°C)		Précipitation annuelle (L/m <sup>2</sup> /an)	Nb de jour de pluie >2,5 L/m <sup>2</sup>
Kenya	Mombasa	20,6	juillet-août	26,2	31,1	mars	1195	79
	Lamu	22,2	juillet	26,9	30,5	février-mars-avril	919	59
Seychelles	Port Victoria	23,8	juillet-août-octobre-novembre-décembre	26,4	30	avril	2343	131
Tanzanie	Zanzibar	22,2	juillet-août-septembre	26,9	32,7	février-mars	1405	78
	Dar es Salaam	18,8	juillet-août	25,7	31,1	février-mars	1043	64
	Tanga	20	août	25,9	31,6	mars	1339	85
France	Mayotte	20,1	août	26,3	31,1	novembre-décembre	1052	76
	Iles Glorieuses	21,3	juillet-août	27,1	31,8	mars	1103	64
Mozambique	Beira	16,1	juin-juillet	24,7	31,6	janvier-février	1421	76
	Quelimane	16,1	juillet	25,4	32,7	janvier-novembre-décembre	1394	74
	Inhambane	16,1	juillet	24,2	31,1	janvier-février	953	71
	Lumbo	17,2	juillet-août	25,6	32,7	novembre-décembre	944	66
	Maputo	12,7	juillet	22,6	30,5	février	753	59
France	Juan de Nova	22,1	août	27,1	31,4	mars-décembre	969	47
Madagascar	Diego-Suarez	20,5	juillet-août	26,5	32,2	décembre	894	56
	Mahajanga	20	juillet-août	26,9	32,2	avril-octobre-novembre	1554	64
	Morondava	14,4	juillet	25,2	32,2	janvier-février-mars-avril-décembre	773	44
	Tuléar	14,4	juillet-août	24,1	33,3	janvier	336	29
France	Europa	18,4	juillet	25	31,2	février	597	34
Afrique du Sud	Cape St Lucia	13,3	juin-juillet	21,4	28,3	janvier-février	1293	89
	Durban	11,1	juillet	20,5	27,2	janvier-février	1036	77
	Cape Hermes	13,3	juillet	19,9	25,5	février	1165	84
	East-London	10	juillet	18,6	25,5	février	802	62
	Port Elizabeth	7,2	juin-juillet	17,1	25,5	janvier-février	570	47
Madagascar	Tamatave	17,7	août	24	30	janvier-février	3248	159
	Mananjary	15,5	juillet-août	23,2	30	janvier-février	2828	125
	Fort Dauphin	16,1	juillet-août	22,7	28,8	janvier-février	1524	94
France	Tromelin	21,4	août	26,2	30,7	janvier-février	1129	83
	St-Denis	17,5	août	24	29,9	janvier-février	1708	87
	Le Port	18,8	août	25,3	31,5	janvier-février-mars	708	35
	Etang Salé	11	octobre	23	32	janvier	674	41
	St Pierre	16,9	août	23,8	30,7	janvier	1031	59
Maurice	Agalega	22,7	août-septembre	26,9	30,5	février-mars-avril-décembre	2148	124
<b>Moyenne SWIO :</b>			<b>19,1</b>	<b>25,3</b>		<b>30,8</b>	<b>1298,5</b>	<b>76,7</b>

**Tableau 2.1** : Caractéristiques climatiques générales des pays du sud-ouest de l’océan Indien (SWIO), données provenant de **Météo France**.  
Les valeurs extrêmes sont en **gras** ou en **couleur**.

Par ailleurs, les populations des différents pays ou sites ont subi des évolutions différentes, en termes de démographie au cours des dernières décennies. A l'instar de Tromelin (diminution), des Glorieuses (augmentation), ou d'Europa (diminution, puis augmentation). Les politiques de gestion et de protection des tortues marines varient également beaucoup d'un pays à l'autre dans le sud-ouest de l'océan Indien. Les impacts anthropiques directs et indirects changent également en fonction du degré d'urbanisme côtier et des traditions. Globalement, tous les pays de la région sont engagés dans la voie de la conservation (**Tableau 2-2**), mais la disparité des moyens de contrôle induit des efficacités différentes et la lutte contre le braconnage reste encore aujourd'hui une préoccupation constante dans de plusieurs sites du sud-ouest de l'océan Indien

code ISO	Etat	Convention de Washington (CITES)			Autres Conventions				
		Ordre d'entrée en vigueur	Date de		Date d'entrée en vigueur	Nairobi	CBD	Bonn	MARPOL
SC	Seychelles	32	Adhésion	08/02/1977	09/05/1977	Partie	Ratification	Mémo	ratification
KE	Kenya	46	Ratification	13/12/1978	13/03/1979	Partie	Ratification	Partie	ratification
TZ	Tanzanie	54	Ratification	29/11/1979	27/02/1980	Partie	Ratification	Partie/ Mémo	
KM	Comores	128	Adhésion	23/11/1994	21/02/1995	Partie	Ratification		
MZ	Mozambique	66	Adhésion	25/03/1981	23/06/1981	Partie	Ratification		
MG	Madagascar	17	Ratification	20/08/1975	18/11/1975	Partie	Ratification	Partie	
ZA	Afrique du Sud	15	Ratification	15/07/1975	13/10/1975	Partie	Ratification	Partie	ratification
MU	Maurice	11	Ratification	28/04/1975	27/07/1975	Partie	Ratification	Partie/ Mémo	ratification
FR	France	43	Approbation	11/05/1978	09/08/1978	Partie	Ratification	Partie	ratification

**Tableau 2-2** : Liste des adhésions des pays de la zone d'étude aux principales conventions pour la protection de l'environnement qui concernent les tortues marines.

Nairobi = Convention de Nairobi pour la protection, la gestion et le développement de l'environnement marin et côtier de l'Afrique Orientale ; CBD = Convention pour la Diversité Biologique ; Convention de Bonn pour la conservation des espèces sauvages migratrices ('Mémo' = signature du mémorandum sur les tortues marines) ; MARPOL = convention pour la prévention de la POLLution MARine par les bateaux.

### A. Stratégies d'échantillonnage

Le plan d'échantillonnage a été élaboré afin de répondre au mieux à un double enjeu et en tenant compte des contraintes financières et matérielles imposées par les moyens disponibles pour réaliser cette étude. D'un côté, il était important d'échantillonner un maximum de sites afin de cerner au mieux la structure des populations sur l'ensemble de la zone d'étude. Mais, il fallait également obtenir un nombre suffisant d'échantillons de chaque site afin de pouvoir répondre efficacement aux différentes questions de recherche abordées dans cette thèse. C'est pourquoi, nous avons privilégié le plus possible les collaborations avec les équipes locales des divers pays de la zone afin d'obtenir un maximum d'échantillons tout en limitant le nombre des missions d'échantillonnages à l'étranger. La mise en place de ce réseau de collaboration avec les pays riverains du sud-ouest de l'océan Indien, nous a permis d'acquérir un grand nombre d'échantillons et au-delà, de lier des contacts scientifiques très enrichissants avec les équipes concernées. Pour palier aux problèmes de biais liés aux différences de protocole de prélèvement entre les équipes, un kit de terrain a été envoyé à tous les partenaires. Ce kit comprend le matériel de prélèvement (pince emporte-pièce), le produit de conservation

(DMSO, produit vétérinaire), des documents et un CD vidéo présentant le protocole d'échantillonnage. En limitant les dépenses des partenaires, ce kit a permis d'encourager les coopérations.

Quinze sites d'échantillonnage ont été sélectionnés dans la zone d'étude, auxquels s'ajoute un site témoin hors zone (la Polynésie française). La grande majorité de ces sites comporte plus d'un habitat de l'espèce, permettant ainsi d'échantillonner plusieurs catégories d'individus en même temps. Par exemple, les îles éparses sont à la fois des sites de ponte (femelles en ponte, émergentes), mais aussi des habitats de développement pour les immatures. L'échantillonnage sur les sites d'alimentation comportant plus de contraintes, les sites échantillonnés sont moins nombreux et ont été choisis de façon à faciliter les prélèvements génétiques. Ainsi, le comportement familier envers l'homme des tortues de N'Gouja (Mayotte), la faible profondeur des herbiers, et les programmes de recherche déjà engagés ont favorisé la sélection de ce site comme lieu privilégié pour l'étude des individus en alimentation et plus particulièrement les adultes. L'échantillonnage d'immatures s'alimentant au niveau de sites de ponte est possible car ceux-ci s'approchent en général près du bord, se déplaçant dans peu d'eau (mangrove). Cependant, leur capture reste difficile et nécessite soit un système de filet, soit des embarcations légères de type kayak. C'est pourquoi, cet échantillonnage a, dans la plupart des cas, fait l'objet de missions spécifiques.

Les mâles en phase de reproduction ne se rapprochent eux qu'exceptionnellement de la plage (accouplements). Aucun comportement de "land basking" n'a par ailleurs été observé sur les sites étudiés. Les aires d'accouplement de l'espèce n'ont, à ce jour, fait l'objet d'aucune étude dans le sud-ouest de l'océan Indien, nous ne pouvons donc pas écarter l'hypothèse de l'existence de zones d'accouplements spécifiques distinctes des sites de ponte. Ainsi, échantillonner les mâles au niveau des sites de ponte uniquement aurait pu induire un biais dans les résultats. C'est pourquoi, aucun échantillonnage de mâles au niveau des sites de ponte n'a été réalisé. Par contre, l'étude des loci microsatellites est un moyen d'étudier les lignées paternelles et donc indirectement les systèmes d'appariements et les croisements inter-populations. Cet outil ne nous permettra cependant pas de déterminer dans quel aire géographique l'accouplement a lieu et donc de savoir avec précision quels trajets migratoires ont effectués les individus.

Quatre sites de ponte, dont un qui est également un site d'alimentation, ont été choisis pour l'étude du facteur 'saison'. Il s'agit de voir si la composition génétique d'un groupe varie au cours de l'année. Les critères de sélection ont été l'abondance des tortues, la présence de pics de ponte bien marqués (Seasonality Index), et les contraintes liées à l'échantillonnage propres à chaque site. De la même façon 4 sites ont été sélectionnés pour l'étude de la paternité. Cette fois les critères étaient, outre l'abondance des émergences et de faibles contraintes matérielles, la possibilité de bien distinguer les émergentes issues de 2 nids voisins. Nous avons également donné la priorité aux sites où le suivi des nids était possible (Iranja et la Réunion), permettant ainsi d'avoir un prélèvement génétique de la mère ou d'identifier les nids issus de la même mère. Cette information est très utile lors du traitement des données et de l'interprétation des résultats.

En plus des échantillons collectés depuis le début de l'étude (octobre 2004), une partie des échantillons analysés par **Bourjea et al. (2007)** ont été ré-analysés, mais cette fois en utilisant des marqueurs microsatellites. Ceci a permis d'obtenir de nouvelles données génétiques sur ces mêmes échantillons et donc de comparer les résultats des deux études, en intégrant notamment le facteur temps.

## ***B. Sites et campagnes d'échantillonnage***

### **1. Les îles Eparses**

Les îles Eparses sont constituées de 5 îles ou archipel, 4 dans le canal du Mozambique : Les Glorieuses, Juan de Nova, Europa et Bassas da India, et une hors du canal, au nord de La Réunion : Tromelin. L'arrêté du 3 janvier 2005 a placé les îles Eparses sous l'administration du préfet des TAAF (Terres Australes et Antarctiques Françaises), elles en deviennent le 5<sup>ème</sup> district avec la loi 2007-224 du 21 février 2007. Les îles Eparses sont un domaine privé de l'Etat, elles ne font pas partie de l'Union Européenne et ont un statut différent de ceux des autres territoires d'outre mer français. Classées réserves naturelles intégrales par les arrêtés préfectoraux de 1975 et 1981, la pêche et le séjour des personnes sur ces îles y sont fortement réglementés. Elles sont équipées d'un phare permettant aux navires de les repérer la nuit. Elles ne sont évidemment pas ouvertes aux touristes et constituent donc des terrains d'étude privilégiés, avec très peu de perturbations humaines. L'une des espèces emblématiques de ces îles étant la tortue verte, celle-ci a fait l'objet de nombreuses études depuis le début des années 70 (**Servan, 1976 ; Vergonzanne et al., 1976 ; Le Gall et al 1985 ; Bosc & Le Gall 1986 ; Le Gall & Hughes, 1987 ; René & Roos, 1996 ; Lauret-stepler et al., 2007**). Le premier objectif a été l'étude de la biologie de l'espèce et notamment de sa reproduction, puis vers la fin des années 70, l'ISTPM (aujourd'hui Ifremer) a été chargé d'étudier l'impact des prélèvements de juvéniles effectués pour la ferme corail sur les populations de tortues. Enfin, des études régulières et un suivi important des plages de ponte (nombres de traces) depuis une vingtaine d'années a fourni aux scientifiques de Kélonia et de l'Ifremer une quantité importante de données. La présente étude, dans la continuité de celle de **Bourjea et al. (2007)**, permettra de compléter les données démographiques collectées à travers la dimension génétique.

Ces îles représentent également des sites majeurs d'étude pour les oiseaux marins (**Weimerskirch et al., 2004 ; Weimerskirch et al., 2005 ; Jaquemet et al., 2007**). Plusieurs missions scientifiques pluridisciplinaires organisées au cours des 5 dernières années ont pu montrer la richesse de ces îles et leur importance pour la conservation de la biodiversité marine et terrestre du sud-ouest de l'océan Indien. Au-delà de leur rôle d'observatoires pour la faune et la flore, ces îles présentent deux autres intérêts majeurs. Le premier intérêt concerne l'observation météorologique dans cette région cyclonique, grâce à leur distribution géographique sur l'ensemble de la zone. C'est pourquoi chaque île principale est dotée d'une station météorologique. Celle de Tromelin est la seule qui ne soit pas automatisée du fait de la position de l'île proche de l'origine ou dans le trajet des cyclones intéressant les Mascareignes. Cette particularité lui a valu le surnom de "Sentinelle de la Réunion". Leur second intérêt est aussi stratégique et économique, par l'importance de leur ZEE (Zone Economique Exclusive), qui explique en grande partie les conflits persistants avec certains pays de la région, comme Maurice et Madagascar, qui contestent la souveraineté française de ces îles. Si les eaux côtières y sont interdites à la pêche, les zones pélagiques au large ont un intérêt halieutique certain pour les flottilles thonières et celles qui ciblent l'espadon (*Xiphias gladius*). De ce fait, ces zones représentent un risque élevé de captures accidentelles de tortues marines au cours de leur migration.

Chaque île principale possède une piste d'atterrissage permettant un ravitaillement régulier et la rotation du personnel tous les 30 à 45 jours. Celui-ci s'effectue exclusivement par avion militaire (Transall), sauf pour Tromelin où le ravitaillement peut parfois se faire via un petit avion civil bimoteur. Tous les 4 à 6 mois, le bateau de la marine nationale le La Grandière (BATRAL) effectue 'la tournée des îles' (durée : près d'un mois), avec pour principales

missions le ravitaillement en eau douce, vivres et matériels. Ce sont les deux seuls moyens d'accéder aux îles Eparses, hors missions scientifiques par bateau. Dans tous les cas, des autorisations spécifiques délivrées par le Préfet des TAAF sont nécessaires pour accéder à ces îles.

Excepté pour Tromelin, les seuls occupants humains des îles Eparses sont un détachement militaire (14 personnes) et un gendarme représentant l'Etat français. Tromelin quant à elle, est occupée par du personnel de météo France Réunion (4-5 personnes) qui a en charge l'entretien de la station météorologique, ainsi que de l'ensemble de l'île et de ses infrastructures.

Les îles Eparses constituent des habitats de ponte importants, l'absence d'herbier ou d'algues rend impossible la constitution d'agrégations d'adultes en alimentation. Cependant, l'une des particularités de ces îles est la présence d'agrégations d'immatures. Ces îles sont donc des habitats de développement pour les immatures (taille minimale observée : 39 cm). Par la suite, nous désignerons ces agrégations sous l'appellation "immatures sur site de ponte", afin de les distinguer des agrégations d'immatures dans des sites qui sont également des sites d'alimentation pour les adultes.

### a) Tromelin

Tromelin (15°53' Sud, 54°31' Est) est la seule île Eparsée située hors du canal du Mozambique, elle est aussi la plus orientale. Elle se situe au large de la côté est de Madagascar (environ 450 km d'Antalaha), et au nord des Mascareignes (535 km de Saint-Denis), c'est donc une des îles les plus isolées de la région. Avec une superficie d'environ 1 km<sup>2</sup>, Tromelin est de forme ovoïde, mesurant moins de 1 700 m de longueur (NO-SE) et 700 m dans sa plus grande largeur. N'ayant aucun relief (point culminant à moins de 7 m), la mer est visible de n'importe quel point de l'île. Tromelin est une île corallienne, l'abondance de sable blanc et la faible couverture végétale lui ont valu son premier nom : l'île des sables. Elle est entourée par une barrière de récifs madréporiques particulièrement dangereuse, rendant son accès par bateau très difficile. La profondeur des fonds autour de Tromelin devient rapidement importante, de l'ordre de 4 000 m à 7 milles marins au large. Elle présente une ZEE de 280 000 km<sup>2</sup>. Découverte en 1722, Tromelin est explorée pour la première fois par le chevalier de Tromelin en 1776. L'île fut le siège du naufrage de la flûte L'Utile en 1761, qui constitue une part importante de son histoire. Une éolienne permet d'alimenter en électricité la station 24h sur 24.

La flore de Tromelin est très pauvre, en raison du manque d'eau, des alizés qui soufflent une grande partie de l'année et de fréquentes perturbations (dépressions ou cyclones) passant sur ou au voisinage de l'île. Il s'agit principalement d'herbe, de pourpier et d'arbustes peu denses, ainsi que quelques cocotiers (d'origine anthropique) autour de la station. Les veloutiers (famille des Boraginacées, genre *Tournefortia*), présents notamment en bordure des plages, participeraient au panache olfactif aérien de l'île. Ce dernier est supposé être un des moyens d'orientation des tortues vertes lors des migrations génésiques (**Girard, 2005**). La faune est principalement constituée d'oiseaux marins (fous masqué à palmes noires, fous à palmes rouges, frégates et quelques pailles-en-queue), de bernard-l'ermite et bien entendu de tortues vertes. Une campagne de dératisation ayant eu lieu en 2005, il n'y a plus aucun rongeur sur l'île susceptible d'attaquer les nids, mais il reste encore de nombreux prédateurs pour les œufs et les émergentes.

Depuis le début du suivi des populations de tortues vertes femelles nidifiant à Tromelin au début des années 80 (**Le Gall et al., 1985**), toutes les études ont montré une tendance à la baisse dans l'évolution des effectifs. **Seminoff (2004)**, à partir des données de **René & Roos, 1996**) fait état d'une diminution de 22 à 24% du nombre de femelles nidifiantes, passant ainsi de 1639 à 1251-1274 tortues entre 1988 et 2001 respectivement. L'étude récente de **Lauret-Stepler et al. (2007)** montre elle aussi une tendance à la diminution, même si celle-ci n'est pas statistiquement significative. Malgré cette diminution, Tromelin reste l'île Eparsée ayant la plus forte densité de femelles nidifiantes. **Lauret-Stepler et al. (2007)** estiment le nombre de traces annuel moyen, sur les 19 dernières années, à 7178 sur la totalité des plages de Tromelin. Comme dans les autres îles, les pontes ne sont pas régulièrement réparties au cours de l'année. A Tromelin, le pic de ponte se situe en été austral, entre novembre et mars. Il dure environ 250 jours et est assez net (**René & Roos, 1996 ; Lauret-Stepler et al., 2007**). D'après **Le Gall & Hughes (1987)**, les aires d'alimentation des femelles nidifiant à Tromelin seraient le nord-ouest et l'est de Madagascar ainsi que les Mascareignes (Maurice et St Brandon). Les membres de l'équipe météo effectuent des comptages de traces quotidiens de l'ensemble des plages de l'île depuis plus de 20 ans.

Tromelin ayant été choisi pour l'étude du facteur 'saison', l'échantillonnage s'est déroulé sur 2 missions, une en hiver austral (août 2005) et une en été (février 2006). A chaque fois, un scientifique (suffisant pour la zone à surveiller) a séjourné sur l'île environ un mois, profitant des rotations du Transall. L'objectif de ces missions était d'effectuer des prélèvements sur un maximum de femelles en ponte sur les 2 plages de l'île, mais aussi sur des émergentes (une trentaine par nid) pour l'étude de la paternité. Compte tenu de l'absence de lagon et des conditions maritimes difficiles, aucun prélèvement n'a été effectué sur des immatures. La première mission a permis de collecter 33 échantillons de femelles, et a été l'occasion d'une campagne de baguage (Monel Tag). La seconde a permis de collecter 56 échantillons de femelles (ou d'émergentes, une par nid), ainsi que 61 échantillons provenant de 2 nids (respectivement 37 et 24 échantillons) pour l'étude de paternité. S'agissant d'une espèce protégée, nous avons dû obtenir des autorisations auprès des organismes compétents. Le numéro CERFA du dossier pour Tromelin est FR0597400140-I.

## **b) Glorieuses**

L'archipel des Glorieuses (11°33' Sud, 47°17' Est) est constitué d'un banc de sable et d'une plate-forme de corail affleurant de près de 16 km de long. La superficie des aires émergées étant de 7 km<sup>2</sup>. Cet archipel est composé de 2 îles (Grande Glorieuse et l'île du Lys) et de plusieurs îlots (les Roches Vertes, l'île aux crabe). Il est situé dans le canal du Mozambique, au nord-est des Comores (environ 250 km de Dzaoudzi) et se trouve à 220 km de Diégo-Suarez (Madagascar). Le terme Glorieuses, fait le plus souvent référence à l'île principale : la Grande Glorieuse ou l'île Glorieuse, qui est donc la plus septentrionale des îles Eparsées. Grande Glorieuse a une forme arrondie, avec un diamètre maximum de 3 km (5 km<sup>2</sup> de superficie), et constitue la seule île habitée. Elle est plate (altitude maximale 7 m) et sablonneuse, avec de grandes dunes de sable sur sa côte est. Le lagon ceinturant l'île émerge à marée basse. L'île du Lys (ou Petite Glorieuse) se situe à l'autre extrémité du banc de sable, au nord-est de Grande Glorieuse. Mesurant 600 m de diamètre au maximum, et une dizaine de mètres de haut, elle est entourée de larges bancs sablonneux émergés à marée basse.

Les Glorieuses furent certainement découvertes par les navires en route vers les Indes, au début du XVI<sup>e</sup> siècle. La ZEE des Glorieuses est de 48 350 km<sup>2</sup>.

La flore des Glorieuses est très riche avec plus d'une centaine de taxons. La végétation de Grande Glorieuse arbustive et assez dense, et de nombreux veloutiers parsèment les dunes.

Sur l'île du Lys de nombreux palétuviers abritent des crabes et des bernard-l'ermite. Trois espèces de phanérogames au moins sont présentes autour de l'île, offrant une opportunité alimentaire aux tortues marines présentes. La faune de l'archipel est principalement constituée d'oiseaux : une importante colonie de sternes (l'île du Lys), courlis, tournepierre, cailles, tourterelles, cardinaux, corbeaux pie et frégates. On trouve également des rongeurs (rats et souris), des chats sauvage (haut sur pattes), des crabes de cocotiers, des lézards, des insectes (sauterelles, moustiques), ainsi que des poulets sauvages.

Les tortues vertes et imbriquées pondent dans l'archipel. Le nombre de traces annuel moyen de tortues vertes est estimé à 1480 pour la seule zone témoin. Cet indice d'abondance des tortues nidifiant aux Glorieuses aurait augmenté de 6% par an depuis 1987 (**Lauret-Stepler et al., 2007**). Le pic de ponte aux Glorieuses est moins net et plus étendu que celui des autres îles Eparses, il se situerait entre février et août (hiver austral), sur une période d'environ 288 jours (**René & Roos, 1996 ; Lauret-Stepler et al. 2007**). Le gendarme effectue des comptages de traces quotidiens sur une zone témoin des plages de l'île depuis une vingtaine d'années.

Les Glorieuses ne faisant pas partie des sites sélectionnés pour l'étude du facteur 'saison' ou de la paternité, une seule mission de courte durée a été réalisée pour collecter des échantillons de femelles nidifiantes en avril 2005 par 2 personnes de la brigade tortue de Mayotte (mission commune avec Cosmolédo). Trente échantillons de femelles (dont 1 de l'île du Lys) avaient alors été collectés. La participation d'une personne de l'équipe à une mission interdisciplinaire en août 2005, réalisée en voilier sur le nord-ouest de Madagascar et les Glorieuses, a permis d'effectuer des prélèvements sur 29 immatures et 2 mâles. Le numéro de dossier CERFA pour les Glorieuses est FR0597400139-I.

### c) Juan de Nova

On peut dire que Juan de Nova (17°03' Sud, 42°42' Est) se situe au milieu de la partie la plus resserrée du canal, à mi chemin des extrémité nord et sud. Elle se trouve à 200 km du Cap Saint-André, à environ 280 km du Mozambique, et à 600 km au sud-ouest de Mayotte. Juan de Nova est une île en forme de croissant de 5 km<sup>2</sup> (6 km dans la direction est-ouest, et environ 1 700 m dans sa plus grande largeur). La partie émergée a une forme d'enclume, elle est constituée de beach-rock (un frein pour la montée des tortues femelles), de zones rocailleuses, de dunes (sable et calcaire, 10 m maximum) et de plages de sable blanc au nord. Elle comporte également une zone marécageuse au sud avec une lagune ensablée au sud-est. Juan de Nova est protégée par une barrière de corail délimitant un vaste lagon en forme de méduse (le côté convexe orienté vers le Sud). La profondeur du lagon est de 30 à 90 mètres au Sud et de 2 à 15 mètres au Nord.

Juan de Nova, d'abord appelée l'île Saint Christophe, fut découverte en 1501 par le capitaine Juan de Nova. Les principales ressources de l'île sont le phosphate et le guano. Ce dernier a longtemps été exploité, de la fin du XIX<sup>e</sup> siècle à 1968, ce qui a modifié profondément le paysage de l'île, notamment sa flore, et affecté la population de tortues marines nidifiant sur l'île. Cela pourrait être une cause de la faible fréquentation actuelle de l'île par les tortues vertes par rapport aux autres îles Eparses. La ZEE de Juan de Nova est de 61 050 km<sup>2</sup>.

La flore, fortement transformée, est relativement pauvre. Outre de nombreux filaos, on trouve notamment sur l'île des palétuviers au niveau de la zone marécageuse. La bordure des plages est peuplée de veloutiers. La faune de l'île est assez riche, avec de nombreuses espèces d'oiseaux, et plus particulièrement l'une des plus grandes colonies de sternes fuligineuse de

l'océan indien (**Jaquemot et al., 2007**). Des chats sauvages et des rats sont les seuls mammifères présents sur l'île. Juan de Nova est aussi peuplée de margouillats, et de nombreux insectes : moustiques, criquets et scolopendres.

Des tortues vertes et imbriquées viennent pondre sur l'île. Cependant, la fréquentation par les femelles nidifiantes est très faible, quelques dizaines d'individus en moyenne par ans depuis une vingtaine d'années. Les pontes se concentrent entre les mois de novembre et mars, mais un deuxième pic de fréquentation, beaucoup plus faible a lieu entre mai et août (**René & Roos, 1996 ; Bourjea, unpublished data**). Le nombre de femelles venant pondre sur l'île semble en léger accroissement depuis 1995. Le comptage quotidien des traces depuis 1986 est effectué par le gendarme.

Juan de Nova ne faisait pas partie initialement des sites choisis pour l'étude de la paternité au vu de sa faible fréquentation par les tortues. Cependant, il nous a été possible de réaliser des prélèvements au niveau d'un nid, qui ont été ajoutés au pool d'échantillons paternité. L'échantillonnage a été réalisé en deux missions. La première en avril 2006 où deux personnes de Kélonia ont séjourné sur l'île durant 45 jours (une rotation) afin de prélever un maximum d'échantillons sur des femelles en ponte. Très peu de femelles étant venues pondre sur l'île durant cette période, seulement 3 échantillons de femelles en ponte ont pu être collectés. Ces scientifiques ont pu néanmoins effectuer des prélèvements complémentaires sur 8 immatures en alimentation dans le lagon, et 10 émergentes d'un même nid (étude de paternité). La deuxième mission était une mission interdisciplinaire réalisée en voilier en juin 2007 entre Madagascar et Juan de Nova. Le type d'individus ciblé était les immatures et 20 échantillons ont été collectés, grâce à la même technique de capture des immatures dans les eaux à faibles profondeurs que celle utilisée à Mayotte, à Europa et aux Glorieuses. À l'aide d'un kayak, l'immatrice est repérée et approchée, puis un des membres de l'équipe saute à l'eau pour l'attraper, la conduire délicatement au kayak en lui immobilisant les nageoires antérieures. Elle est ensuite hissée sur le kayak où elle est mesurée, baguee (Monel tag), un prélèvement de tissu est effectué sur la nageoire antérieure (si la nageoire postérieure n'est pas assez épaisse), enfin, l'immatrice est relâchée. Cette mission a permis également de collecter des échantillons d'une femelle en ponte, d'adulte mort échoué sur la plage et d'une femelle en train de s'alimenter. Comme pour les autres îles Eparses des démarches relatives au CITES ont été menées et le numéro de dossier CERFA pour Juan de Nova est FR0597400138-I.

#### **d) Europa**

Europa (22°20' Sud, 40°21' Est) est la plus méridionale des îles Eparses. Elle se situe dans l'extrême sud du canal du Mozambique, à environ 350 km au nord-ouest de Tuléar et 500 km de la côte africaine. Europa est la plus grande des îles Eparses en terme de superficie (28 km<sup>2</sup>), elle a une forme à peu près ronde mesurant 7 km dans le sens Nord-Sud et 6 km d'Est en Ouest. L'île est un ancien atoll partiellement comblé, entouré par un récif frangeant presque continu. L'une des principales particularités de l'île est l'existence d'un grand lagon intérieur, couvrant un cinquième de l'île, soit environ 9 km<sup>2</sup> dont 7 km<sup>2</sup> est recouvert par la mangrove. Le lagon s'ouvre sur l'océan au Nord de l'île, mais l'eau du lagon communique également avec l'océan au Sud par une faille, dont l'entrée est un lieu d'agrégation de tortues imbriquées en alimentation sur l'île. Le fond du lagon est constitué de bancs de sable et de patates de corail. Le lagon est bordé d'une mangrove, peuplée de palétuviers entre lesquels les courants ont creusé de petits canaux peu profonds. L'île elle-même est très boisée, le sol est majoritairement rocaillieux, avec des dunes de sables au nord (filaos) et au sud-ouest (joncs).

Le littoral au nord-ouest est constitué de plages de sable blanc avec une importante bande de beach-rock (grès corallien) découverte à marée basse. Elle est interrompue par endroits permettant le passage des tortues vertes lors de leur retour à l'eau après la ponte. Malheureusement, certaines femelles n'arrivent pas à retrouver leur chemin, si elles ne sont pas secourues par les militaires en poste sur île, elles meurent d'insolation. Les plages de l'extrême Nord (la possession), et certaines plages de l'Ouest (Petite Alizée, la plage de la station et la plage des congrès) sont dépourvues de beach-rock. Le Sud et l'Est sont bordés des roches noires recouvertes d'arbustes, rendant impossible la nidification des tortues. Un platier corallien de faible profondeur entoure l'île.

Longtemps confondue avec Bassas da India à l'époque de la compagnie des Indes, Europa ne fut véritablement découverte qu'en 1774 par le navire anglais Europa. Sa ZEE de 127 300 km<sup>2</sup>.

La flore d'Europa, bien que constituée d'un nombre réduit d'espèces, offre une grande variété de paysages : mangrove (palétuviers) autour du lagon, forêt sèche d'euphorbes au Nord, plaine herbacée au Sud avec des zones arbustives (joncs). Europa est la seule île Eparsée à avoir conservé une végétation quasi-intacte. Comme les autres îles Eparsées, Europa abrite un grand nombre d'espèces d'oiseaux, dont deux sous-espèces endémiques. Elle abrite notamment des frégates et des corbeaux pie à plastron blanc, prédateurs pour les émergentes. En 1964, on dénombrait 57 espèces d'insectes sur Europa, et notamment les moustiques qui posent un réel problème aux missionnaires. En effet, en été austral dès la tombée de la nuit, il est impossible de se déplacer sans une combinaison d'apiculteur et l'ensemble des bâtiments est protégé par des moustiquaires. Heureusement, cela ne semble pas affecter la montée sur la plage des femelles de tortues vertes. On trouve aussi sur l'île de nombreuses araignées, des chèvres sauvages, des rats, des crabes et des bernard-l'ermite.

L'île est fréquentée par des tortues imbriquées qui s'alimentent autour de l'île et notamment dans le lagon intérieur, mais qui ne montent pondre sur les plages que de manière exceptionnelle. En ce qui concerne les tortues vertes, en plus des femelles en ponte et des mâles qui les accompagnent, les eaux de l'île accueillent de nombreux individus immatures qui s'alimentent sur le platier à marée haute, mais surtout dans le lagon intérieur au niveau de la mangrove. Le nombre annuel (quelques milliers) de tortues vertes femelles en ponte à Europa, qui était en déclin durant les années 80, semble être à nouveau en augmentation, avec un accroissement de 3% en moyenne par an (**René & Roos, 1996 ; Seminoff, 2004 ; Lauret-Stepler et al., 2007**). Les pontes sont concentrées en été austral sur une période d'environ 218 jours de novembre à février. C'est sur cette île que la saisonnalité des pontes est la plus marquée (**René & Roos, 1996 ; Lauret-Stepler et al., 2007**). Comme sur les autres îles Eparsées du canal du Mozambique, c'est le gendarme qui effectue un comptage quotidien des traces de montée sur la plage témoin, celle de la station. L'étude de **Le Gall & Hughes (1987)** indique que les femelles en ponte à Europa s'alimenteraient principalement le long de la côte ouest de Madagascar, mais peuvent également aller au Mozambique, au sud-est de Madagascar et dans les Mascareignes (Maurice).

Les priorités concernant les prélèvements sur Europa étaient d'une part, d'obtenir des échantillons de femelles en ponte pendant et hors du pic de ponte, afin de pouvoir étudier le facteur 'saison' et, d'autre part, d'effectuer des prélèvements sur des émergentes (une trentaine par nid) pour l'étude de la paternité et enfin, de collecter des échantillons d'immatures. Afin d'atteindre ces objectifs, trois missions d'échantillonnage ont été réalisées. Les deux premières, longue durée, en juillet-août 2005 (deux scientifiques) et février 2006 (un scientifique), visaient les femelles en ponte et les émergentes. Cette mission a permis de collecter 50 échantillons de femelles en ponte sur différentes plages de l'île et un échantillon

d'immaturation, prise dans un cordage sur le platier à marée basse. Aucune émergence n'ayant été observée, aucun échantillonnage n'a pu être réalisé sur ce type d'individus. La deuxième mission a permis de collecter 61 échantillons de femelles en ponte et 300 échantillons d'émergentes provenant de 10 nids différents (30 individus par nid), ce qui est exceptionnel. La troisième mission était en fait une mission interdisciplinaire, réalisée en voilier en mai 2006, elle a permis d'effectuer des prélèvements sur 40 immatures en alimentation dans le lagon intérieur. Le numéro de dossier CERFA d'Europa est FR0597400137-I.

## 2. Les Comores.

L'archipel des Comores est situé dans le canal du Mozambique à l'est de l'extrémité nord du Mozambique et au nord-ouest de Madagascar. D'une superficie totale de 2236 km<sup>2</sup>, il est constitué de 4 îles volcaniques : Grande Comore (ou N'gazidja en shikomori), Anjouan (ou Ndzouani), Mohéli (ou Mwali) et enfin Mayotte (ou Maore). Les 3 premières forment l'Union des Comores, alors que Mayotte est une collectivité départementale d'outre mer française. La population globale est de 892 182 habitants.

Deux espèces de tortues marines pondent sur les plages des Comores et de rares tortues caouannes et luth fréquentent les eaux de l'archipel. Les îles de Mayotte et de Mohéli sont très fréquentées par les tortues vertes et constituent également des sites d'alimentation. Ces deux îles font l'objet de programmes de gestion et de protection des tortues marines : lutte contre le braconnage, contre la détérioration de l'habitat, sensibilisation de public et écotourisme. Même si le braconnage existe toujours dans ces deux îles, les programmes ont permis des avancées importantes qui pourraient expliquer que les Comores soit le seul site de référence de **Seminoff (2004)** dans l'océan Indien dont la population ait connu une croissance entre 1974 et 2001, de 177 à 180% (passant de 1850 femelles estimé à 5117-5188), alors que **Mohadji et al. (1996)** avait mis en évidence un déclin des populations entre 1972 et 1996, du fait des activités humaines. Cependant, le braconnage est encore très important à Anjouan. Les captures accidentelles par les bateaux de pêche constituent une autre menace pour les tortues de l'archipel.

Les collaborations scientifiques engagées depuis plus d'une décennie par l'équipe réunionnaise de l'Ifremer et de Kelonia avec les équipes chargées du suivi et de la protection des tortues marines à Mayotte et à Mohéli ont participé aux choix de ces deux sites d'étude. L'abondance des tortues ainsi que les caractéristiques topographiques favorables des plages comme N'Gouja, Saziley, Moya à Mayotte et Itsamia à Mohéli, ont renforcé l'intérêt pour ces deux îles.

### a) Mohéli

Mohéli (12°18' Sud, 43°43' Est), ou île verte, est la plus petite (216 km<sup>2</sup>) et la plus touristique des îles de l'Union des Comores, notamment à cause de ses plages de sable blanc, de ses hôtels et de son parc naturel. Une des particularités de l'île est la création en 1999 d'un parc marin de 404 km<sup>2</sup> (jusqu'à 100 m de profondeur). En effet, celui-ci est co-géré par les communautés locales et les autorités publiques, garantissant ainsi une meilleure intégration du parc. Cette initiative exemplaire a reçu le prix de l'Initiative Equateur par les Nations Unies. Sur les 4000 à 5000 femelles nidifiant à Mohéli, 75% pondent dans la zone du parc (**Mohadji & Paris, 2000**). Ainsi, Itsamia (12°23' Sud, 43°50' Est) constitue un très bon exemple de relation symbiotique entre villageois protégeant les tortues et tortues constituant un atout écotouristique important. C'est pourquoi Itsamia a été choisi comme site d'échantillonnage à Mohéli. Dans le cadre du suivi des populations de Mohéli, deux missions ont été effectuées à

Itsamia par une personne de Kélonia en avril-mai 2005 et en janvier 2006. Elles ont donné lieu à des prélèvements génétiques. Durant la première mission, 30 femelles en ponte ont été échantillonnées à Itsamia et 3 à Chiroungi. Durant, la seconde mission, 30 femelles en ponte et d'une émergente provenant d'Itsamia ont été échantillonnées. Le numéro de dossier CERFA pour Mohéli est FR0597400133-I.

## b) Mayotte

Mayotte (12°49' Sud, 45°08' Est) ou l'île "hippocampe" est la plus orientale de l'archipel des Comores. Elle est située, à l'entrée nord du canal du Mozambique, au nord-ouest de Madagascar, à 1400 km de la Réunion. Mayotte est composée de deux îles principales : Grande Terre et Petite Terre (374 km<sup>2</sup> au total). Les tortues vertes (les plus abondantes) et les tortues imbriquées pondent et s'alimentent autour de l'île. En effet, l'île présente de nombreuses plages et de vastes herbiers de phanérogames dont se nourrissent les tortues vertes. Bien qu'elle fréquente les eaux mahoraises, la tortue luth ne pond pas sur l'île et son observation est très rare (**Fretey & Fourmy, 1996**).

Le suivi des populations de tortues marines à Mayotte est plus récent (8 années) que celui mené dans les îles Eparses, et les techniques utilisées ne sont pas les mêmes. Une surveillance quotidienne des plages de Moya (12°47' Sud, 45°17' Est) et de Saziley (12°58' Sud, 45°11' Est) est effectuée par les gardes de la brigade "Tortue" (Direction de l'Agriculture et de la Forêt). Cette brigade assume trois missions principales : faire respecter la chartre de bonne conduite envers les tortues auprès de tous les visiteurs, lutter contre le braconnage, effectuer des mesures et des marquages (Monel Tag) des tortues en ponte. Ce suivi permanent a permis de recueillir un important jeu de données biométriques qui a servi de base pour établir le seuil de taille arbitraire entre une immature et une jeune femelle en alimentation : 80 cm CCL. Ce seuil est légèrement supérieur à la taille de la carapace (CCL) de la plus petite tortue verte jamais observée en ponte à Mayotte, et a fortiori dans la zone d'étude (**Ciccione, comm. pers.**). Les secteurs de Moya et de Saziley qui comportent chacun plusieurs plages, sont les sites de ponte les plus importants de Mayotte (**Frappier, 2006**). Plusieurs stagiaires de Kélonia ont travaillé sur ces deux sites dans les récentes années, ils ont ainsi pu effectuer des prélèvements génétiques en parallèle de leurs travaux de recherche. Une autre technique est utilisée pour suivre l'évolution de l'abondance des tortues marines en ponte à Mayotte, il s'agit du comptage mensuel de traces sur l'ensemble des plages de l'île par ULM (**Ciccione et al., 2003**). Ces travaux, couplés aux estimations des paramètres de reproduction (nombre de ponte/nombre de montées par femelle, intervalle inter-ponte), ont permis d'estimer le nombre annuel de femelles en ponte sur Mayotte. Celui-ci est de l'ordre de plusieurs milliers par an (environ 2600 en 2004) et serait en augmentation (**Frappier, 2005**). Le pic de ponte qui culmine en juin, s'étend de mars à octobre.

L'abondance des tortues sur les herbiers fait également l'objet d'un suivi mensuel par comptage sous-marin ("*visual census*") en plongée libre sur le site témoin de N'Gouja effectué par les membres de l'association "Oulanga Na Nyamba". D'autres techniques comme le comptage des tortues en phase d'alimentation sur les herbiers à l'aide d'un paramoteur, ont été expérimentées avec succès à Mayotte (**Roos et al., 2005**). Avec cette technique, il n'est toutefois pas possible de déterminer l'espèce avec certitude. Le site de N'Gouja (12°58' Sud, 45°05' Est), au sud-ouest de Grande Terre, est un site privilégié pour l'étude du comportement alimentaire des tortues marines (**Ciccione et al., 2002 ; Taquet et al., 2006**). En effet, malgré la présence d'un hôtel et d'un grand nombre de baigneurs, les tortues n'ont pas déserté l'herbier de N'Gouja. Cette cohabitation réussie entre touristes et tortues est le fruit d'un travail d'information réalisé conjointement par les gestionnaires de l'hôtel, par

l'association "Oulanga Na Nyamba" et les services de l'Etat concernés. Les tortues se sont donc habituées à la présence humaine non agressive et peuvent donc être approchées sans que leur comportement soit modifié. L'herbier de N'Gouja est peu profond (< 5 m) et forme un 'L'. La partie qui longe la plage fait 1,4 km de long et 200 m de large et l'autre partie fait 1,2 km de long et 400 m de large. L'inventaire de l'herbier de N'Gouja, réalisé en **2001** par **Guerniou & Nicet**, montre que les espèces de phanérogames présentes correspondent à celles consommées par les tortues vertes dans l'océan Indien. Le sex-ratio des tortues sur l'herbier apparaît déséquilibré avec 70% de mâles (**Taquet, 2003**). Le site de N'Gouja a été choisi comme site d'échantillonnage des individus en alimentation pour la facilité d'accès des tortues et parce qu'il fait l'objet de missions scientifiques régulières visant l'étude du comportement alimentaire.

La recapture au Mozambique d'une tortue marquée lors de sa ponte à Mayotte (**Costa et al., 2007**) et la recapture régulière à Mayotte de tortues en ponte à Mohéli (**Ciccione et al., 2002**) prouvent que cette île est un site stratégique majeur pour la sauvegarde des tortues marines dans le sud-ouest de l'océan Indien. Ces résultats de marquages confirment que les sites de ponte et d'alimentation d'une même tortue sont en général distincts, bien qu'il existe des exceptions à cette règle (**Taquet et al., 2006**).

L'échantillonnage à Mayotte a donc été réalisé par le biais des missions scientifiques effectuées régulièrement sur l'île (**Tableau 2-3**), qui ont permis de collecter 214 échantillons entre juin 2004 et octobre 2006. A cela, s'ajoutent 7 échantillons (2 émergentes et 5 femelles) provenant d'individus victimes de braconnage ou de décès accidentels (en 2002 et 2005) complètent l'échantillonnage. Le numéro de dossier CERFA pour Mayotte est FR0597400132-I.

Date de la mission	Type de mission	Site	Echantillons collectés				
			Femelles en Ponte	Individus en Alimentation			Autres
				F	M	I	
Juin 2004	Stage (Homing)	Saziley	8				
octobre 2004 - mars 2005	Stage	N'Gouja	6		2		
Mars 2005	Mission Ifremer-Kélonia	N'Gouja		7	13	10	
Avril - juin 2005	Stage Katia Ballorain (alimentation)	N'Gouja	11		1	1	
Mai 2005	Stage Aline Loricourt (reproduction)	Saziley	26				
Juillet - août 2005		Moya	16				
Juillet 2005	Stage Christophe Chatelet (photo identification)	N'Gouja	5	5	10	5	
Octobre 2005	Mission Ifremer-Kélonia	N'Gouja	8		6	6	
Novembre 2005	Mission Ifremer-Kélonia	N'Gouja		7	9	17	1
Mars 2006	Mission Ifremer-Kélonia	N'Gouja		3		6	
Novembre 2006	Mission Ifremer-Kélonia	N'Gouja		15		10	
<b>Total</b>	<b>214</b>		<b>80</b>	<b>37</b>	<b>41</b>	<b>55</b>	<b>1</b>

**Tableau 2-3** : Missions scientifiques effectuées sur Mayotte entre 2004 et 2006, et ayant donné lieu à des prélèvements génétiques.

### 3. Madagascar.

Madagascar (20° Sud, 47° Est) est une île continentale, qui s'est détachée du continent africain il y a environ 165 millions d'années. Elle offre une variété de climats et de paysages habités par de très nombreuses espèces végétales et animales. Sa densité de population est faible, du fait de sa grande superficie (587 040 km<sup>2</sup>) pour seulement 18 040 341 habitants.

Les 5 espèces de tortues marines de la région ont été observées dans les eaux de Madagascar, toutes sauf la tortue luth y pondent. La tortue imbriquée pond dans tout le nord de l'île ainsi que dans une petite zone du sud-ouest. Les zones de ponte des tortues vertes, caouannes et olivâtre sont beaucoup plus restreintes. Pour les premières, il s'agit de 4 zones : une dans le nord-ouest, deux dans les îles de la côte ouest et une autour de Tuléar. Les tortues caouannes pondent dans l'extrême sud-est et les olivâtres dans des îles du sud-ouest. Madagascar est aussi un site très important d'alimentation, notamment pour les tortues vertes. La principale menace pour les tortues vertes de Madagascar est l'importance des captures intentionnelles. En effet, même si l'Etat malgache est impliqué dans les programmes de sauvegarde et de gestion des tortues marines (**Tableau 2-2**), les mesures ne sont souvent pas ou peu appliquées faute de moyens (**Rakotonirina & Cooke, 1994**). S'agissant d'espèces migratrices, ce braconnage peut affecter également les autres populations de tortues de la région. En effet, les tortues vertes en ponte dans les îles Eparses viennent s'alimenter sur les herbiers des côtes malgaches (**Le Gall & Hughes, 1987**). La protection absolue dont elles bénéficient sur les îles Eparses peut être totalement anéantie par le braconnage qu'elles subissent sur leurs sites d'alimentation et engendrer ainsi un déclin des populations (**Seminoff, 2004**). Malgré tout, les initiatives et les programmes de gestion se multiplient, permettant à la fois de réduire ces captures intentionnelles et d'évaluer au mieux leur impact.

Sur l'île d'Iranja (13°35' Sud, 47°49' Est), un suivi des populations de tortues vertes et imbriquées est réalisé depuis 2000 à l'initiative du WWF et de l'hôtel qui y est implanté (**Bourjea et al., 2006**). Une relation de collaboration établie avec le personnel effectuant ce suivi a permis de collecter 15 échantillons de femelles de tortues vertes en ponte sur Nosy Iranja, ainsi que 55 échantillons d'émergentes provenant de 2 nids (respectivement 45 et 10 échantillons) successifs d'une même femelle, elle aussi échantillonnée.

Lors de la mission pluridisciplinaire d'août 2005 (commune avec les Glorieuses), 24 échantillons ont été collectés dans les îles du nord-ouest de Madagascar (12°14' Sud, 49°00' Est), Nosy Hara entre autres. Il s'agit de prélèvements, en général des fragments d'os, effectués sur des cadavres pour lesquels il a été souvent impossible de déterminer le sexe.

Lors de ces recherches sur le terrain, Valérie Lillette (doctorante sur les relations tortues/populations locales) a eu l'occasion d'effectuer 6 prélèvements sur des tortues vertes mortes, dans les environs de Tuléar (23°20' Sud, 43°38' Est).

Enfin, dans le cadre d'un projet conduit par le Muséum de Genève (responsable Géraud Leroux) en coopération avec plusieurs organismes de recherche internationaux et malgaches sur les îles Barrens (18°29' Sud, 43°47' Est), 111 échantillons ont été collectés : une femelle en ponte, 9 individus victimes de captures accessoires (5 femelles, 1 mâle et 3 immatures), ainsi que 16 femelles, 5 mâles et 80 immatures en alimentation.

Le numéro de dossier CERFA pour le Nord et l'Ouest est le FR0597400134-I, et pour le Sud FR0597400135-I.

#### 4. Les Seychelles.

L'archipel des Seychelles au nord de Madagascar (dans la zone entre 3° et 11° Sud, et entre 46° et 58° Est) est constitué de 115 îles pour une superficie totale de 455 km<sup>2</sup>.

Quatre espèces de tortues marines viennent s'alimenter autour de l'archipel : les tortues verte, imbriquée, caouanne, et luth. Cependant, les plages de ponte de l'archipel ne sont fréquentées que par des tortues vertes et une importante population de tortues imbriquées. Par ailleurs, pour la première fois la présence d'un juvénile de tortue olivâtre a été rapportée aux Seychelles (**Remie & Mortimer, 2007**). Le suivi des populations de tortues marines est très ancien et remonte au début du XX<sup>e</sup> siècle. La population de femelles en ponte d'abord en déclin jusqu'à la fin des années 60, s'est accrue entre 1968 et 1984 et semble maintenant plus ou moins stable avec environ 4000 femelles (**Seminoff, 2004**). Les tortues vertes des Seychelles peuvent pondre à n'importe quelle période de l'année, mais elles sont tout de même un peu plus nombreuses de décembre à mai (**Mortimer, 2004**)

Aldabra (9°25', 46°21'E) et Cosmolédo (9°43'S, 47°35'E) font partie des îles extérieures (46% de la superficie totale des Seychelles mais 2% de la population) et constituent le groupe d'Aldabra. Elles sont constituées de récifs coralliens et atteignent des altitudes maximales faibles. Elles sont entièrement protégées, notamment à cause de la richesse de leur faune : tortues géantes des Seychelles, avec la plus grande population du monde à Aldabra, crabes de cocotiers, oiseaux, ... et bien évidemment tortues marines. Leur accès est réglementé et ces îles sont gérées par la "*Seychelles Islands Foundation*". Les femelles de tortues vertes pondant à Aldabra représentent la moitié de la population nidifiante des Seychelles. La distribution des pontes sur cette île au cours de l'année est bimodal, avec un pic en février-mars et un autre en juin-septembre (**Mortimer, 2004**). Ce sont ces deux îles que nous avons choisies comme sites d'échantillonnage. Une mission de courte durée en avril 2005 (commune avec les Glorieuses) a permis de collecter 32 échantillons de femelles en ponte à Cosmolédo. En ce qui concerne Aldabra, l'échantillonnage a été réalisé dans le cadre d'une collaboration avec la "*Seychelles Islands Foundation*" (Lindsay Chong Seng), le "*Seychelles Centre for Marine Research and Technology and Marine Parks Authority*" (SCMRT-MPA, Mary Stravens, Jude Bijoux et Steven Lagrenade), et "*Island Conservation Society*" (Jeanne Mortimer). Cette collaboration a été fructueuse puisque 68 échantillons de femelles en ponte en provenance d'Aldabra, 374 immatures en alimentation et d'autres échantillons ont d'ores et déjà été collectés. Dans le cadre de cette étude, nous avons analysé 31 échantillons de femelles et 51 d'immatures, afin de répondre efficacement à notre problématique, les autres échantillons seront traités ultérieurement en dehors du cadre de cette thèse. Le numéro de dossier auprès du "*Seychelles Bureau of Standards*" est le A 0347.

## 5. L'Afrique du Sud-Est

Les pays partenaires de cette étude sont du Nord au Sud : le Kenya, la Tanzanie, le Mozambique et l'Afrique du Sud. Les relations de collaboration mises en place avec le Mozambique n'ayant pas encore abouti à la collecte d'échantillons génétiques, ce pays ne sera pas présenté ici. Aucune mission d'échantillonnage spécifique n'a été nécessaire sur ces différents sites car les relations de coopérations que nous avons pu mettre en place, ont permis d'obtenir les échantillons prélevés directement par les équipes locales de chacun de ces pays.

### a) Le Kenya

Le Kenya (3° Sud, 40° Est) est un état d'Afrique de l'Est situé entre la Somalie au Nord et la Tanzanie au Sud. Les 500 km de côtes représentent des sites de ponte potentielle pour les tortues vertes, olivâtres, imbriquées et caouannes. Les tortues luth y sont présentes mais ne pondent pas.

Depuis 2003, des échantillons de tissu ont été prélevés dans le cadre d'une coopération entre la "Wildlife Fondation", le "Watamu Turtle Watch NGO" et le Kescom ("*Kenya Sea Turtle Committee*"). N'ayant pas de volet génétique dans leurs programmes de recherche sur les tortues marines, ces 3 organismes ont décidé de nous apporter leur concours pour la phase d'analyse de ces échantillons. Nos contacts dans ce pays sont Gladys Okemwa (KESCOM), Steve Trott (Watamu Turtle Watch), et Andrew Wamukota (KESCOM). Nous avons reçu mi-2007, 308 échantillons de tortues vertes (150 de 2003, 141 de 2004 et 21 de 2006) provenant de divers sites d'échantillonnage. Il s'agit de 18 échantillons de femelles en ponte, 289 individus immatures, un mâle en alimentation et de 51 échantillons provenant de captures accidentelles. Les deux principaux sites d'échantillonnage sont Mida Creek (3°23' Sud, 39°57' Est) et Watamu (3°20' Sud, 40°00' Est), mais d'autres échantillons provenant de Lamu (2°16' Sud, 40°53' Est), Ras Mwana, Ras Shaka, Ras Tosi, Robinson, Shekiko, Tenewi et Ziwayuu, seront analysés dans le cadre d'une prochaine étude génétique. Le numéro de l'autorisation "Wildlife" est 2371-I-165067.

### b) La Tanzanie

La Tanzanie (8° Sud, 39° Est) est située au Sud du Kenya. En plus de sa partie continentale, la Tanzanie comporte un archipel composé de 3 îles principales : Zanzibar, Pemba et Mafia. Les 5 espèces de tortues marines du sud-ouest de l'océan Indien fréquentent les eaux de la Tanzanie et y pondent, même si c'est un phénomène rare pour la tortue olivâtre. La Tanzanie constitue un site d'alimentation pour toutes les espèces sauf la tortue luth. Deux espèces sont fortement majoritaires : la tortue verte et la tortue imbriquée.

Depuis 2003, les membres de Sea Sence, ONG tanzanienne ayant pour but la protection des dugongs et des tortues marines, collectent des échantillons de tissu provenant de tortues vertes dans plusieurs sites de suivi des populations en Tanzanie. Dans le cadre des relations de coopération établies durant cette étude entre Sea Sence, (notamment Catharine Muir et Freya St John) et notre équipe réunionnaise, 40 échantillons ont été envoyés à La Réunion pour être analysés. Collectés entre décembre 2003 et avril 2006, il s'agit de 12 échantillons de femelles en ponte, de 13 échantillons d'émergentes (une par nid), de 2 mâles et de 2 immatures en alimentation, 3 femelles et 6 immatures mortes, et de 2 échantillons d'origine inconnue. Les sites d'échantillonnage sont l'île de Mafia (7°51'S, 39°46'E), Temeke (sur Pemba, 5°10'S, 39°43'), les provinces de Mtwara (10°20'S, 40°20'E) et Bagamoyo (6°24'S, 38°52'E). Le numéro de dossier CERFA pour la Tanzanie est FR0697400133-1.

### c) L’Afrique du Sud

Constituant la pointe sud du continent africain, l’Afrique du Sud (29° Sud, 31° Est) est à la jonction des océans Atlantique et Indien. Bien que les 5 espèces de tortues marines de la région fréquentent les eaux sud-africaines, deux espèces seulement pondent sur les plages de ce pays : la tortue luth et la tortue caouanne. La principale zone de ponte se situant dans la province de Kwazulu-Natal. La tortue verte se rencontre assez communément en alimentation, alors que l’observation d’une tortue olivâtre est assez rare. La présence de tortues imbriquées est exceptionnelle.

Grâce à la collaboration d’Heidi Kempen (“uShaka Marine World (Seaworld)”) et de Ronel Nel (“Ezemvelo KwaZulu Natal Wildlife”, puis “Nelson Mandela Metropolitan University”), nous avons pu collecter 4 échantillons de tortues vertes, toutes des immatures, et d’autres échantillonnages sont en cours. Il s’agit de deux immatures victimes de captures accidentelles soignée ou autopsiée au centre de soin du uShaka Marine World, et de deux immatures prises dans les filets de protection des plages et relâchées par les personnes du Ezemvelo KwaZulu Natal Wildlife. Ces 4 tortues ont été capturées dans la province de Kwazulu-Natal. Le numéro de dossier CERFA est FR0597400136-I.

## 6. Les Mascareignes : La Réunion

La Réunion (21°09’ Sud, 55°16’ Est) est une île volcanique de 2512 km<sup>2</sup>. Elle abrite déjà plus de 760 000 habitants, avec son fort taux d’accroissement, l’espace sur l’île est une ressource très limitée. L’urbanisation s’est développée de manière exponentielle au XX<sup>e</sup> siècle, en majorité le long du littoral. Sa ZEE est de 318 300 km<sup>2</sup>. A l’heure actuelle, les 5 espèces de tortues marines de la région fréquentent les eaux réunionnaises. Cependant, s’il est fréquent d’observer des tortues vertes et imbriquées lors de plongées autour de l’île, les tortues olivâtres et caouannes sont beaucoup plus rares, il s’agit le plus souvent d’individus victimes de captures accidentelles qui sont recueillies à Kélonia. Quant aux tortues luth, elles ne sont observées qu’exceptionnellement et seulement très au large.

L’île fut découverte au XVI<sup>e</sup> siècle. A partir de 1664 et pendant un siècle, la Réunion, alors appelée l’île Bourbon, est sous le contrôle de la compagnie des Indes. Les tortues marines étaient alors intensivement chassées. Aujourd’hui, l’une des principales ressources de l’île, avec l’agriculture (canne à sucre, ananas), est le tourisme. Le littoral compte de nombreuses infrastructures touristiques. De plus, la densité de population est très forte surtout près du littoral, ce qui explique en partie la disparition quasi-totale des pontes de tortues marines à la Réunion entre le début et la fin du XX<sup>e</sup> siècle. Il ne subsiste désormais que quelques montées ou pontes occasionnelles (**Derand, 1996 ; Ciccione & Bourjea, 2006**). Depuis 1996, un suivi des populations de tortues marines a été réalisé autour de la Réunion (**Robert, 2005**) grâce à des comptages aériens (ULM) et à partir d’un point fixe à terre. Depuis quelques années, les tortues marines, et en particulier les tortues vertes, seraient de plus en plus nombreuses à fréquenter les eaux réunionnaises, notamment dans l’ouest (Boucan, St Gilles, St Leu). Ceci est confirmé par les observations recueillies auprès des plongeurs. En 2004, 22 traces sont observées sur les plages entourant Kélonia (Saint-Leu), elles ont donné lieu à 6 pontes (dont l’émergence a pu être observée pour 5 d’entre elles). Cela représente en une année, plus de pontes que celles observées au cours des 60 dernières années. En 2005, une ponte a de nouveau été observée sur la plage de Kélonia, et pour 2007, deux tortues sont déjà venues pondre : une ponte au Cap La Houssaye et cinq autres pontes successives sur la plage de

Kélonia. Ce retour des tortues en ponte à la Réunion est encourageant compte tenu des efforts fait par la Région Réunion et les associations pour préserver l'espèce et réhabiliter ses habitats côtiers. Une question se pose toutefois : s'agit-il de tortues réunionnaises qui reviennent pondre sur l'île ? ou bien s'agit-il de tortues originaires d'autres sites qui désertent leurs sites de ponte habituels sous une nouvelle pression anthropique ?

En 1978, l'entreprise la 'ferme CORAIL' (Compagnie Réunionnaise d'Aquaculture et d'Industrie Littorale) voit le jour. Sa principale activité est alors l'exploitation de la chair et de l'écaille de la tortue verte. Cependant, la ferme CORAIL n'est pas une ferme d'élevage (puisque la totalité du cycle de vie n'y est pas maîtrisée). Il s'agit d'une exploitation pratiquant le "*ranching*". De jeunes tortues sont prélevées sur les plages de pontes des îles Eparses (Tromelin et Europa) au moment de l'émergence, puis ramenées à la ferme. Après une phase de grossissement de 3 ans, elles sont abattues et transformées (Le Gall, 1985). La tortue verte étant classée en annexe 1 de la convention de Washington, la ferme CORAIL a subi de nombreuses pressions dès sa création, et ce même après s'être engagée à respecter une chartre. Les petites tortues prélevées provenaient toutes d'émergences diurnes (dont le taux de survie naturel est à peu près nul), 40% d'entre elles étaient relâchées après 3 mois à la ferme pour renforcer les populations. Enfin, la ferme menait des actions de lutte contre le braconnage. En plus des jeunes tortues relâchées dans le cadre des activités de la ferme, d'autres tortues également originaires des îles Eparses ont été relâchées à partir de La Réunion lors d'actions ponctuelles.

En 1983, dans le cadre d'une opération scientifique menée conjointement par l'Ifremer et la FFESSM (Commission Régionale de Biologie) 3500 juvéniles originaires de Tromelin (en grossissements à la ferme) avaient été relâchés devant Saint-Gilles les Bains. Dès le début des années 80, de nombreuses études sont menées par l'ISTPM puis l'Ifremer pour tenter d'évaluer l'impact de l'activité de la ferme sur les populations sauvages des îles d'Europa et de Tromelin où ont lieu les prélèvements (**Le Gall, 1985 ; Le Gall et al., 1985 ; Le Gall et al., 1986**). En 1989, la Région Réunion rachète le site de la ferme et en 1994 un moratoire est mis en place pour sa reconversion. C'est la fin de l'élevage commercial de tortues vertes à la Réunion. La ferme CORAIL devient alors le Centre d'Etude et de Découverte des Tortues Marines (CEDTM)). Le chantier de réhabilitation du CEDTM, démarré en 2004, a donné naissance le 18 août 2006 à Kélonia, l'observatoire des tortues marines de la Réunion. L'histoire de la ferme CORAIL est intimement liée à celles de l'étude des populations de tortues. En effet, depuis sa transformation en centre d'études, puis en observatoire, Kélonia a participé ou engagé, en collaboration avec l'Ifremer, de nombreux programmes de recherche et de suivi des populations. Kélonia joue également un rôle de sensibilisation du public et de préservation des habitats. Le programme de réhabilitation de la plage de Kélonia par la réintroduction de veloutiers, a pu jouer un rôle important dans le retour des pontes sur l'île. Si une grande partie des tortues déjà en captivité à la ferme en 1994 ont été relâchées, certaines sont restées (56 vertes et 7 imbriquées), et participent à la sensibilisation du public. Pour une grande partie d'entre elles, on connaît l'année de prélèvement, c'est-à-dire l'année de naissance. Or à partir de 1988, les prélèvements d'émergentes n'ont eu lieu qu'à Tromelin. Par conséquent, les 28 tortues (18 femelles, 9 mâles, et 1 immatures) de la ferme nées d'entre 1988 et 1992 sont forcément originaires de Tromelin. Elles constituent donc pour nous une photographie d'une portion de la population nidifiante de Tromelin il y a une vingtaine d'années. Les autres tortues de la ferme ont elles aussi subi un prélèvement génétique, cela fait au total 55 échantillons de tortues vertes en captivité (41 femelles, 13 mâles, et 1 immatures).

Les autres échantillons de tortues de la Réunion, dites 'sauvages', ont été prélevés sur des femelles en ponte (3 individus), sur des émergentes (2 individus de 2 nids différents qui ont

permis d'identifier l'haplotype de leur mère), sur des cadavres échoués sur les plages (2 mâles et 4 immatures) ou sur des tortues accidentées recueillies à Kélonia (2 immatures) Enfin, 103 échantillons ont pu être collectés provenant de 4 nids de mères différentes, avec respectivement 31, 9, 33 et 30 échantillons par nid. Pour 3 de ces nids, un prélèvement a pu être effectué sur la mère, dont le génotype est donc connu.

## 7. La Polynésie française.

La Polynésie française (17° Sud, 149° Ouest) est un ensemble d'archipels français qui compte au total 118 îles. Elle est située dans l'océan Pacifique, à environ 6000 km à l'Est de l'Australie. Sa superficie totale est de 4 167 km<sup>2</sup>, et elle très peu peuplée. Elle compte une importante population de tortues vertes, en ponte et en alimentation, mais accueille aussi des tortues caouannes, imbriquées et luth.

Grâce à une collaboration avec l'association "te mana o te moana" (Cécile Gaspar) et le CRIOBE (René Galzin et Serge Planes), il nous a été possible de collecter 37 échantillons de tortues vertes, 21 immatures pensionnaires au centre de soin de "te mana o te moana" à Moorea, et 16 émergentes issue d'un même nid (étude de paternité). Ces échantillons constituent notre population témoin.

### *C. Bilan de l'échantillonnage*

Au total, 1551 échantillons ont été collectés pour cette étude depuis octobre 2004 (**Tableau 2-4**) 1514 provenant des 15 sites d'échantillonnage du sud-ouest de l'océan Indien (**Figure 2-2 ; Figure 2-3**) et 37 originaires du site témoin, la Polynésie française. En ce qui concerne les échantillons d'émergentes, il nous a fallu différencier les échantillons destinés à l'étude de la structure des populations (un seul individu par nid), de ceux de l'étude de paternité (entre 10 et 37 individus par nid). Les premiers, notés émergentes 'mito', nous servent à déterminer l'haplotype de leur mère et constituent donc des échantillons complémentaires pour l'étude des individus en ponte. Les seconds sont notés émergentes 'pater'. L'échantillonnage s'est déroulé sur 4 années. Les échantillons des individus de Kélonia nés après 1988 constituent en quelque sorte une photographie de la composition génétique des tortues vertes en ponte à Tromelin il y a une vingtaine d'années. Les échantillons complémentaires (713 principalement issus d'Aldabra et du Kenya) sont conservés pour de futures études.

Parmi ces 1551 échantillons, 449 sont des femelles en ponte, auxquelles s'ajoutent 24 émergentes 'mito', soit au total 473 échantillons pour la phase de ponte. Parmi les 104 échantillons placés dans la catégorie 'autres' se trouvent les individus en captivité : 55 pour Kélonia (41 femelles, 13 mâles et une immature) et 21 pour le centre de soin de "te mana o te moana" (toutes des immatures). Les autres sont des individus dont le sexe et/ou l'activité (ponte, alimentation) sont inconnus. Les individus morts ont été placés à part car nous ne pouvons pas déterminer s'il s'agit d'individus en ponte, en alimentation ou en cours de migration.

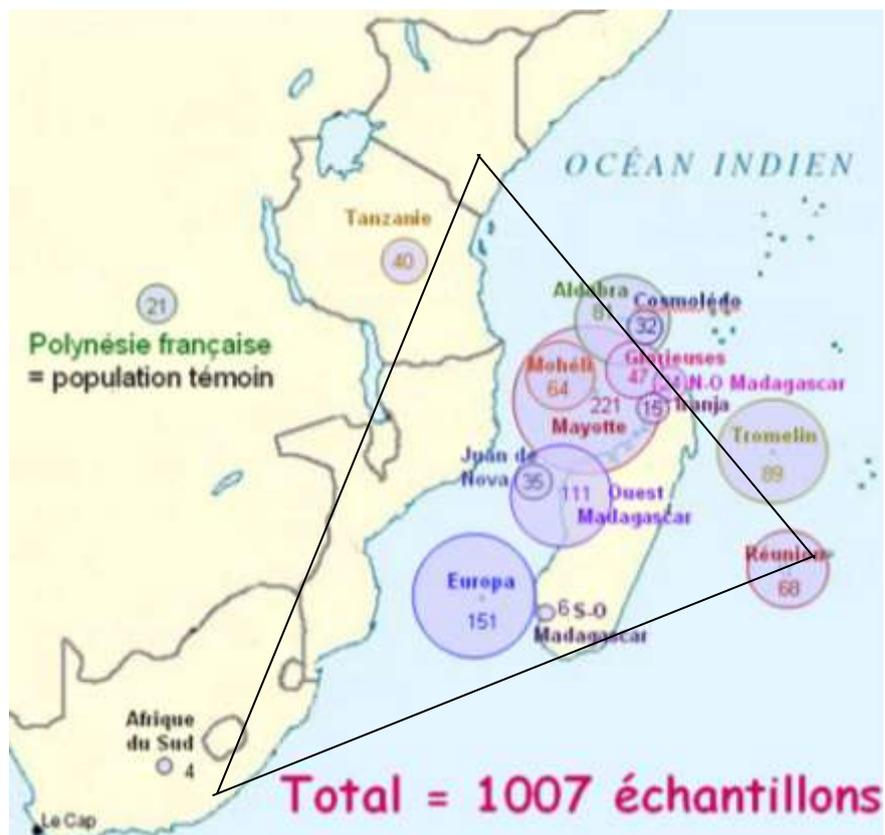


Figure 2-2 : Carte de localisation des 1019 échantillons (hors étude de la paternité) collectés entre 2004 et 2007. Le triangle représente notre zone d'étude.

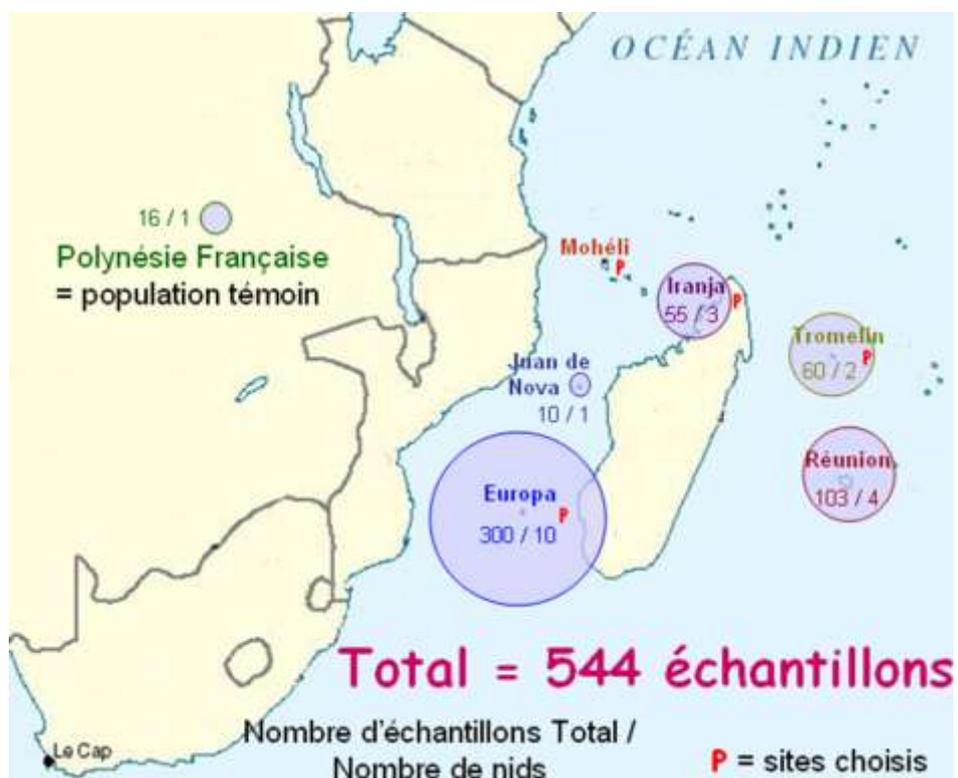


Figure 2-3 : Carte de localisation des 544 échantillons d'émergentes collectés entre 2004 et 2007 dans le cadre de l'étude de la paternité.

Sites	code	Total	Femelles ponte	Emergentes mito (1/nid)	Adultes en alimentation			Individus morts			Emergentes paternité	Autres
					F	M	I	F	M	I		
TROMELIN	TRO	149	81	8							60	
MOHELI	MOH	64	64									
MAYOTTE	MAY	221	80	2	37	41	55	5				1
GLORIEUSES	GLO	47	16				31					
JUAN DE NOVA	JDN	45	4	1			28				10	2
EUROPA	EUR	451	111				40				300	
REUNION	RUN	169	3	(2)			2		2	4	103	55
SEYCHELLES	COSMOLEDO	COS	32	32								
	ALDABRA	ALD	81	30			51					
TANZANIE	TAN	40	12	13		2	2	3		6		2
MADAGASCAR	NORD-OUEST	MAD	24					6		4		14
	OUEST	MAD	111	1		16	5	80				9
	SUD-OUEST	MAD	6					3	1	2		
	NOSSY IRANJA	IRA	70	15							55	
AFRIQUE DU SUD	AFS	4					3			1		
POLYNESIE	POL	37									16	21
<b>TOTAL</b>		<b>1551</b>	<b>449</b>	<b>24</b>	<b>53</b>	<b>48</b>	<b>292</b>	<b>17</b>	<b>3</b>	<b>17</b>	<b>544</b>	<b>104</b>
			<b>473</b>		<b>393</b>			<b>37</b>				

**Tableau 2-4** : Bilan des échantillons collectés en 2004-2007. 'F' = femelles, 'M' = mâles, 'I' = immatures, 'Emergentes mito' et 'Emergences paternité' = cf. paragraphe ci-dessus.  
Les échantillons complémentaires (713 individus) ne sont pas reportés ici.

Une mesure de la taille de la carapace (CCL) a été effectuée pour 997 échantillons (**Tableau 2-5**). La moyenne sur l'ensemble des individus est de 87,8 cm. Les femelles échantillonnées mesurent en moyenne 106,7 cm avec 108,4 cm pour les femelles en ponte et 93,96 cm pour les femelles en alimentation. La moyenne des mâles est de 96,3 cm (95,4 cm pour les mâles en alimentation) et celle des immatures est de 54,6 cm avec 49,5 cm pour les immatures des zones de ponte. Il faut toutefois prendre ces moyennes avec précaution car lors de l'échantillonnage nous avons dû fixer une limite arbitraire de taille (seul critère extérieur) entre les immatures et les femelles, celle-ci est de 80 cm et influence les moyennes des immatures et des femelles. Les tortues de Kélonia mesurent en moyenne 99,6 cm (CCL).

SITE	sexe	Contexte	Effectif	Moyenne taille (cm CCL)	Effectif	Moyenne taille (cm CCL)
<b>Sauvage</b>						
TROMELIN	F	Ponte-été	47	109,69	80	109,04
TROMELIN	F	Ponte-hiver	33	107,78		
COSMOLEDO	F	Ponte	30	106,63	60	107,93
ALDABRA	F	Ponte	30	109,22		
TANZANIE	F	Ponte			11	108,82
MAYOTTE - Moya	F	Ponte	7	104,29	92	107,68
MAYOTTE - N'Gouja	F	Ponte	19	108,63		
MAYOTTE - Saziley	F	Ponte	66	107,77		
MOHELI	F	Ponte-été	32	107,83	97	106,97
MOHELI	F	Ponte-hiver	65	106,46		
GLORIEUSES	F	Ponte			35	108,19
NOSSY IRANJA	F	Ponte			7	118,86
EUROPA	F	Ponte-été	60	109,20	109	109,61
EUROPA	F	Ponte-hiver	49	110,12		
MAYOTTE	F	Alimentation	34	91,29	50	93,96
MADAGASCAR	F	Alimentation	16	99,63		
MAYOTTE	M	Alimentation	30	96,95	36	95,38
MADAGASCAR	M	Alimentation	6	87,50		
ALDABRA	I	Alimentation			51	46,07
TANZANIE	I	Alimentation			7	49,14
MAYOTTE	I	Alimentation			49	66,16
NOSY AMPASSY	I	Alimentation	22	53,73	100	58,39
NOSY DONDOSY	I	Alimentation	8	67,50		
NOSY MAROANTALY	I	Alimentation	70	58,81		
AFRIQUE DU SUD	I	Alimentation			4	52,35
GLORIEUSES	I	Im zone P	29	50,70	97	49,54
JUAN DE NOVA	I	Im zone P	28	45,79		
EUROPA	I	Im zone P	40	51,56		
REUNION		Sauvage			5	61,60
MADAGASCAR		Bycatch			9	80,89
MADAGASCAR	Adult	Morte			14	94,36
<b>Captivité</b>						
REUNION	F	Elevage			41	102,10
REUNION	M	Elevage			13	91,59
POLYNESIE FR	I	centre soin			17	35,61

**Tableau 2-5** : Bilan des tailles moyennes (CCL, en cm) des 997 échantillons collectés entre 2004 et 2007 pour lesquels une mesure de la taille de la carapace a été effectuée.

### ***D. Protocole de prélèvement d'échantillons de chair***

Les prélèvements sont effectués soit par notre équipe réunionnaise, soit par des équipes étrangères partenaires du projet. Le type d'échantillon sélectionné est un morceau de tissu dermique et musculaire. Le protocole de prélèvement est basé sur les techniques décrites par **Dutton (1996)**. Excepté pour les émergentes, il s'agit de prélever à l'aide d'un emporte pièce un morceau de chair cylindre, de 5 mm de diamètre maximum, sur la nageoire postérieure. Sur les juvéniles, le prélèvement s'effectue souvent sur la nageoire antérieure qui est plus épaisse. Les prélèvements sur les femelles en ponte se déroulent au moment du retour à la mer, après la ponte ou la tentative de ponte, afin d'être sûr de ne pas perturber la ponte. Pour les émergentes vivantes, une encoche est réalisée à l'aide d'un emporte-pièce au niveau des écailles marginales. Cette encoche subsiste jusqu'à l'âge adulte, c'est pourquoi elle est faite au niveau de l'écaille marginale correspondant à l'année de naissance. Par exemple, si l'émergente naît en 2004, l'encoche se trouve sur la 4<sup>e</sup> écaille marginale en partant du bas (en général du côté droit). Cette technique de marquage, utilisée par **Hughes en 1972** sur la tortue caouanne, permettra de les identifier ultérieurement. Ces techniques sont conçues pour limiter au maximum la perturbation de l'animal et pour lui infliger le moins possible de douleur. Pour les émergentes mort-nées, on prélève une large part de la nageoire antérieure.

Les échantillons sont ensuite conservés dans des microtubes (de type Eppendorf), contenant généralement une solution de DMSO 20% (DiMethyl SulfOxide) saturée en sel. Les microtubes contiennent parfois une solution d'eau saturée en sel, notamment sur le terrain quand il n'y a pas de DMSO. Certains échantillons ont également été conservés dans de l'éthanol à 70° ou 95°, en fonction des protocoles propres aux équipes partenaires du projet. Les microtubes sont placés au congélateur. Les échantillons peuvent se conserver ainsi plusieurs années.

## II. Les méthodes d'analyse

Les premières études portant sur la structure des populations de tortues, à la fin des années 80 et au début des années 90, se basaient sur l'utilisation de l'électrophorèse des protéines et les RFLP (**Bonhomme et al., 1987 ; Karl et al., 1992**). La première technique consiste à extraire l'ensemble des protéines d'une cellule, puis à les séparer par électrophorèse sur une ou deux dimensions. Cette technique se base donc sur l'observation du phénotype de l'individu (la composition en protéines de ses cellules) comme indice indirect de son génotype, qui peut être totalement inconnu. La seconde technique, appelée RFLP, de l'anglais signifiant 'polymorphisme de longueur de fragments de restriction', consiste à digérer tout ou partie de l'ADN d'une cellule par des enzymes de restriction. Celles-ci coupent au niveau d'un site et d'une façon spécifiques l'ADN. Les fragments, de nombre et de longueur variables selon le génotype de l'individu, sont séparés par l'électrophorèse. Le degré d'homologie entre deux profils électrophorétiques et/ou avec un profil de référence donne une idée de la distance génétique entre ces individus. Elle est toujours largement utilisée, notamment grâce à son coût modéré et à sa facilité de mise en œuvre.

Puis, l'évolution extrêmement rapide des techniques d'analyse génétique, en rapport avec l'augmentation des connaissances sur le génome et son fonctionnement, a permis le développement de nouveaux marqueurs ou de nouvelles techniques plus adaptés à l'étude de la structure des populations. La technique du séquençage consiste à amplifier à l'aide d'une amorce spécifique, une séquence d'ADN cible, dont les caractéristiques sont bien connues, puis de la séquencer. La divergence entre deux séquences mesure la divergence entre les deux individus et donc entre les populations auxquelles ils appartiennent. Il est alors possible d'établir des relations phylétiques. On peut séquencer : les 2 allèles d'un gène nucléaire (ADN diploïde), l'haplotype d'un gène mitochondrial (ADN haploïde), ou une séquence non codante. Les marqueurs les plus utilisés avec cette technique sont l'ADN nucléaire à une seule ou à peu de copies (**Karl & Bowen, 1999**), mais surtout la séquence de la région contrôle (ou boucle D) de l'ADN mitochondrial, qui joue un rôle important lors de la duplication de la mitochondrie (**Bowen et al., 1992 ; Allard et al., 1994 ; Chassin-Noria et al., 1998 ; Formia, 2002 ; Bourjea et al., 2007**). Ce dernier marqueur a été, et est encore, le plus utilisé pour étudier les structures des populations de tortues marines et en particulier celle de la tortue verte. Cependant, ce marqueur ne permet l'étude que des lignées maternelles.

Au cours des dix dernières années, l'essor des marqueurs microsatellites (séquences non-codantes de l'ADN nucléaire présentant des répétitions, d'un nombre variable, d'un motif de quelques nucléotides) a permis d'étudier la structure des populations à une échelle plus fine, et surtout en intégrant également les lignées paternelles (**Chassin-Noria et al., 2004 ; Roberts et al., 2004 ; Dethmers et al. 2006 ; Lee et al., 2007 ; Naro-Maciel et al., 2007**). C'est également le marqueur de prédilection dans les études sur la paternité et les systèmes d'appariement (**Fitsimmons, 1996 ; Parker et al., 1996**). Du fait de la présence de ce motif répété, les loci microsatellites ne sont en général pas séquencés mais génotypés. Il s'agit de déterminer, par électrophorèse sur gel ou à capillaire (de manière automatisée via un génotypeur), la longueur des deux allèles d'un même locus microsatellite présent chez un individu. En effet, le modèle le plus couramment accepté pour les microsatellites prévoit que les mutations au niveau d'un locus microsatellite est le plus souvent le fait du glissement de la polymérase, la différence de taille entre deux allèles est l'indice de la différence du nombre de répétitions et donc de la distance génétique entre les deux allèles.

La confrontation des résultats obtenus sur les mêmes échantillons, mais à partir des marqueurs différents, permet une vision plus complète de la structure des populations étudiées.

Pour toutes ces raisons, nous avons choisi, pour répondre au mieux à nos questions de recherche, d'utiliser deux types de marqueurs : microsatellite et mitochondrial. Nous avons choisi d'étudier la région contrôle de l'ADN mitochondrial car c'est la séquence la plus utilisée chez les tortues marines, et notamment pour la tortue verte. Les études utilisant l'outil microsatellite sur la tortue verte se basent en général sur 2 à 5 loci microsatellites. Nous avons donc utilisé, dans un premier temps, 5 loci microsatellites pour analyser la structure des populations et le facteur paternité. En 2006, suite au faible rendement obtenu sur l'amplification de deux de ces loci et pour améliorer notre pouvoir de discrimination, nous avons décidé d'utiliser un sixième locus.

La quasi-totalité des analyses génétiques (extraction d'ADN, Fluorimètre amplification, électrophorèse, génotypage) a été réalisée au CIRAD Pôle de Protection des Plantes (CIRAD 3P), qui a accepté de collaborer à cette thèse et de nous accueillir dans ses locaux. Une partie des analyses réalisées en 2007 (extraction d'ADN, amplification, électrophorèse) a été effectuée au laboratoire de biologie moléculaire de l'Ifremer Réunion mis en place récemment.

### **A. Extraction de l'ADN**

Le protocole d'extraction choisi provient de **Bourjea et al. (2007)**, adapté de celui de **Fitzsimmons et al. en 1997**.

Un petit morceau de tissu (2 à 8 mm<sup>3</sup>) est prélevé sur l'échantillon, rincé à l'eau osmosée puis découpé finement au scalpel. Il est ensuite placé dans un microtube contenant 500 µL (ou 250 µL) d'une solution à 5% de Chelex (Bio-Rad) et 5 µL (ou 2,5 µL) d'une solution de protéinase K (10mg/mL). Après mélange grâce à un agitateur de type Vortex, le microtube est placé dans un bain-marie à 55°C (température optimale d'action de la protéinase) pendant toute une nuit, en vortexant les microtubes dès que cela est possible. Les microtubes sont ensuite placés dans un bain-marie à 95°C pendant 8 min, puis centrifugés à 13000 tours/min pendant 5 min. On récupère 300 µL (ou 150 µL) de surnageant contenant l'ADN extrait en suspension, auquel on ajoute 3 µL (ou 1,5 µL) de TE 100X pour améliorer la conservation de l'ADN extrait. La concentration d'ADN extrait est mesurée à l'aide d'un fluorimètre (Hoefler Inc.). Pour cela, 3 µL de solution colorante (894 µL d'eau HPLC, 100 µL de buffer TNE 10X et 6 µL de colorant Hoechst) sont mélangés sur parafilm en chambre noire à 3 µL de la solution à mesurer. Les 6 µL de la solution ainsi obtenue sont placés, à l'aide d'un capillaire en verre (9 µL), dans la cuve du fluorimètre. La solution 'zéro' utilisée contient de l'eau osmosée et du TE. La gamme de solutions utilisées pour établir la courbe étalon est constituée de solutions d'ADN de saumon (dans du Tampon AE) de concentrations connues : 5, 10, 25, 50, 100, 125, et éventuellement 250 ng/µL. L'estimation de la concentration d'Adn dans la solution est obtenue en multipliant la valeur mesurée (Densité Optique, DO) par la pente de la courbe étalon (concentration connue x mesure de DO) considérée comme linéaire. Cette estimation de la concentration d'ADN extrait permet d'effectuer des dilutions afin de ramener la concentration d'ADN en solution dans la gamme de concentration optimale pour la PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Les microtubes contenant l'ADN extrait sont stockés au congélateur (-20°C) jusqu'à leur utilisation.

## B. Séquençage de la région contrôle de l'ADN mitochondrial

Afin de pouvoir confronter nos résultats avec ceux de l'étude de **Bourjea et al. (2007)**, nous avons choisi le même couple d'amorces pour l'amplification de la région contrôle de l'ADNmt : TCR-5 et TCR-6 (**Tableau 2-6**). Ces amorces sont aussi celles utilisées dans les études portant sur la région du Sud-Est asiatique, qui est une des régions adjacentes de notre zone d'étude (**Moritz et al., 2002 ; Dethmers et al., 2006**). La séquence obtenue fait environ 384bp. Malgré la présence d'un séquenceur au CIRAD (ABI Prism 3100 Genetic Analyser, Applied Biosystems), l'étape de séquençage proprement dite a été sous-traitée à la société Macrogen (Corée) pour de meilleurs "rendements" financier et logistique, et afin de nous concentrer sur l'optimisation du protocole 'microsatellite'. Cela nous a également permis d'augmenter l'homogénéité des résultats, puisque les protocoles d'analyse de Macrogen sont totalement standardisés et en partie automatisés. Par contre, nous fournissons nous-mêmes les amorces (TCR-5 et TCR-6).

Nom de l'amorce	Séquence	Taille	Température d'hybridation
TCR-5	5' – TTGTACATCTACTTATTTACCAC - 3'	23	55°
TCR-6	5' – CAAGTAAACTACCGTATGCC - 3'	21	

**Tableau 2-6 :** Couple d'amorces utilisé pour l'amplification de la région contrôle de l'ADNmt et la température d'hybridation choisie.

Notre protocole, adapté de celui de **Bourjea al. (2007)**, est proche de ceux utilisés dans d'autres études (**Bowen et al., 1992 ; Allard et al., 1994**). La principale différence réside dans le conditionnement des produits PCR avant leur envoi pour séquençage chez Macrogen. L'utilisation de la polymérase "Advantage 2 PCR Enzyme" (Ozyme), très fidèle, limite les erreurs de réplication. La solution utilisée (préparée en chambre "ADN free") pour la réaction d'amplification (PCR) est constituée de :

- 14 µl d'eau HPLC ;
- 2,5 µl de Tampon du "Advantage 2 Polymerase Mix" (10X) ;
- 0.5 µl de solution "Mix dNTPs" (10mM/50X), contenant les 4 dNTPs à une même concentration ;
- 1.25 µl par amorce (2 amorces à 10µM : TCR-5 et TCR-6) ;
- 0.5 µl de Taq Polymérase "Advantage 2 PCR Enzyme Systems" (50X), à partir de cette étape, on doit travailler sur glace pour limiter les réactions d'amplification parasites ;
- enfin on ajoute (dans la 'salle PCR', sous hotte UV) 5 µl d'ADN extrait dilué à une concentration de 9-10 ng/µL.

La microplaque PCR (96 puits) contenant la solution (25 µL/puits), fermée par un film adhésif aluminium, et placée dans le thermocycleur (ABI 9700, à une ou deux plaques) où elle subit le programme suivant :

- 93°C pendant 1 min ;
- 35 cycles de = 40 s à 93°, 50 s à 55°C, 40 s à 72°C ;
- 72°C pendant 2 min.

L'amplification est ensuite vérifiée par électrophorèse : on fait migrer sur gel d'agarose (SeaKen LE Agarose) 1,5% baignant dans du tampon TAE 1X (Tris., Acétate et EDTA), pendant 1h à 1h30 sous 100 V, 4 µL de la solution obtenue après PCR mélangés sur parafilm à 1 µL de Bleu de charge (Bleu de Bromophénol (BPB) et Xylène Cyanol (XC)). Le marqueur de taille utilisé est un "100 bp DNA Ladder PCR". Le gel est révélé sur plaque UV et après mise au point sur ordinateur, une photographie est conservée dans les archives. On vérifie la présence d'une bande autour 400 bp, et l'intensité relative de la bande (luminosité et superficie) nous sert à estimer la concentration du fragment amplifié dans la solution et donc la quantité totale qui sera transmise à l'entreprise de séquençage. Si l'amplification a réussi, les 21 µL restants de solution sont placés (toujours dans une microplaque) soit dans un lyophilisateur (durée du processus : 24h), soit 12 à 24h dans une étuve à 37°C, soit sous hotte stérile à température ambiante pendant 48h, selon les contraintes logistiques.

La microplaque contenant les produits PCR lyophilisés est envoyée, avec deux microtubes à vis contenant chacun une solution d'amorce à 5 µM, chez Macrogen qui se charge de la purification et du séquençage. Un séquençage est réalisé à partir de chacune des 2 amorces (TCR-5 et TCR-6), il s'agit donc d'un séquençage "*Forward*" et "*Reverse*". Ceci nous permet en assemblant les deux séquences obtenues, de diminuer la probabilité d'erreur due au séquençage. Nous recevons les séquences par mail au bout d'une semaine environ en format 'texte' et 'ab1', ainsi qu'un fichier 'pdf' de la réaction de séquençage afin de pouvoir juger de la qualité de la séquence. Grâce au logiciel DNAMAN, les séquences "*Forward*" et "*Reverse*" sont assemblées (fonction : *Sequence Assembly*), puis les séquences finales sont alignées (*Multiple Sequence Alignment*) avec les séquences de référence afin de déterminer de quel haplotype il s'agit. Si aucune correspondance n'est trouvée, la séquence est confrontée à la banque de données mondiale GenBank, via la fonction BLAST. Eventuellement, si la séquence n'a encore jamais été décrite chez cette espèce, elle est déclarée dans GenBank, grâce à la fonction BankIt.

Au Total, depuis février 2005, 949 échantillons (**Tableau 2-7**) ont été séquencés : 928 provenant de la zone d'étude et 21 de Polynésie française (site témoin). Pour les traitements statistiques, les échantillons ont été classés soit par site d'échantillonnage, soit par 'groupe' en fonction de la problématique abordée. Un groupe est défini selon les critères suivants :

- site d'échantillonnage
- sexe/âge : émergentes, immatures, femelles, mâles
- activité/contexte : ponte, alimentation, émergence, cadavre, "bycatch", élevage
- saison ou année d'échantillonnage

Sites	Total	femelles en ponte	Emergentes mito (1/nid)	Individus en alimentation			Individus morts			Autres
				F	M	I	F	M	I	
TROMELIN	89	81	8							
MOHELI	64	64								
MAYOTTE	220	79	2	38	41	55	5			
GLORIEUSES	47	16				31				
JUAN DE NOVA	34	4	3	1		25				1
EUROPA	151	111				40				
REUNION	68	3	2			2		2	4	55
COSMOLEDO	32	32								
ALDABRA	81	30				51				
TANZANIE	40	12	13		2	2	3		6	2
MADAGASCAR NORD-OUEST	21						5		2	14
MADAGASCAR OUEST	62	1		16	5	31				9
MADAGASCAR SUD-OUEST	6						3	1	2	
NOSSY IRANJA	15	15								
AFRIQUE DU SUD	4					3			1	
POLYNESIE	21									21
<b>TOTAL</b>	<b>955</b>	<b>448</b>	<b>28</b>	<b>55</b>	<b>48</b>	<b>240</b>	<b>16</b>	<b>3</b>	<b>15</b>	<b>102</b>

**Tableau 2-7 :** Tableau récapitulatif des analyses de séquençage de la région contrôle de l'ADNmt réalisées entre février 2005 et juillet 2007.

### C. Génotypage des allèles de 6 loci microsatellites

Nos principaux critères de choix des loci microsatellites sont notamment : polymorphisme chez l'espèce étudiée, abondance d'utilisation dans la bibliographie (confrontation des résultats), et dans la mesure du possible, nous avons donné la priorité à ceux développés chez la tortue verte. Cependant, même si certains auteurs, par souci d'homogénéité maximale, choisissent de n'utiliser que les loci développés sur la tortue verte (**Roberts et al., 2004**), nous avons choisi de privilégier le pouvoir discriminant de nos analyses en utilisant en plus des loci non développés sur l'espèce. Par ailleurs, la grande homologie génétique existant entre les différentes espèces de tortues marines nous garantit de faibles risques de non amplification que pourrait engendrer l'utilisation de loci microsatellites développés sur une autre espèce. Les 6 loci microsatellites que nous avons sélectionné sont :

- Cm3, Cm58, Cm72, et Cm84 = développés sur la tortue verte
- Cc117, et Cc7 (à partir de mars 2006) = développés sur la tortue caouanne ('Cc' pour *Caretta caretta*).

Ces microsatellites ont tous le même motif répétitif : (CA)<sub>n</sub>. Cependant, parmi ces microsatellites : quatre (Cm58, Cm72, Cc117 et Cc7) sont des séquences à répétitions parfaites, c'est-à-dire sans interruption entre les répétitions du motif ; un (Cm3) est une séquence à répétitions composées, avec des séquences adjacentes à motifs différents ; et enfin un (Cm84) contient, en plus de séquences (CA)<sub>n</sub>, des séquences de répétitions à motifs mononucléotidiques.

Ces microsatellites ont été développés par l'équipe de Fitzsimmons, et les couples d'amorces utilisés proviennent des études de **Fitzsimmons et al. (1995)** et **Fitzsimmons (1998)**. Les séquences des 12 amorces sont indiquées dans le **Tableau 2-8**.

Nom de l'amorce	Séquence	Taille	Température d'hybridation
<b>Cm3-F-NED (jaune)</b>	5' – AATACTACCATGAGATGGGATGTG - 3'	24	56°C
<b>Cm3-R</b>	5' - ATTCTTTTCTCCATAAACAAGGCC - 3'	24	
<b>Cm58-F-VIC (vert)</b>	5' – GCCTGCAGTACACTCGGTATTTAT - 3'	24	56°C
<b>Cm58-R</b>	5' – TCAATGAAAGTGACAGGATGTACC - 3'	24	
<b>Cm72-F-6-FAM (bleu)</b>	5' – CTATAAGGAGAAAGCGTTAAGACA - 3'	24	56°C
<b>Cm72-R</b>	5' – CCAAATTAGGATTACACAGCCAAC - 3'	24	
<b>Cm84-F-VIC (vert)</b>	5' – TGTTTTGACATTAGTCCAGGATTG - 3'	24	57°C
<b>Cm84-R</b>	5' – ATTGTTATAGCCTATTGTTTCAGGA - 3'	24	
<b>Cc117-F-PET (rouge)</b>	5' – TCTTTAACGTATCTCCTGTAGCTC - 3'	24	57°C
<b>Cc117-R</b>	5' – CAGTAGTGTCAGTTCATTGTTTCA - 3'	24	
<b>Cc7-F-6-FAM (bleu)</b>	5' - TGCATTGCTTGACCAATTAGTGAG - 3'	24	57°C
<b>Cc7-R</b>	5' - ACATGTATAGTTGAGGAGCAAGTG - 3'	24	

**Tableau 2-8** : Couples d'amorces utilisés pour l'amplification des 6 loci microsatellites choisis et les températures d'hybridation choisies.

Toutes les études portant sur la structure des populations ou sur la paternité chez la tortue verte et utilisant des marqueurs microsatellites se basent sur le polymorphisme de tailles des allèles microsatellites. En effet, du fait même de leur nature, la plupart des auteurs privilégient un modèle de mécanisme de mutation par étapes (SMM) pour les microsatellites, c'est-à-dire par "dérapage" de la polymérase d'un ou plusieurs motifs répétitifs. Dans ce cas, la différence de taille entre 2 allèles est totalement représentative de la distance génétique (hors phénomènes de réversions). Cependant, plusieurs études comme celle de **Roberts et al. (2004)** ont montré que des phénomènes mutationnels de type ponctuel (délétion, insertions, substitutions) pouvaient également avoir lieu dans des séquences microsatellites. Ces résultats nous laissent penser qu'un modèle de mécanisme de mutation mixte serait plus approprié, avec les "dérapages" de la polymérase comme facteur d'évolution majoritaire et des mutations ponctuelles occasionnelles. Dans ce cas, il faudrait séquencer les microsatellites afin d'appréhender la totalité du polymorphisme présent, ce qui représenterait un coût supplémentaire très important compte tenu du très grand nombre d'échantillons analysés. C'est pourquoi, pour rester dans l'enveloppe budgétaire allouée à ce projet, nous avons choisi d'analyser uniquement le polymorphisme de taille des allèles. Malgré le fait que les mutations ponctuelles entraînant un phénomène d'homoplasie sont occasionnelles, leur influence sur nos résultats sera discutée.

Le CIRAD 3P possédant un génotypeur (ABI Prism 3100 Genetic Analyser) à 16 capillaires, nous avons naturellement privilégié cette technique automatisée à la méthode classique d'électrophorèse pour déterminer la taille des allèles microsatellites.

Le protocole d'analyse des microsatellites que nous avons mis au point dans le cadre de cette thèse, se base sur celui de **Moore & Ball (2002)** et sur ceux utilisés par les chercheurs du CIRAD 3P (**Gagnevin & Jouen, comm. pers.**). La première étape a été de déterminer les températures optimales d'hybridation des 6 couples d'amorces dans nos conditions de laboratoires. Pour cela, nous avons effectué des PCR à gradient de température (thermocycleur Eppendorf), où les 12 puits d'une ligne de la microplaque, contenant de l'ADN provenant du même échantillon, subissent le même programme à l'exception de la température d'hybridation. Celle-ci est différente pour chaque puits et va d'un extrême à l'autre de la gamme de température testée. L'électrophorèse des produits de PCR permet de comparer le nombre, la quantité et la qualité des fragments amplifiés. Nous avons pu en conclure que la température optimale d'hybridation des couples d'amorces de Cm3, Cm58, et Cm72 était 56°C, alors que celle de Cc7 est 57°C (**Tableau 2-8**). Cm84 et Cc117 pouvant être amplifiés indifféremment à 56°C ou 57°C, ils ont dans un premier temps été amplifiés à 56°C, par souci d'optimisation des protocoles d'analyses, et à 57°C à partir de mars 2006 avec le marqueur Cc7.

N'ayant que peu de marqueurs (6 loci) et ceux-ci ayant des gammes de tailles relativement différentes, il nous a été possible de 'multiplexer' nos microsatellites pour l'étape de génotypage, c'est-à-dire que les produits de la PCR de chaque microsatellite pour un même individu sont placés dans le même puits du génotypeur. Les allèles des différents microsatellites sont ensuite distingués par la couleur de l'amorce marquée ("5' Fluorescent Labeled Oligo") ou, si deux microsatellites ont des amorces marquées de la même couleur, par leurs différentes gammes de tailles. Ainsi, ayant 6 loci mais seulement 4 couleurs possibles (NED, jaune ; VIC, vert ; 6-FAM, bleu ; et PET, rouge), nous avons dû sélectionner deux couples de microsatellites dont les amorces sont marquées avec la même couleur, mais dont les gammes de tailles sont suffisamment différentes. Nous avons choisi : Cm58 (130 à 148 bp) et Cm84 (325 à 365 bp) avec VIC (vert) ; et Cm72 (237-295 bp) et Cc7 (165-217 ou 238 bp selon les auteurs) avec 6-FAM (bleu). Les pics des 2 derniers microsatellites ont par ailleurs des profils très différents, permettant de les distinguer aisément.

Ensuite, la composition de la solution d'amplification a été mise au point, l'élément ayant posé le plus de problème a été la quantité de solution MgCl<sub>2</sub>. Le produit de la PCR n'étant pas séquencé, nous avons choisi d'utiliser la Taq polymérase "Red Gold Star" (Eurogentec), utilisée par la majorité des chercheurs du CIRAD 3P et ayant un faible coût par réaction. La solution d'amplification mise au point est constituée de :

- 12,45 µL d'eau HPLC ;
- 2.5 µL de solution tampon (10X) spécifique à la polymérase utilisée ;
- 2 µL de solution MgCl<sub>2</sub> (25 mM), spécifique à la polymérase ;
- 0,5 µL de "Mix dNTPs" (10mM/50X) ;
- 1.25 µl par amorce (10µM, une marquée et une non marquée : **Tableau 2-8**) ;
- 0,05 µL de Taq polymérase "Red Gold Star" (5U/µL), travail sur glace à partir de cette étape ;
- 5 µl de solution diluée (9-10 ng/µL) d'ADN extrait.

Pour un même échantillon, l'amplification de chaque séquence microsatellite s'effectue dans un puits différent. Nous avons donc pour 32 échantillons, deux microplaques PCR (96 puits), avec dans chacune d'elles 3 puits pour un même échantillon, contenant chacun l'ADN de cet échantillon et un couple différent d'amorces. La première microplaque, contenant les amorces de Cm3, Cm58 et Cm72, est amplifiée avec une température d'hybridation de 56°C ; et l'autre, avec Cm84, Cc117 et Cc7, à 57°C. Le programme du thermocycleur est :

- 94°C pendant 2 min ;
- 34 cycles de 30 secondes à 94°, 30 secondes à 56°C ou 57°C, 40 secondes à 72°C ;
- 72°C pendant 5 min.

On prélève 1  $\mu\text{L}$  de produit PCR pour chaque microsatellite, que l'on place dans le même puits du génotypeur (multiplexe) contenant 10,7  $\mu\text{L}$  de Formamide (qui stabilise la dénaturation de l'ADN) et 0,3  $\mu\text{L}$  de marqueur de taille (LYS, orange). A l'aide d'un thermocycleur, on chauffe notre mélange à 95°C pendant 5 min, puis on le place tout de suite dans la glace (pendant au moins 10 min) afin de stopper toute renaturation éventuelle de l'ADN. La microplaque est alors centrifugée (1500 tours/min pendant 1 min) afin d'éliminer les éventuelles bulles qui rendraient impossible l'injection de la solution dans le capillaire et donc l'analyse de l'échantillon. Les paramètres de l'analyse sont rentrés dans le génotypeur (ABI Prism 3100 Genetic Analyser, Applied Biosystems), notamment : la gamme de coloration utilisée (G5, car nous avons 4 couleurs en plus de celle du marqueur de taille), le temps d'injection (66 ms ou "3plex", afin d'éviter la compétition des différents microsatellites entre eux), le marqueur de taille utilisé (orange ici). La microplaque munie d'une plaque de septa (entonnoirs en caoutchouc), est placée dans un boîtier spécifique au génotypeur, puis insérée dans le génotypeur. L'analyse s'effectue par "run" de 16 puits, qui dure environ 45 min chacun. Le fonctionnement du génotypeur est basé sur le principe d'une électrophorèse par capillaire, les fragments, migrant par taille, passeront tour à tour devant le laser, où l'amorce contenue dans le fragment dont l'extrémité 5' est marquée va fluorescer de la couleur correspondante et générer ainsi un signal dont l'intensité dépendra de la quantité de fragments passant au même moment. Ce signal, collecté par le logiciel associé au génotypeur (3100 DataCollection 1.1), est traduit graphiquement, via les logiciels GeneScan 3.5 ou de GenMapper 4.0, en pics dont la hauteur et l'aire représentent l'intensité du signal. Grâce au logiciel GeneScan, nous pouvons déterminer la taille approximative (qui sera arrondie par la suite) des 2 allèles de chaque locus microsatellite pour chaque échantillon analysé.

Les échantillons analysés en 2007, provenant d'émergentes pour l'étude de paternité, ont été analysés avec le même génotypeur mais un polymère, et donc un logiciel de gestion, différents. Les échantillons étant tous sur une même microplaque et donc analysés avec le même polymère, il n'y a pas de problème de comparaison entre échantillons, ce qui est essentiel en étude de paternité. Le nouveau logiciel de traitement des résultats est GeneMapper v4.0.

De juin 2005 à janvier 2006, nous avons amplifié et génotypé les allèles de 5 microsatellites (Cm3, Cm58, Cm72, Cm84 et Cc117) de 113 échantillons (tous pour l'étude de la structure des populations). De mars à décembre 2006, nous avons amplifié et génotypé 847 échantillons pour les 6 loci microsatellites : 616 pour l'étude de la structure des populations (dont 132 échantillons provenant de l'étude de **Bourjea et al., 2007**) ; et 231 émergentes pour l'étude de paternité. Enfin en 2007, 190 échantillons (tous provenant d'émergentes) ont été analysés pour les 6 loci, mais avec le nouveau polymère. Le Bilan des analyses effectuées est reporté dans le **Tableau 2-9**. L'impossibilité d'effectuer des analyses (hors paternité) en 2007 a conduit à un nombre d'échantillons analysés plus faible pour les loci microsatellites que pour l'ADNmt.

Afin de tester la répétabilité des analyses microsatellites effectuées nous avons mesuré l'écart moyen entre 2 mesures de la taille des allèles d'un même individu. Si l'on prend l'exemple de Cm3, sur 152 comparaisons (concernant 54 échantillons provenant de 3 sites différents) on obtient un écart moyen de 0,096392 avec un minimum de 0 ; un maximum de 1,29 ; un écart-type de 0,129538 ; et un 3<sup>o</sup> quartile de 0,11. L'erreur moyenne de l'analyse microsatellite est donc très inférieure à 1 bp. On obtient des résultats similaires pour les autres loci. Nous avons donc considéré nos analyses comme répétables. Cependant, par mesure de

sureté un témoin (produits PCR de MOH3) a été ajouté dans chacune des plaques (96 puits, 6 runs) placée dans le génotypeur.

Pour la suite des analyses, nous avons choisi de traiter les résultats provenant de 3 (Cm3, Cm58, et Cc7) ou 4 (avec Cm72) loci microsatellites seulement. Ceci à cause du faible rendement de l'amplification des allèles de Cm84 et de Cc117, générant un important pourcentage de données manquantes qui nuirait inutilement à la qualité des analyses.

Sites	Total	femelles en pont	Emergentes 'mito' (1/nid)	Individus en alimentation			Individus morts			Emergentes (paternité)		Autres
				F	M	I	F	M	I	2006	2007	
TROMELIN	149	81	8							60		
MOHELI	32	32										
	65	65										
MAYOTTE	61	30		6	15	10						
	158	74	2	15	26	35	5					1
GLORIEUSES	86	36	19			31						
JUAN DE NOVA	38	2	18			8				10		
EUROPA	6	6										
	248					39				19	190	
REUNION	14											14
	110	2						1	1	73		33
COSMOLEDO	32	32										
ALDABRA	0											
TANZANIE	40	12	13		2	2	3		6			2
MADAGASCAR NORD-OUEST	21						5		2			14
MADAGASCAR OUEST	0											
MADAGASCAR SUD-OUEST	6						3	1	2			
NOSSY IRANJA	69	14								55		
AFRIQUE DU SUD	1					1						
POLYNESIE	14									14		
<i>Total 'sans Cc7'</i>	<i>113</i>	<i>68</i>		<i>6</i>	<i>15</i>	<i>10</i>						<i>14</i>
<b>TOTAL</b>	<b>1150</b>	<b>386</b>	<b>60</b>	<b>21</b>	<b>43</b>	<b>126</b>	<b>16</b>	<b>2</b>	<b>11</b>	<b>231</b>	<b>190</b>	<b>64</b>

**Tableau 2-9** : Tableau récapitulatif des analyses des loci microsatellites réalisées entre juin 2005 et avril 2007.

Trois types d'analyses sont reportées : celles réalisées avant mars 2006 où Cc7 n'a pas été analysé, noté 'sans Cc7' (en rouge, italique et aligné à gauche) ; celles réalisées entre mars 2006 et décembre 2006 avec les 6 loci ; celles réalisées en 2007 avec le nouveau système de polymère, colonnes '2007' des émergentes de l'étude de la paternité.

## ***D. Traitement et analyses statistiques***

### **1. Les statistiques descriptives**

La première étape des analyses est celle des statistiques descriptives : fréquences haplotypiques et alléliques, proportion d'hétérozygotie, AFC. Pour cela, nous avons utilisés les logiciels Excel (fréquences), Genetix 4.05.2 (**Belkhir et al., 1996**), ou Arlequin 3.1 (**Excoffier et al., 1998**) en fonction du calcul et du logiciel utilisé pour l'étape suivante. Selon les analyses 3 ou 4 loci microsatellites ont été pris en compte, dans tous les cas les individus présentant des données manquantes ont été retirés du jeu de données.

Excel est le logiciel de base. Il nous a servi pour les calculs de fréquences haplotypique, les moyennes, les figures descriptives (histogrammes, secteurs), mais aussi pour la construction de la matrice 'mito-µsat'. Cette matrice comporte en colonnes l'ensemble des allèles existant pour un même locus et en lignes les individus qui sont classés selon l'haplotype présent chez l'individu ou le clade auquel cet haplotype appartient. Dans un deuxième temps, la distribution des fréquences alléliques, selon l'haplotype et/ou le clade d'haplotypes, est analysée à l'aide d'autres logiciels.

L'étude de la richesse mitochondriale a été effectuée grâce à l'analyse du ratio nombre d'haplotype/effectif (logiciel Excel). En raison de la forte hétérogénéité d'effectif des groupes analysés, la richesse allélique par locus ( $R_s$ ) de chaque groupe a été calculée à l'aide du logiciel FSTAT, utilisant une méthode de raréfaction (**Petit et al., 1998**) avec  $N$  égal à l'effectif du plus petit groupe analysé.

Le matrice entrante de Genetix comporte X lignes (nombre d'échantillons, groupés en populations) et Y colonnes (le nombre de loci plus un). Pour chaque locus et chaque individu, le génotype est présenté sous forme d'un code à 6 chiffres. Genetix en extraira les noms des 2 allèles lors des traitements. Pour l'ADNmt, chaque haplotype est désigné par un code à 3 chiffres (001, 020), répété. La différence de tailles entre deux allèles n'est pas prise en compte dans le traitement des données.

A partir de cette matrice, Genetix calcule les fréquences alléliques, et les taux d'hétérozygotie observés et attendus. Des traitements de type AFC (analyse factorielle des correspondances) peuvent être réalisés, soit classiques (en 2 ou 3 dimensions) où tous les individus sont actifs, soit des AFC dites 'sur populations' où chaque individu est comparé à l'individu moyen (barycentre) de chaque population. Ce deuxième type d'AFC permet de mieux différencier les populations quand le nombre d'individus est important et que les nuages se chevauchent, ce qui est le cas ici. Cependant, compte tenu de la particularité de ce type d'AFC, il faut rester prudent dans l'interprétation des résultats.

Enfin, Genetix peut construire des fichiers entrants pour d'autres logiciels, comme Phylip 3.6, qui ont servi à la suite des analyses. Genetix permet également de construire une matrice des distances génétiques entre populations (2 à 2), sur données réelles ou sur permutations, à partir d'un des 4 estimateurs de la distance génétique disponibles (**Nei, 1972**, Nei 1978, Nei minimum distance et **Cavalli-Sforza & Edwards, 1967**). Nous avons utilisé le logiciel Phylip pour cette étape des analyses.

Le logiciel Arlequin 3.1 a permis la construction de la matrice des distances génétiques (en nombre de mutations ponctuelles) entre les différents haplotypes mis en évidence. Le fichier entrant d'un projet dans le logiciel Arlequin est donné sous forme d'un squelette d'algorithme dont on peut modifier les différents modules. Ainsi, la liste des haplotypes, leur nom puis leur

séquence (sans espace), a directement été intégré au programme. Arlequin a permis de générer, à partir de cette matrice, la structure d'un réseau ("*minimum spanning network*") à l'aide de la fonction "NEXUS *Treefile*" du logiciel. Ce réseau est visualisé et mis en forme à l'aide du logiciel TCS. Il s'agit d'une représentation de la structure génétique existant entre les différents haplotypes. Mais, au lieu d'être représentée sous forme d'un arbre, où l'extrémité de chaque branche ne porte qu'un seul et unique haplotype, celle-ci est représentée sous forme d'un réseau, où chaque haplotype peut être reliés à plusieurs autres. La ligne reliant deux haplotypes est constituée d'une alternance de traits et de ronds, chaque trait représente une mutation ponctuelle. Ainsi, deux haplotypes distant par une substitution seront reliés par un unique trait, alors qu'un haplotype présentant une insertion de 4 nucléotides sera relié à l'autre par une ligne interrompue de 3 ronds, soit 4 traits. Le réseau semble être la représentation la mieux adaptée pour identifier rapidement des motifs dans la structure des haplotypes.

Les données microsatellites ont permis la construction d'un objet *genind* du logiciel R, regroupant les génotypes de tous les individus étudiés. Pour chaque individu et chaque locus microsatellite les tailles des deux allèles sont codées de manière qualitative sur forme de 6 caractères, et chaque individu est assigné à une population. Dans le cas de cette analyse, les individus sont regroupés en fonction de l'haplotype mitochondrial dont ils sont porteurs. A partir de cet objet, une Analyse en Composantes Principales (ACP) centrée non normée est réalisée, toujours à l'aide du logiciel R. Ce dernier transforme les données qualitatives de taille d'allèle en données quantitatives : chaque allèle de chaque locus est une variable, dont la valeur pour un individu donné est 0 s'il ne possède pas l'allèle ; 0,5 s'il possède l'allèle mais est hétérozygote pour ce locus ; et enfin 1 s'il est homozygote.

Le même principe a été utilisé afin de construire les histogrammes représentant, pour un locus donné, la fréquence de chaque allèle dans les différentes populations étudiées. Là encore, les populations étudiées sont constituées de l'ensemble des individus porteurs d'un haplotype donné.

## 2. Statistiques inférentielles

Dans un premier temps, il a fallu tester la validité des données, c'est-à-dire tester l'adéquation du jeu de données avec l'équilibre d'Hardy-Weinberg et de chercher à identifier la présence d'allèles nuls. Dans le premier cas, nous avons utilisé le logiciel Genetix. Dans le deuxième cas, nous avons utilisé un logiciel spécifique : Micro-Checker 2.2.3. A partir de la matrice de données individus par allèles observés à chaque locus, Micro-Checker étudie l'écart entre hétérozygotie observée et attendue à l'aide de quatre modèles différents (**Brookfield, 1996**). Le diagnostic de Micro-Checker nous permet de savoir les risques d'avoir des allèles nuls dans nos données, et éventuellement d'estimer pour un locus donné les fréquences alléliques corrigées. Cependant, par souci d'homogénéité, ces fréquences n'ont pas été prises en compte dans les calculs de  $F_{st}$ , ni dans la construction des arbres phylogénétiques.

Le temps de divergence entre 2 séquences a été estimé en se basant sur les informations suivantes : le taux de mutation de la région contrôle de l'ADNmt, estimé entre 0,012 et 0,024 substitution par site par million d'années (**Encalada et al., 1996**) ; le nombre total de sites (nucléotides), qui est 390 dans notre cas ; et enfin le nombre de différences entre les 2 séquences considérées. En ce qui concerne le temps de divergence entre 2 clades, c'est le temps de divergence entre les haplotypes centraux des clades (C3, CM8, et A2) qui a été estimé.

Afin de chercher à différencier des populations dans notre jeu de données, les valeurs du coefficient de différenciation ( $F_{st}$ ) ont été calculées pour les différents groupes (2 à 2) grâce au logiciel Genetix. La fonction de Genetix utilisée est ‘Theta par paires / permutations’, qui a permis de tester la significativité des valeurs de  $F_{st}$  observée à l’aide d’un ensemble de permutations (500 permutations). Trois estimateurs des  $F_{st}$  sont disponibles dans Genetix : Weir & Cockerham, Robertson & Hill (RH), et RH corrigé par Raufaste & Bonhomme. Le premier a été utilisé pour les données mitochondriales, et le deuxième pour les données microsatellites pour lesquelles il est mieux adapté. Le troisième estimateur n’a pas été utilisé car il n’est pas adapté aux données et donne donc des résultats aberrants (valeurs de  $F_{st} > 1$ ). Suivant la problématique étudiée (différenciation par rapport au site, à la saison, au sexe/âge) les groupes testés n’étaient pas les mêmes.

Lors de l’analyse des données mitochondriales, nous avons construit des structures des populations potentielles pour la zone d’étude à partir de la configuration de la zone d’étude ou des résultats des tests 2 à 2 réalisés sur l’indice  $F_{st}$ . Afin de tester la validité de ces structures vis-à-vis des nos données, des analyses de type AMOVA ont été réalisées à l’aide du logiciel Arlequin 3.1. Dans ce manuscrit, nous ne présentons que les résultats des AMOVA réalisées à partir des différences 2 à 2 sans correction gamma. Cependant des AMOVA basées sur les valeurs estimées de l’indice  $F_{st}$  ou sur le modèle de Kimura à 2 paramètres sans correction gamma (utilisé par **Formia, 2002**) ont également été réalisées et donnent des résultats similaires.

A partir du fichier entrant Phylip, réalisé avec Genetix, des arbres phylogénétiques des différents groupes ont été construits. Tout d’abord, la fonction *seqboot* de Phylip 3.6 a permis de générer des bootstrap (1000 répétitions) à partir des données de fréquences haplotypiques ou alléliques. Puis, la fonction *gendist* a permis de calculer les distances génétiques entre les groupes pour chaque répétition. La fonction *neighbor* a construit la structure des arbres, et enfin, la fonction *consense* a synthétisé les résultats en un seul arbre ‘consensus’. La règle choisie est celle de la majorité stricte (“*majority rule*”), c’est-à-dire que seuls les nœuds présentant une valeur de bootstrap supérieure à 50% (donc 500 ici) ont été conservés. Pour chaque jeu de données, les 3 estimateurs de la distance génétique ont été utilisés (**Nei, 1972 ; Cavalli-Sforza & Edwards, 1967 ; et Renolds, Weir & Cockerham, 1983**), les 3 arbres ainsi générés ont été comparés et discutés. Les arbres phylogénétiques ont été visualisés à l’aide du logiciel TreeView 1.6.6.

### ***E. Traitements spécifiques des données pour l’étude de la paternité***

Le traitement des échantillons d’émergentes destinées à l’étude de paternité a été effectué à l’aide du logiciel Gerud 2.0. (**Jones, 2005**) qui est l’outil le mieux adapté dans le cas où le génotype des deux parents est inconnu comme c’est le cas pour cette étude. En effet, à l’exception des sites comme Nosy Iranja et la Réunion où il y a une surveillance permanente des sites de ponte, il est impossible d’être présent à la fois au moment de la ponte et de l’émergence. Le génotype de la mère est donc inconnu dans la majorité des cas. Le stockage de sperme et la promiscuité existant chez cette espèce rendent par ailleurs impossible l’identification, et a fortiori l’échantillonnage du père. Gerud 2.0 nous permet de calculer les probabilités d’exclusions, d’identifier les allèles maternels et paternels, d’estimer le nombre minimal de pères pouvant expliquer la situation observée.

Les données analysées n’ayant pas permis de répondre à la question posée, cette partie de l’étude devra faire l’objet d’une étude complémentaire. Cependant, les résultats préliminaires obtenus sont présentés et discutés dans le chapitre 4.





## *Chapitre 3 : Caractérisation des populations*



# Chapitre 3 : Caractérisation des populations

## I. Présentation générale des données génétiques

L'objectif de cette section est d'une part de présenter les jeux de données mitochondriales et microsatellites qui serviront par la suite aux traitements statistiques et, d'autre part, d'étudier la diversité génétique globale de la région. Cette section nous donne également l'occasion de discuter de certains aspects des méthodes d'analyse utilisées.

### A. Haplotypes de la région contrôle de l'ADNmt

Au total 949 échantillons ont été analysés dans le cadre de cette thèse, 928 proviennent de la zone d'étude et 21 du site témoin. Pour 920 d'entre eux (903 et 17 respectivement) nous avons pu déterminer avec certitude la séquence de la région contrôle de l'ADN mitochondrial et ainsi mettre en évidence la présence d'au moins 29 haplotypes (383 à 390 bp) différents dans le sud-ouest de l'océan Indien et 5 (377 à 384 bp) en Polynésie française, dont un commun avec ceux de la zone d'étude (**Tableau 3-1**). Les séquences complètes de ces 33 haplotypes sont présentées en **Annexe 2**.

On remarque que l'haplotype IND2 décrit par **Formia (2002)** aux Comores est identique à D2 dans leur partie commune (384 bp). Cependant, Formia n'ayant pas utilisé les mêmes amorces, sa séquence est plus longue (487 bp), et il nous est donc impossible de conclure avec certitude qu'il s'agit bien du même haplotype. Le même problème se pose pour 6 autres haplotypes (**Tableau 3-1**), mais comme ces derniers n'ont pas d'homologue de même longueur dans GenBank, nous considérons qu'il s'agit des mêmes haplotypes.

Sur les 29 haplotypes présents, 7 avaient déjà été décrits dans la zone (**Figure 3-1**) :

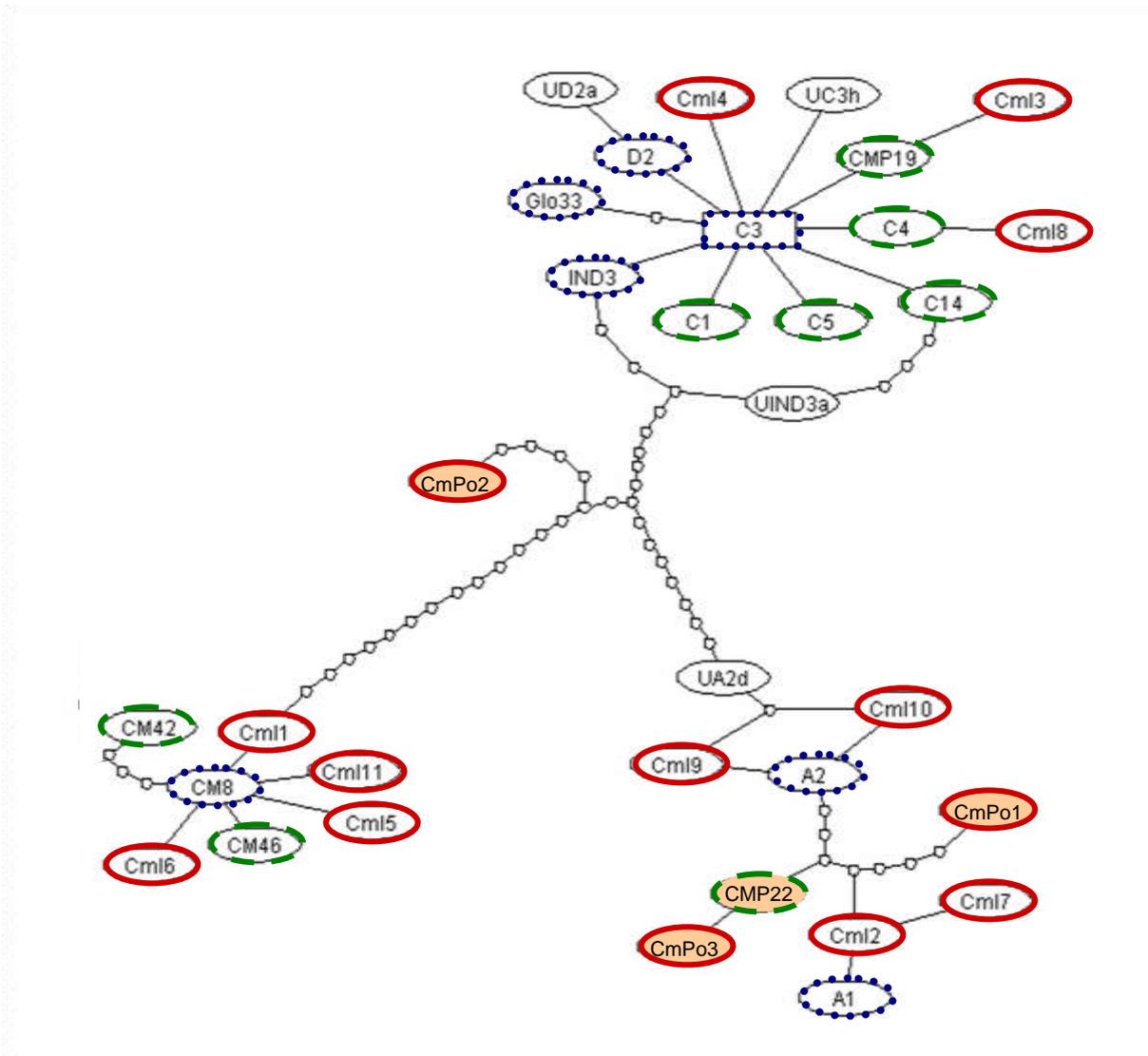
- 4 sont des haplotypes communs dans la région de l'Indo-Pacifique et notamment dans le Sud-Est asiatique et l'Australie : C3, A2 (les 2 plus répandus), A1, et D2 (**Moritz et al., 2002**).
- 2 n'ont été décrits que dans la zone d'étude : IND3 (**Formia, 2002**) et glo33 (**Bourjea et al., 2007**).
- 1 est l'haplotype le plus commun de la moitié sud de l'Atlantique et avait été décrit pour la première fois dans l'Indo-Pacifique par **Bourjea et al. (2007)**.

Pour 7 haplotypes parmi les 29 mis en évidence, il s'agit de la première description dans notre zone d'étude, bien qu'ils aient été précédemment décrits dans d'autres régions du monde (**Figure 3-1**) :

- 4 sont communs au Sud-Est asiatique : C4, C5 et C14 ; et à l'Australie : C1 (**Moritz et al., 2002** ; **Dethmers et al., 2006**). C1 est l'haplotype le plus répandu dans le nord et l'ouest de l'Australie.
- 1 a été décrit initialement dans l'est et le centre du Pacifique : CMP19 (**Dutton, unpublished data**).
- 2 ont été décrits pour la première fois en Atlantique Sud : CM42 et CM46 (**Formia, 2002**).

Nom de l'haplotype	Taille (en bp)	Taille GenBank	Nom GenBank	Accession number	Auteurs et date de soumission à Genbank
A1	383	383	A1	AY955215	Dethmers et al. 2005
A2	384	384	A2	AY955219	Dethmers et al. 2005
C3	384	384	C3	AY955204	Dethmers et al. 2005
CM8	385	486	CM8	Z50130	Encalada 1995
		482	CM23	AF366252	Bjorndal & Bolten 2001
		486	CM37	AY044850	Formia & Bruford 2001
D2	384	487	IND2	AF529029	Formia & Bruford 2002
		384	D2	AY955205	Dethmers et al. 2005
IND3	384	487	IND3	AF529030	Formia & Bruford 2002
glo33	384	384	glo33	DQ256086	Bourjea et al. 2005
C4	384	384	C4	AY955207	Dethmers et al. 2005
CMP19	384	406	CMP19	AY540067	Dutton 2004
C1	384	384	C1	AY955201	Dethmers et al. 2005
C5	384	384	C5	AY955209	Dethmers et al. 2005
C14	384	384	C14	AY955206	Dethmers et al. 2005
CM42	390	490	CM42	AF529023	Formia & Bruford 2002
CM46	385	486	CM46	AF529027	Formia & Bruford 2002
CmI1	385	385	CmI1	EF031142	Taquet et al. 2006
CmI2	384	384	CmI2	EF160098	Taquet et al. 2006
CmI3	384	384	CmI3	EF555558	Taquet et al. 2007
CmI4	384	384	CmI4	EF555557	Taquet et al. 2007
CmI5	385	385	CmI5	EF555559	Taquet et al. 2007
CmI6	385	385	CmI6	EF555560	Taquet et al. 2007
CmI7	384	384	CmI7	EF555561	Taquet et al. 2007
CmI8	384	384	CmI8	EF555562	Taquet et al. 2007
CmI9	384	384	CmI9	EF555563	Taquet et al. 2007
CmI10	384	384	CmI10	EU022756	Taquet et al. 2007
CmI11	385	385	CmI11	EU022757	Taquet et al. 2007
UC3h	384	/	/	/	/
UD2a	384	/	/	/	/
UIND3a	384	/	/	/	/
UA2d	384	/	/	/	/
CMP22	384	406	CMP22	AY540070	Dutton 2004
CmPo1	384	384	CmPo1	EF555564	Taquet et al. 2007
CmPo2	384	384	CmPo2	EF555565	Taquet et al. 2007
CmPo3	377	377	CmPo3	EF555566	Taquet et al. 2007

**Tableau 3-1** : Liste et taille des séquences de la région contrôle de l'ADNmt mises en évidence par séquençage et références des haplotypes correspondant dans GenBank.



-  : Haplotype précédemment décrit dans le sud-ouest de l’océan Indien
-  : Haplotype jamais décrit dans le sud-ouest de l’océan Indien
-  : Haplotype jamais décrit chez la tortue verte (‘nouvel haplotype’)
-  : Haplotype potentiellement ‘nouveau’, mais présent que chez un seul individu
-  : Haplotype spécifique aux échantillons de Polynésie française

**Figure 3-1:** Réseau (“minimum spanning network”) représentant les différences existant entre les séquences des 33 haplotypes (région contrôle de l’ADNmt de tortues vertes) présents dans le sud-ouest de l’océan Indien et sur le site témoin en Polynésie française.

Enfin, 15 des haplotypes que nous avons séquencés ne correspondent à aucun haplotype de la banque de données mondiale GenBank. Sur ces 15 haplotypes, 11 sont présents sur plus d'un individu ou ont été séquencés une deuxième fois (toujours dans les 2 sens) pour confirmation, il s'agit donc bien d'haplotypes de tortues vertes n'ayant jamais été décrits précédemment. Ces 11 'nouveaux' haplotypes ont donc été déclarés dans GenBank, sous les appellations CmI1 à CmI11 (C pour *Chelonia* - m pour *mydas* – I pour Indien – numéro de l'haplotype). Toutefois, ces haplotypes ne dérivent pas tous du même haplotype (**Figure 3-1**) :

- CmI4 dérive certainement de l'haplotype C3, par 1 transversion.
- CmI3 diffère de CMP19 par 1 nucléotide, donc de C3 par 2 nucléotides (transversions).
- CmI2 dérive de A1 par 1 réversion de type addition et CmI7 dérive de CmI2 par 1 transversion.
- CmI9 et CmI10 diffèrent de A2 chacun par 1 nucléotide (transversion).
- CmI8 diffère de C4 par un nucléotide (transversion).
- CmI1, CmI5, CmI6 et CmI11 dérivent de CM8 chacun par une transversion.

Les 4 derniers haplotypes n'ont été mis en évidence que chez un seul individu et n'ont pas encore fait l'objet d'un deuxième séquençage, nous les avons donc considérés comme de potentiels nouveaux haplotypes. Ils n'ont pas été déclarés à GenBank et sont désignés dans ce manuscrit par 'UXy', nomenclature signifiant U pour unique, X le nom de l'haplotype dont il est dérivé et y lettre le différenciant des autres issus du même haplotype. Ce qui nous donne (**Figure 3-1**) :

- UC3h, dérivé de C3 par 1 transversion.
- UD2a dérive de D2 ou de IND2 par 1 transversion.
- UIND3a, dérivé de IND3 par 4 transversions.
- UA2d dérive de A2 par 3 transversions.

Sur les 5 haplotypes présents dans notre échantillon de Polynésie française, seul A2 est commun avec les 29 haplotypes de notre zone d'étude. Les autres se répartissent ainsi (**Figure 3-1**) :

- CMP22, décrit précédemment par **Dutton (2004, unpublished data)** dans le Pacifique Central et Est.
- CmPo1 dérive de A7 par 4 substitutions et n'avait encore jamais été décrit.
- CmPo2, dérivé de C12 par 2 substitutions, et jamais décrit auparavant.
- CmPo3, jamais décrit auparavant, dérive de CMP22 par une délétion.

La **Figure 3-1** est une représentation en réseau ("*minimum spanning network*") des liens existant entre les 33 haplotypes de cette étude en termes de distance génétique, exprimée en nombre de nucléotides divergents. Si l'on considère uniquement les 29 haplotypes mis en évidence dans notre zone d'étude, on constate que ceux-ci peuvent être regroupés en 3 ensembles ("*clades*") bien différenciés. Dans chaque clade, il y a un ou deux haplotypes centraux, dont dérivent les autres haplotypes. Par souci de simplicité les clades portent le nom de l'haplotype central (ou central majoritaire), ainsi nous avons :

- le clade 'C3', regroupant 15 haplotypes : C3, D2, IND3, glo33, C4, CMP19, C1, C5, C14, CmI3, CmI4, CmI8, UC3h, UD2a, et UIND3a.
- le clade 'CM8' qui regroupe 7 haplotypes : CM8, CM42, CM46, CmI1, CmI5, CmI6, et CmI11.
- le clade 'A2' qui regroupe 7 haplotypes : A2, CmI9, CmI10, et UA2d d'une part ; et d'autre part A1, CmI2 et CmI7.

Les clades 'C3' et 'CM8' ont une configuration nettement 'radiale' : un haplotype central ; une première couronne d'haplotypes qui dérivent directement de l'haplotype central ; et une seconde couronne d'haplotypes dérivant des haplotypes précédents

Bien que la configuration du clade 'A2' ne semble pas radiale en première approche, si l'on considère non plus un mais deux haplotypes centraux (A2 et Cm12), on s'aperçoit qu'elle s'apparente finalement aussi à une structure radiale mais à 2 centres. Les haplotypes centraux C3 et A2 sont les haplotypes majoritaires de l'ensemble de la région du Sud-Est asiatique et de l'Australie, tandis que CM8 est l'haplotype le plus répandu dans la moitié sud de l'océan Atlantique. Les clades 'C3' et 'A2' sont donc composés (hors nouveaux haplotypes) d'haplotypes typiques de la région Indo-Pacifique, alors que le clade 'CM8' est lui typique de l'océan Atlantique.

Le clade 'C3' est séparé des clades 'A2' et 'CM8' par respectivement 15 et 22 nucléotides divergents. Les clades 'A2' et 'CM8' diffèrent par 22 nucléotides. Si on considère un taux de mutation de la région contrôle de l'ADNmt compris entre 0,012 et 0,024 substitution par site par million d'années (**Encalada et al., 1996**), cela donne des temps de divergence des clades de : 2,4 à 4,8 millions d'années entre le clade 'CM8' et chacun des 2 autres clades ; et de 1,6 à 3,2 millions entre les clades 'C3' et 'A2'.

## ***B. Allèles de 6 loci microsatellites***

Sur les graphiques obtenus par le génotypeur, les différents loci microsatellites se distinguent, outre par leur couleur de marquage et leur gamme de taille, par la forme et la hauteur des pics observés :

- Cm58 = pic unique (pas de forme sinusoïdale), hauteur des pics (intensité du signal) relativement importante et pic étroit (forme en aiguille).
- Cm84 = pic unique, hauteur relativement faible, forme conique (base large).
- Cm3 = le plus souvent pic unique et parfois forme sinusoïdale (période 2 nucléotides) croissante, le plus haut étant toujours le dernier. Hauteur très élevée, et pics assez étroits (forme en aiguille).
- Cm72 = forme sinusoïdale (2 nucléotides de période) croissante, avec parfois les deux derniers pics possédant des hauteurs proches (rarement, l'avant-dernier pic est le plus haut). La hauteur des pics est relativement faible.
- Cc7 = en général pic unique (parfois forme sinusoïdale similaire à Cm3), hauteur très élevée, pic relativement étroit.
- Cc117 = pic unique ou un pic à 2 têtes bien distinctes, hauteur très faible, présence d'un pic artéfact à 208-209 nucléotides.

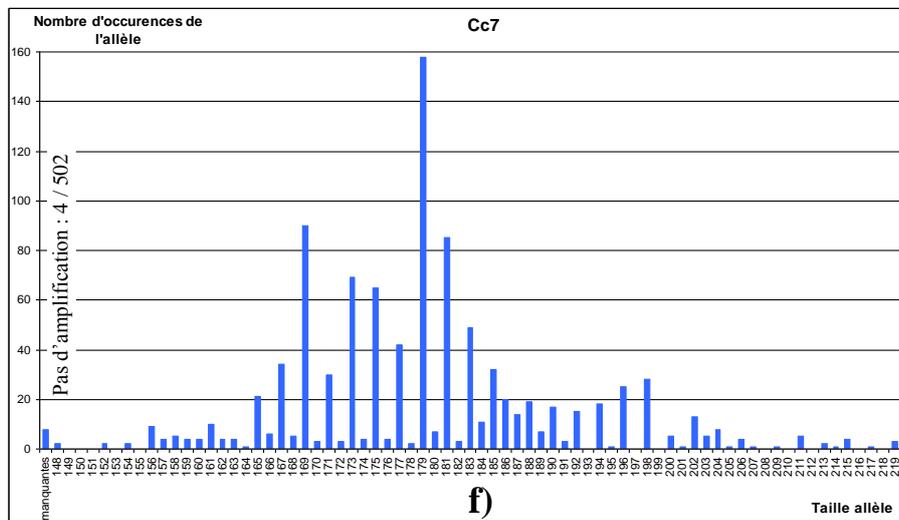
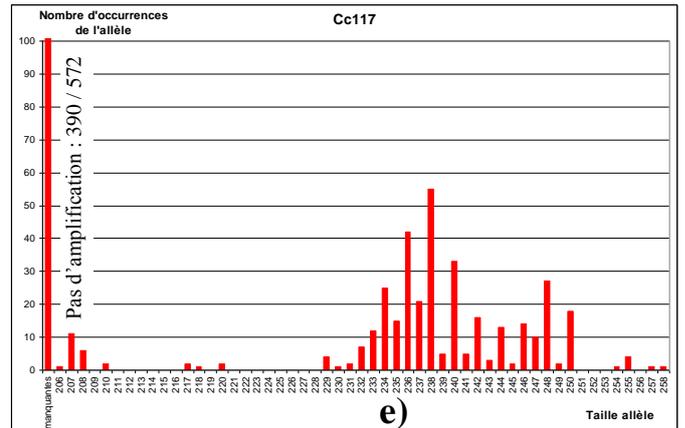
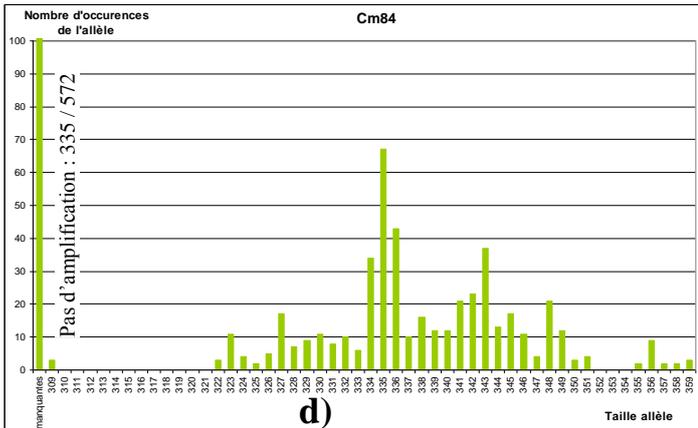
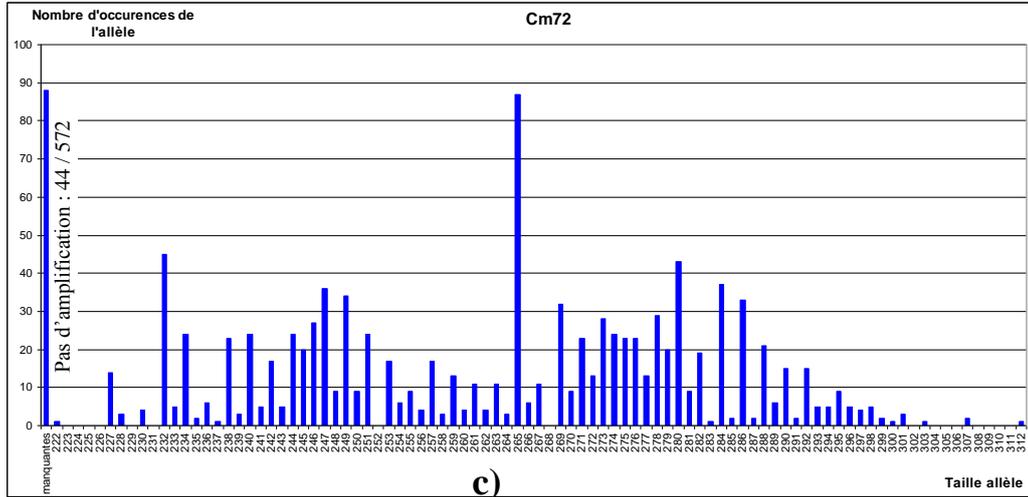
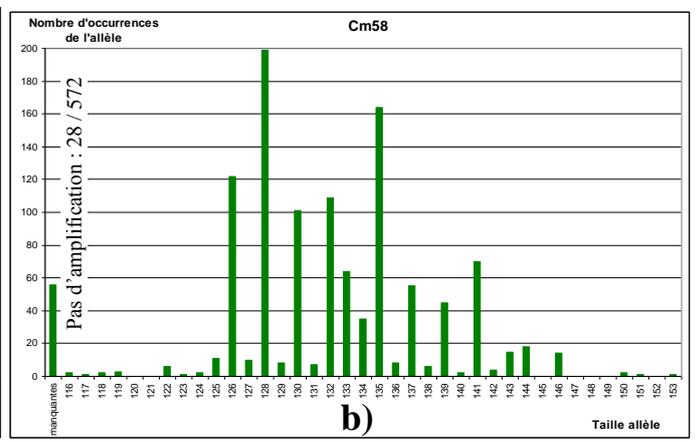
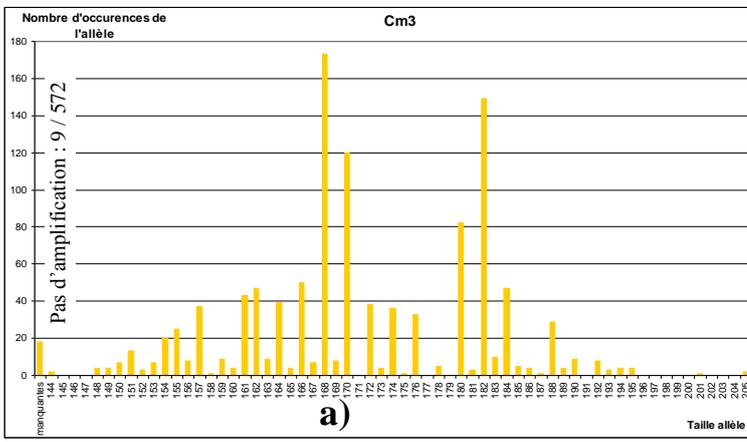
Concernant la période de juin 2005 à mars 2006, nous avons pu déterminer avec certitude la taille des 2 allèles d'au moins 2 microsatellites (sur les 5 amplifiés) pour 75 des 114 échantillons analysés, c'est-à-dire pour 66% des échantillons analysés. En 2006, 512 des 628 échantillons analysés (soit 81%) présentaient des pics identifiables (génotypeur) pour au moins 2 loci microsatellites sur les 6 analysés. Les résultats obtenus sur des échantillons pour lesquels un seul microsatellite a été amplifié avec succès ont été jugés peu fiables et n'ont donc pas été pris en compte dans le pool global de données microsatellites. Quinze autres échantillons ont été retirés du tableau de données pour divers motifs (2 échantillons d'un même nid, échantillon de tortue imbriquée). Ainsi, notre pool de données microsatellites comprend au total 572 échantillons pour les loci Cm3, Cm58, Cm72, Cm84 et Cc117 ; et 502 pour Cc7.

Les 6 loci microsatellites utilisés sont tous polymorphes dans notre pool d'échantillons. La répartition par tailles des allèles de chaque microsatellite est reportée sur la **Figure 3-2**. Tous les loci présentent à la fois des allèles de tailles impaires et paires, bien que tous soient caractérisés par la répétition, plus ou moins parfaite, d'un motif dinucléotidique (CA). Pour certains loci les allèles impairs (Cc7) ou pairs (Cm3 et Cc117) sont plus fréquents que les allèles respectivement pairs et impairs. Alors que pour Cm58 par exemple : les petits allèles les plus fréquents sont pairs et se répartissent autour de l'allèle 128 ; alors que les grands allèles sont plutôt impairs et répartis autour de l'allèle 135.

Dans l'ensemble, le nombre d'allèles par locus est important (entre 31 et 75 allèles). Étonnamment, le plus faible nombre d'allèles n'est pas celui des deux loci ayant des taux de réussite très faibles, mais celui de Cm58. Pour Cm3, Cm58, Cm84 et Cc117, les distributions par tailles des allèles sont globalement de type bimodal, avec 2 modes pas forcément d'égale importance, centrés chacun autour d'un allèle majoritaire. Pour Cm72 et Cc7, il y a un allèle nettement majoritaire sans mode bien défini, puis deux modes centrés sur des allèles moins courants (**Tableau 3-2**). Les loci microsatellites peuvent être classés en deux catégories selon leur taux de réussite lors de l'analyse :

- haut rendement (plus de 90% de réussite) = Cm3, Cm58, Cm72 et Cc7.
- mauvais rendement (moins de 45% de réussite) = Cm84 et Cc117.

Ce taux variable de données manquantes a conduit à faire des choix dans les loci utilisés pour chaque type d'analyse statistique. Bien qu'il ait été analysé chez un nombre inférieur d'échantillons, le locus Cc7 a toujours été pris en compte dans les analyses du fait de son fort taux de réussite (99,2%). C'est pourquoi, la majorité des traitements statistiques a été réalisée sur le jeu de données construit en 2006 (502 individus), en ne prenant pas en compte les résultats obtenus sur Cm84 et Cc117, et en retirant les individus présentant des données manquantes. Dans les cas où chaque locus a été analysé séparément (étude de la zone de contact notamment), les 6 loci ont pu être traités en prenant en compte le nombre de données manquantes.



**Figure 3-2 :** Distribution, selon leur taille, des allèles présents dans l'ensemble des échantillons analysés (sud-ouest de l'océan Indien) pour chaque locus microsatellite étudié : a) Cm3 ; b) Cm58 ; c) Cm72 ; d) Cm84 ; e) Cc117 ; f) Cc7.

	Cm3	Cm58	Cm72	Cm84	Cc117	Cc7						
<b>Nombre total d'allèles</b>	47	31	75	36	33	59						
<b>Allèle de taille minimale</b>	144	116	215	309	206	148						
<b>Allèle de taille maximale</b>	205	153	312	359	258	219						
<b>Amplitude de la gamme de tailles</b>	62	38	98	51	53	72						
<b>Type de distribution</b>	bimodal		bimodal		1 allèle majoritaire + 2 petits modes		bimodal (un plus important)		bimodal (un plus important)		tri-modal (un mode majoritaire)	
<b>1<sup>er</sup> Allèle majoritaire</b>	168	30%	128	35%	265	15%	335	11%	238	10%	179	31%
<b>2<sup>e</sup> Allèle majoritaire</b>	182	26%	135	29%	232	8%	343	6%	248	5%	169	18%
<b>3<sup>e</sup> Allèle majoritaire</b>					280	8%					198	6%
<b>Taux de réussite</b>	98,4 %		95,1 %		92,3 %		41,4 %		31,8 %		99,2 %	

**Tableau 3-2** : Bilan de la répartition par taille des allèles pour chaque locus microsatellite.

Un allèle “majoritaire” est défini comme l’allèle le plus couramment rencontré pour l’ensemble de ce locus ou dans un mode. Le pourcentage qui lui est associé représente le nombre de fois que l’on rencontrerait cet allèle dans un lot de 100 individus hétérozygotes. Le taux de réussite est le pourcentage d’individus pour lesquels, la taille des allèles a pu être déterminée avec succès.

L’hétérozygotie moyenne observée dans l’ensemble des d’échantillons étudiés pour les 4 loci à haut rendement (Cm3, Cm58, Cm72, et Cc7) est de 0,8679 (écart-type : 0,0336). Elle est inférieure à la valeur attendue de 0,9361 (écart-type : 0,0307).

### ***C. Discussion sur les méthodes d’analyses génétiques***

Environ 21% des échantillons analysés ne présentent sur les graphiques du génotypeur, soit aucun pic (outre ceux des amorces), soit des pics difficilement identifiables correspondant à un seul microsatellite. Ce taux relativement important d’échec de l’amplification des loci microsatellites peut s’expliquer en partie par le mode de conservation des échantillons. En effet, une grande partie des échantillons pour lesquels l’amplification a échoué, avaient été conservés dans une solution hyper-salée. Bien que la concentration d’ADN extrait ne soit pas plus faible, on constate (de façon empirique) que la couleur de l’extrait est plus jaune pour ces échantillons, laissant supposer une moindre qualité de l’ADN. Ceci est confirmé par la présence dans certains cas de pics parasites, indiquant une dégradation de l’ADN. Bien que **Dutton (1996)** présente la solution “eau saturée en sel (NaCl) contenant 20% de DMSO”, comme étant la plus adaptée à la conservation à long terme d’échantillons de tissu, il considère néanmoins que les solutions hyper-salées ou les solutions d’EDTA sont également efficaces. C’est la raison pour laquelle, nous avons choisi d’utiliser les solutions hyper-salées pour une grande partie des missions terrain réalisées dans le cadre de cette étude. Il apparaît donc peu probable que l’utilisation de solutions hyper-salées soit la cause directe des échecs d’amplification.

Par contre, **Dutton (1996)** précise que quelle que soit la solution utilisée, l'échantillon doit être conservé au congélateur (à -80°C ou à -20°C). Or les échantillons concernés font partie de ceux ayant séjourné, un laps de temps plus ou moins long, hors de tout système de refroidissement. Il semble donc que le stockage au congélateur des échantillons de tissu soit primordial pour leur conservation et à plus fortes raisons s'ils ont été placés dans une solution hyper-salée.

L'utilisation d'éthanol, pourtant très efficace pour d'autres espèces vivantes comme l'espadon (**Jean et al., 2006**), donne également de moins bons résultats que la solution de DMSO. De plus, lors de la phase d'extraction de l'ADN, lorsque l'échantillon est sorti de son microtube, la très rapide évaporation de l'éthanol assèche l'échantillon, ralentissant la pénétration de la protéinase K dans les cellules.

Le fait que pour près de 97% des échantillons analysés, l'haplotype de la région contrôle de l'ADNmt ait pu être identifié, semble indiquer que ce marqueur est plus robuste que les marqueurs microsatellites et serait donc moins sensible au mode de conservation de l'échantillon.

Indépendamment de ceci, on constate que les taux de réussite de l'amplification de Cm84 et Cc117 sont beaucoup plus faibles que ceux des 4 autres microsatellites (**Tableau 3-2**). Ces deux loci ont pourtant été utilisés avec succès dans de nombreuses études précédentes (**Fitzsimmons et al., 1995 ; Fitzsimmons, 1996 ; Fitzsimmons et al., 1997 b ; Fitzsimmons, 1998 ; Roberts et al., 2004 ; Lee et al., 2007**). Un certain nombre de facteurs expérimentaux ont été envisagés afin de déterminer la cause de ce faible rendement, parmi lesquels la concentration d'ADN, la concentration de MgCl<sub>2</sub>, la température d'hybridation choisie, et le temps d'injection au niveau du génotypeur. Aucun de ces facteurs ne permet d'expliquer ces résultats. Les tests réalisés avec des amorces non marquées (lecture via électrophorèse) ont permis une bonne amplification de Cm84 et Cc117. Il est donc possible que les couples d'amorces 'marquée/non marquée' de ces deux microsatellites ne soient pas optimaux. Cependant, ces tests ont été réalisés sur un très faible nombre d'échantillons, il est donc impossible de conclure. L'équipe de **Fitzsimmons (comm. pers.)** a récemment développé une nouvelle amorce "*Forward*" pour Cm84, le nouveau couple d'amorces ainsi constitué permet l'amplification d'une séquence plus restreinte (autour de 200 bp au lieu de 340) mais contenant toujours la zone de répétition parfaite de Cm84 : (CA)<sub>15</sub>. Ce nouveau couple d'amorces a été utilisé avec succès dans l'étude de **Lee et al. (2007)**. Il serait intéressant de tester ce couple dans une prochaine étude car il pourrait avoir un meilleur rendement au niveau des analyses.

Les forts rendements obtenus avec les 4 autres loci montrent que le protocole d'analyse microsatellite mis au point dans cette étude est totalement opérationnel. Par ailleurs, les études portant sur la structure des populations de tortues vertes se basent sur un nombre relativement faible de loci microsatellites (3 : **Chassin-Noria et al., 2004** ; 4 : **Fitzsimmons et al., 1997 b ; Roberts et al., 2004** ; 5 : **Fitzsimmons et al., 1995 ; Lee et al., 2007** ; ou 7 : **Naro-Maciel et al., 2007**). Il en est de même dans l'étude de la paternité (2 : **Ireland et al., 2003** ; ou 5 : **Fitzsimmons, 1996 ; Fitzsimmons, 1998**). Le nombre de loci utilisés dans cette étude correspond donc à ce qui est classiquement utilisé pour cette espèce. Les loci ayant fourni le plus de données sont Cc7, Cm3, Cm58, ainsi que Cm72. Ce sont aussi les plus utilisés chez la tortue verte, ils apparaissent respectivement dans 5 (études récentes), 9 (toutes les études), 8, et 7 études. Cm58 notamment est tout à fait adapté à l'étude de la structure des populations, tout d'abord, du fait de son nombre d'allèles à la fois suffisant pour différencier les individus, mais aussi par sa distribution bimodale. D'autre part, la netteté des pics sur les graphiques du génotypeur en fait un marqueur d'une grande fiabilité.

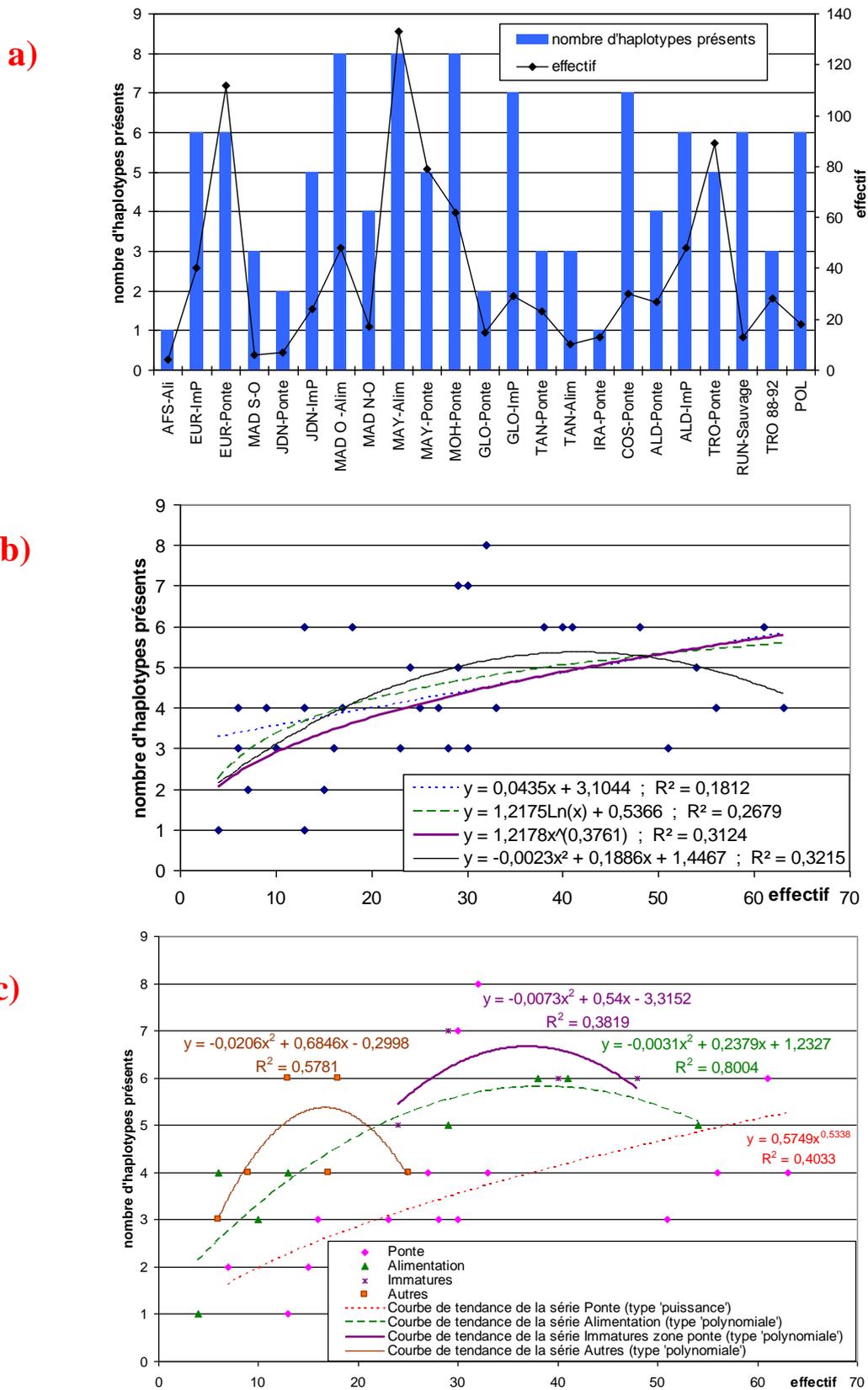
Le profil de la distribution des allèles de Cm58 est en accord avec le modèle de mutation des microsatellites à 2 phases. En effet, un premier mode est constitué d'allèles pairs (avec quelques allèles impairs minoritaires) distribués de façon normale autour de l'allèle majoritaire 128 ; tandis qu'un deuxième mode d'allèles impairs s'articule autour de l'allèle 135. On pourrait éventuellement considérer un troisième mode autour de l'allèle 141. Ceci nous laisse penser qu'un événement majeur rare (comme une recombinaison non homologue) aurait conduit à la création de l'allèle 128 à partir de l'allèle 135, ou inversement. A partir de ces 2 allèles germes, les autres allèles se seraient formés par dérapage de la polymérase (événement plus fréquent). Les profils de Cc7 et dans une moindre mesure de Cm72 sont eux aussi en accord avec ce modèle. Ces résultats sont cohérents avec les conclusions de **Roberts et al. (2004)**.

L'alternance d'allèles impairs  $2n+1$  (respectivement pairs  $2n$ ) courants et d'allèles très minoritaires pairs  $2n+2$  (respectivement impairs  $2n+1$ ) indique un manque de précision dans la détermination de la longueur des allèles au niveau du génotypeur, une erreur 'd'arrondi'. Celle-ci est inévitable à moins de modifier a posteriori la longueur des allèles afin d'obtenir une distribution 'lissée'. Des insertions ou des délétions dans les zones flanquantes du microsatellite peut être responsable du décalage d'une paire de bases observé. Seul le séquençage permettrait d'identifier si la différence de taille observée est due au polymorphisme du microsatellite ou de la zone flanquante.

Le nombre d'allèles mis en évidence pour chaque locus est supérieur à ceux obtenus lors de précédentes études : 18-27 pour Cm3, autour de 10 pour Cm58, 25-53 pour Cm72, 19-42 pour Cm84, 13-20 pour Cc117, et 20-33 pour Cc7 (**Fitzsimmons et al., 1995 ; Fitzsimmons, 1996 ; Fitzsimmons et al., 1997b ; Fitzsimmons, 1998 ; Ireland et al., 2003 ; Chassin-Noria et al., 2004 ; Roberts et al., 2004**). Ceci pourrait s'expliquer par le nombre d'échantillons analysés dans cette étude, qui est très supérieur aux effectifs des études précédentes.

L'étude de **Roberts et al. (2004)** démontre l'existence de phénomènes d'homoplasie chez la tortue verte. En effet, le séquençage de certains allèles a permis de mettre en évidence des mutations ponctuelles, majoritairement des substitutions, générant plusieurs allèles de même taille, mais de séquences différentes. Pour des raisons financières et logistiques évidentes, il est impossible pour des études avec de forts effectifs, d'effectuer un séquençage systématique des 2 allèles de chaque locus de l'ensemble des individus (soit plus de 6000 réactions de séquençage dans le cas de notre étude). Par conséquent, tout en ayant conscience de l'existence de ce phénomène chez l'espèce étudiée, la présente étude se base uniquement sur l'analyse de la taille des allèles (génotypage).

Le manque d'hétérozygotie observé pour tous les loci microsatellites sur l'ensemble de l'effectif étudié peut s'expliquer par un écart à l'équilibre d'Hardy-Weinberg, d'autant plus que certaines conditions comme l'absence de mutation ne sont pas respectées a priori. Il est tout aussi probable que ce manque global d'hétérozygotie soit la conséquence d'un effet Wahlund, c'est-à-dire que l'effectif étudié soit la réunion d'un ensemble de populations locales qui elles pourraient vérifier l'équilibre d'Hardy-Weinberg. C'est l'étude de la structure des populations à l'intérieur de l'effectif qui nous permettra éventuellement de trancher. Une autre hypothèse serait la présence d'allèles nuls, c'est-à-dire d'allèles présents mais non détectés par l'analyse (**Dakin & Avise, 2004**), ceux-ci pouvant avoir des origines diverses (**Fitzsimmons, 1996 ; Brookfield, 1996**). Le diagnostic du logiciel Micro-Checker montre que quel que soit le modèle choisi et pour les 4 loci microsatellites testés, la présence d'allèles nuls est détectée, en plus du fait que l'effectif étudié ne vérifie pas l'équilibre d'Hardy-Weinberg.



**Figure 3-4 : Etude empirique de la richesse haplotypique des groupes étudiés.**

**a) Pour chaque groupe étudié : effectif (courbe) et nombre d'haplotypes présents (histogramme).**

**b) En abscisse l'effectif du groupe et en ordonné le nombre d'haplotype présents.**

Plusieurs modèles de corrélation (courbes de tendance) sont testés.

**c) En abscisse l'effectif du groupe et en ordonné le nombre d'haplotype présents.** Les groupes sont regroupés en 4 nuages selon l'activité des individus qui le composent (ponte, alimentation). Une courbe de tendance (ayant le meilleur coefficient de détermination) est appliquée à chaque nuage.

## II. Diversité génétique : le SWIO, une zone riche ?

Les objectifs de cette section sont d'étudier la diversité génétique d'une part au niveau global, c'est-à-dire à l'échelle régionale et, d'autre part, de mettre en évidence d'éventuelles différences entre les divers sites de la zone d'étude.

### A. Richesse et diversité haplotypiques

#### 1. Aspect quantitatif, la richesse haplotypique

La richesse haplotypique a été abordée de manière empirique en mettant en relation le nombre d'haplotypes présents dans un groupe et l'effectif de celui-ci (**Figure 3-3**). La première chose que l'on remarque, c'est la grande disparité existant entre les groupes (**Figure 3-3 a**). En effet, il est difficile de trouver un lien de corrélation entre ces deux variables (effectif et richesse) qui permette d'expliquer de manière satisfaisante la situation observée (**Figure 3-4 ; Figure 3-3 b**). Par contre, si les groupes sont constitués par activité (ponte, alimentation, immatures zone ponte), on remarque alors qu'à effectif équivalent, le nombre d'haplotypes présents dans un groupe de tortues en alimentation (alimentation ou immatures zone ponte) est presque toujours supérieur à celui des groupes de tortues en phase de ponte (**Figure 3-3 c**). Seuls deux groupes sont véritablement atypiques : les tortues en ponte à Cosmolédo et celles en ponte à Mohéli en hiver. Ces deux groupes présentent plus d'haplotypes que ce à quoi on s'attendrait au vu de leurs effectifs. Les groupes de la catégorie 'autres' présentent eux aussi un nombre plus important d'haplotypes à effectif égal. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'ils sont constitués de différentes catégories d'individus, ce qui augmente artificiellement le nombre d'haplotypes.

#### 2. Diversité haplotypique

La composition haplotypique de chaque groupe étudié est présentée dans le **Tableau 3-3** et représentée de manière visuelle sur une carte dans la **Figure 3-4**. La liste des échantillons analysés (spécifiant son haplotype, quand celui-ci a pu être mis en évidence) se trouve en **Annexe 3**. Si l'on considère l'ensemble de la zone d'étude, un haplotype est largement majoritaire : C3 (typique du Sud-Est asiatique et de l'Australie), présent chez près de 60% des individus échantillonnés. Le deuxième haplotype le plus répandu est CM8 (typique de l'Atlantique Sud) couvrant plus de 20% des échantillons. Avec A2 (typique de l'Australie), ces 3 haplotypes représentent près de 90% des individus. Les 10% restant se répartissant entre 26 haplotypes minoritaires, dont 15 d'entre eux n'ont été mis en évidence que chez un seul individu. Ces haplotypes minoritaires constituent la plus grande partie de la richesse haplotypique de la région.

Les haplotypes appartenant au clade 'CM8', considérés comme étant 'typiques' de la région Atlantique, représentent 23% de l'effectif étudié, contre 77% pour les clades 'C3' et 'A2'. Cela signifie que près d'un quart des individus de la zone possèdent un ancêtre (lignées maternelles) originaire de l'Atlantique. Sur les 7 haplotypes qui composent le clade 'CM8', 6 (les dérivés de CM8) n'ont été détectés que dans la zone du sud du canal Mozambique, où par ailleurs CM8 est l'haplotype le plus répandu (près de 60% des individus échantillonnés). CM8 quant à lui remonte jusqu'aux Seychelles. Cet haplotype est également présent à la Réunion.

Total	Site	C3	D2	IND3	Glo33	Cml4	C4	CMP19	C1	C5	C14	Cml8	Cml3	A1	Cml7	Cml2	A2	Cml9	Cml10	CM8	CM42	CM46	Cml1	Cml5	Cml6	Cml11	UC3h	UD2a	UIND3a	UA2d	CMP22	CmPo1	CmPo2	CmPo3
<b>Afrique du Sud</b>																																		
4	en alimentation																			4														
<b>Europa</b>																																		
111	Total en ponte	11																		93	1		4	1	1									
40	Immatures	12		1			1										3			22		1												
<b>Juan de Nova</b>																																		
7	en ponte	4																		3														
24	Immatures	8		2					1						2	1				12														
<b>Madagascar</b>																																		
6	Sud-Ouest (morts)	2					1													3														
48	Total Alim Ouest	29		2	1												1			11						2	1		1					
9	Ouest Bycatch	6													1		1			1														
1	Ouest en ponte	1																																
17	Nord-Ouest (morts)	12	1	1													3																	
13	Iranja (en ponte)	13																																
<b>Mayotte</b>																																		
79	Total en ponte	58	1	7													6			7														
133	Total Alimentation	85	4	8										1	3	13				18							1							
5	Femelles mortes	4															1																	
<b>Mohéli</b>																																		
62	Total en ponte	44	1	5	1						1					2	2			6														
<b>Glorieuses</b>																																		
15	en ponte	14															1																	
29	Immatures	15	1				1								1	7	1			3														
2	Mâles morts	2																																
<b>Cosmolédo</b>																																		
30	en ponte	16		1		1							1			1	8			2														
<b>Aldabra</b>																																		
27	en ponte	17		1													7			2														
48	Immatures	38		1													5	1	2											1				
<b>Tanzanie</b>																																		
23	en ponte	20		2						1																								
10	Total Alimentation	8	1														1																	
4	Autres	4																																
<b>Tromelin</b>																																		
89	Total ponte	71						2							1	3	12																	
28	nées en 88-92	21												1			6																	
<b>Réunion</b>																																		
13	Sauvage	4			1		3					1					1			3														
25	Kélonia	16						1									4			4														
<b>902</b>	<b>TOTAL SWIO</b>	<b>535</b>	<b>9</b>	<b>31</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>6</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>12</b>	<b>82</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>194</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

Nombre total d'individus présentant un haplotype du clade C3	Nombre total clade A2	Nombre total clade CM8	haplotypes non confirmés
593	101	204	4

Nombre total d'individus présentant un haplotype de type 'Indo-Pacifique'	Nombre total type 'Atlantique'	haplotypes spécifiques Polynésie française
694	204	16

Polynésie française																																					
17	Immatures																1																	3	3	8	2
<b>919</b>	<b>TOTAL</b>	<b>535</b>	<b>9</b>	<b>31</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>6</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>12</b>	<b>83</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>194</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>8</b>	<b>2</b>			

**Tableau 3-3 :** Composition haplotypique des différents sites étudiés. Une distinction a été faite entre les différentes catégories d'individus : femelles en phase de ponte (noté 'en ponte'), individus en alimentation, immatures sur zone de ponte (noté 'immatures'), et divers autres types d'échantillons. Le ou les haplotypes dominants de chaque groupe ont été surlignés. L'effectif de chaque groupe est reporté dans la première colonne.

A l'exception de C4, les haplotypes du clade 'C3' nouvellement décrits dans la région (C1, C5, C14, CMP19) n'ont été détectés que dans un seul site et à de très faibles effectifs pour chaque haplotype (1 ou 2 individus). Il en va de même pour les nouveaux haplotypes appartenant à ce clade, c'est-à-dire CmI3, CmI4 et CmI8. C4 quant à lui compte 6 exemplaires présents dans l'effectif analysé. Malgré cela, il est le 6<sup>ème</sup> haplotype de la région en effectif. La moitié des individus porteurs de C4 proviennent de la Réunion, mais un individu aux Glorieuses, un à Europa et un dans la région de Tuléar (sud-ouest de Madagascar) ont aussi été détectés. Si, à la Réunion, il s'agissait d'individus adultes (1 mâle de 105,5 cm CCL et 2 femelles en ponte), dans les autres sites en revanche tous étaient des individus immatures (respectivement 42 cm, 39 cm, et 78 cm CCL). Les haplotypes D2 et IND3 sont largement répandus dans la région, bien qu'ils ne se rencontrent jamais dans de fortes proportions, contrairement à glo33 qui, avec un effectif plus faible encore, a été détecté dans 3 sites distincts.

Bien qu'il ne représente que 9% de l'effectif total, A2 est très largement répandu dans la région et représente plus d'un quart des individus des Seychelles (individus en ponte) et des Glorieuses (immatures). Seuls 2 exemplaires de l'haplotype A1 sont présents dans l'effectif analysé, dont un provenant d'un individu né à Tromelin et élevé en captivité. Cet haplotype avait pourtant déjà été décrit dans la région et l'on pouvait s'attendre à le trouver dans des proportions plus importantes étant donné le nombre élevé d'échantillons collectés au cours de la présente étude. A l'inverse, et bien que n'ayant jamais été décrit par le passé, CmI2 est le 5<sup>ème</sup> haplotype de la zone en terme d'abondance avec 12 exemplaires, répartis dans divers sites de la région.

Des 29 haplotypes détectés dans le sud-ouest de l'océan Indien, seul A2 est également présent dans les échantillons de Polynésie française, et en un seul exemplaire. Parmi les 4 autres haplotypes, un seul avait déjà été décrit chez la tortue verte : CMP22, et dans une zone comprenant la Polynésie française (centre et est de l'océan Pacifique). Avec 8 exemplaires (47% des échantillons), CmPo2 (dérivant de C12) est l'haplotype majoritaire de cette zone témoin.

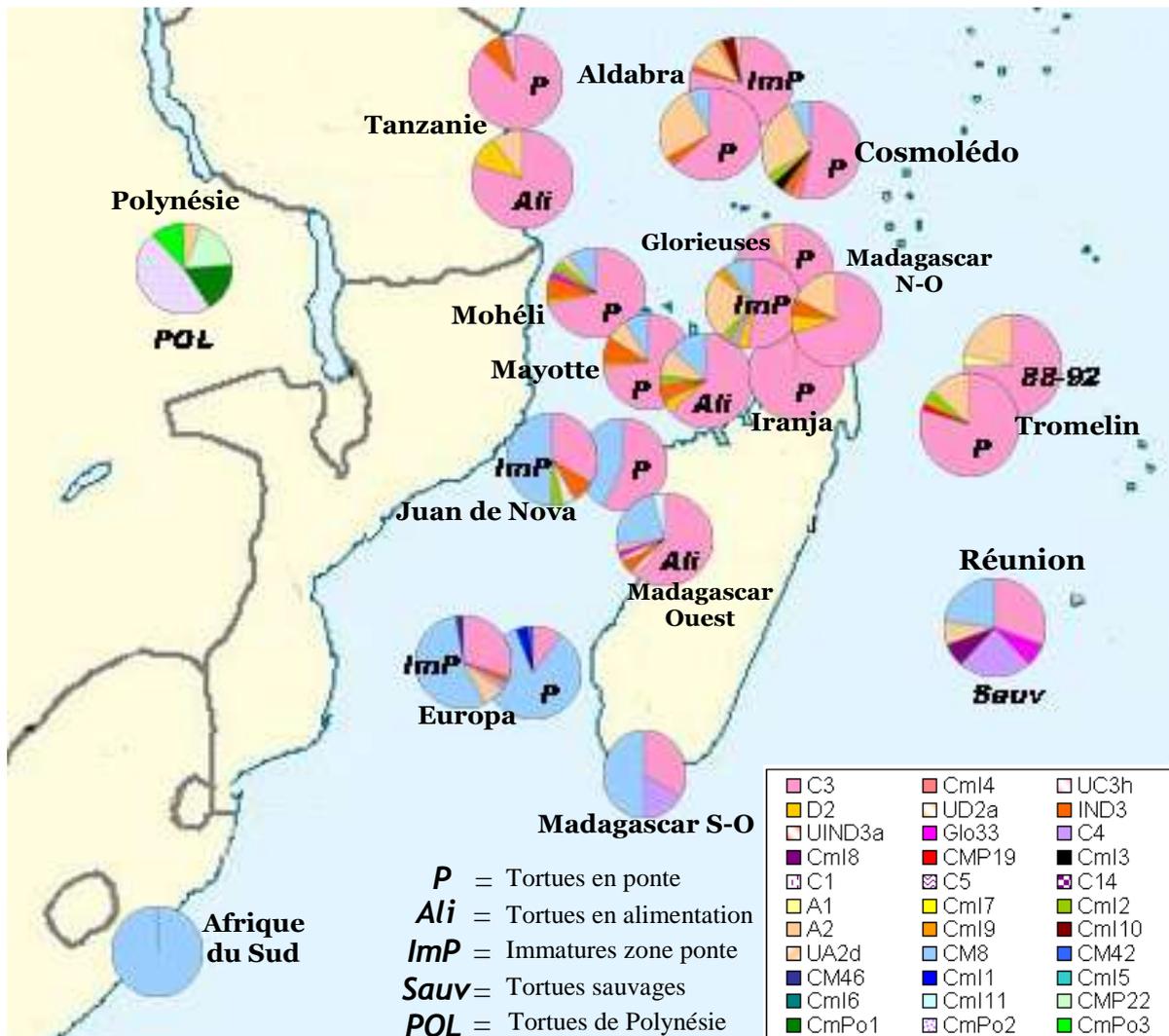
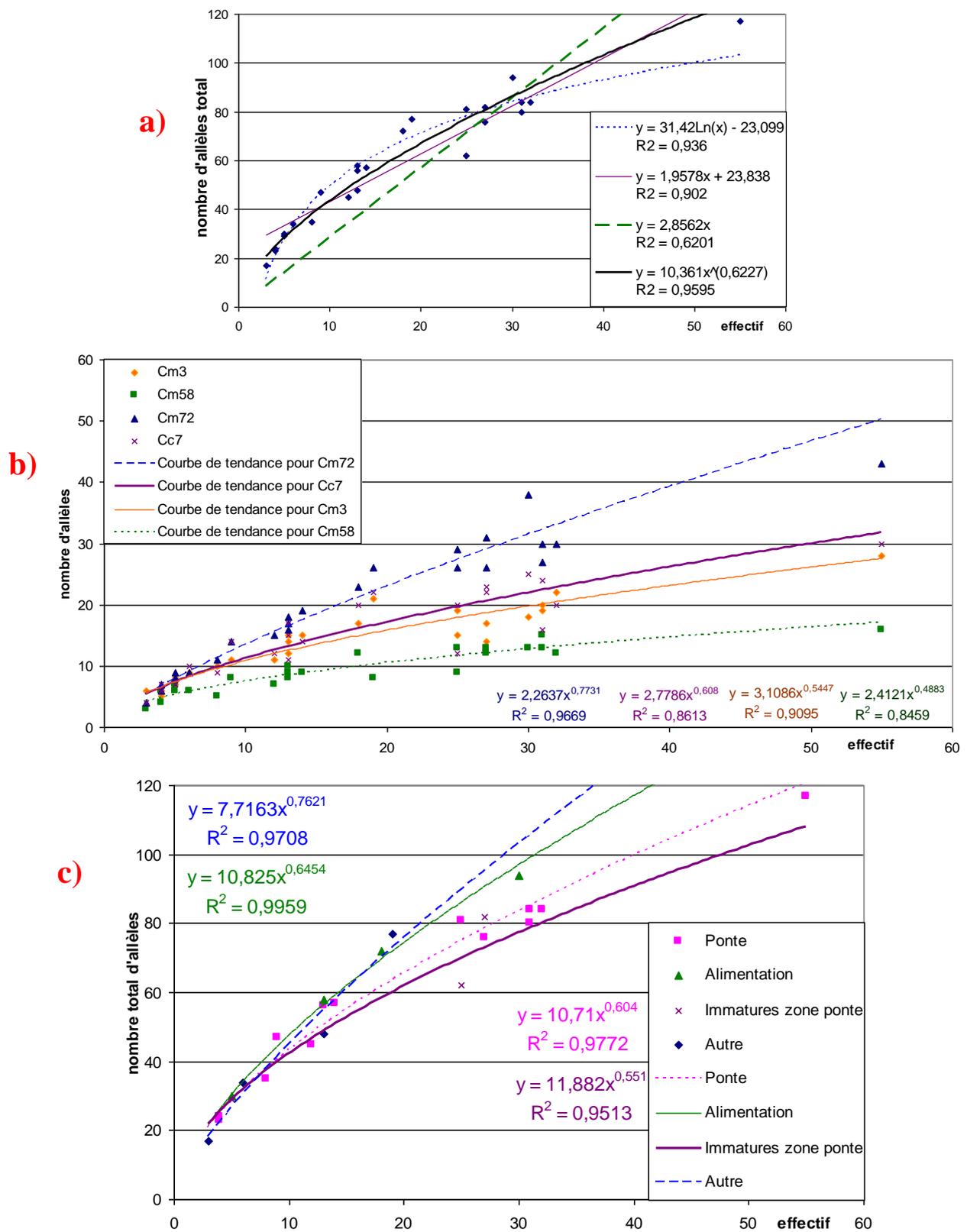


Figure 3-4 : Carte présentant la composition haplotypique des 23 groupes étudiés.

## B. Richesse et diversité alléliques

### 1. Richesse allélique

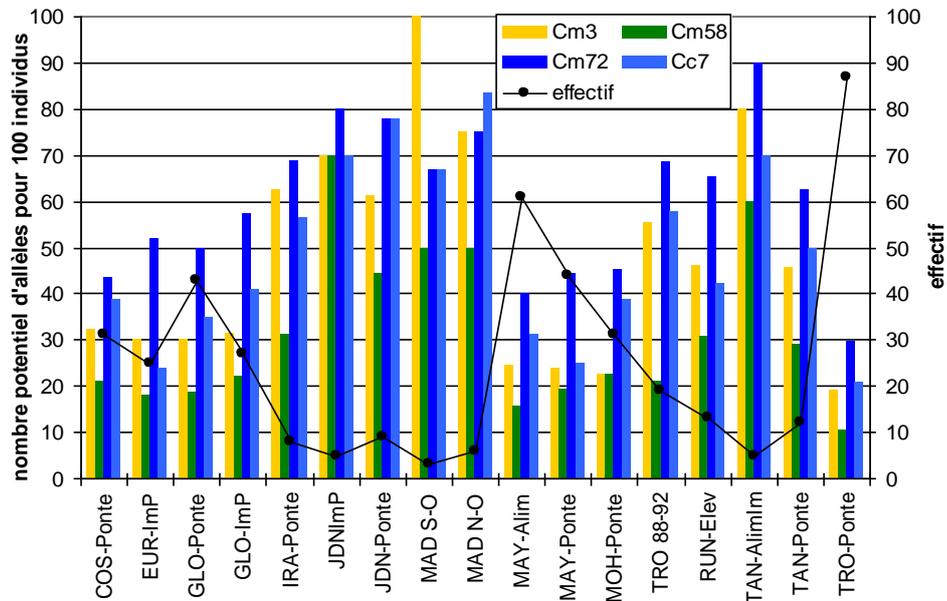
Deux éléments viennent à l'esprit lorsque l'on étudie la richesse allélique des différents sites de la région pour les 4 loci Cm3, Cm58, Cm72 et Cc7, que ce soit de manière empirique (corrélation effectif/nombre d'allèles), ou par le biais d'une estimation statistique (**Figure 3-5** ; **Figure 3-6** ; **Figure 3-7**). Le premier est l'importance des valeurs observées. En effet, non seulement la richesse allélique globale est très importante avec respectivement 47, 31, 75, et 59 allèles ; mais en plus, chaque groupe étudié présente un grand nombre d'allèles différents. Le nombre moyen d'allèles pour 100 individus (**Figure 3-5**) est de 47,6 allèles pour Cm3, 31,4 pour Cm58, 59,8 pour Cm72, et de 48,7 pour Cc7. De même, la valeur moyenne de l'indice de richesse allélique (**Figure 3-6**) est respectivement de 5,076 4,747 5,639 et 5,210.



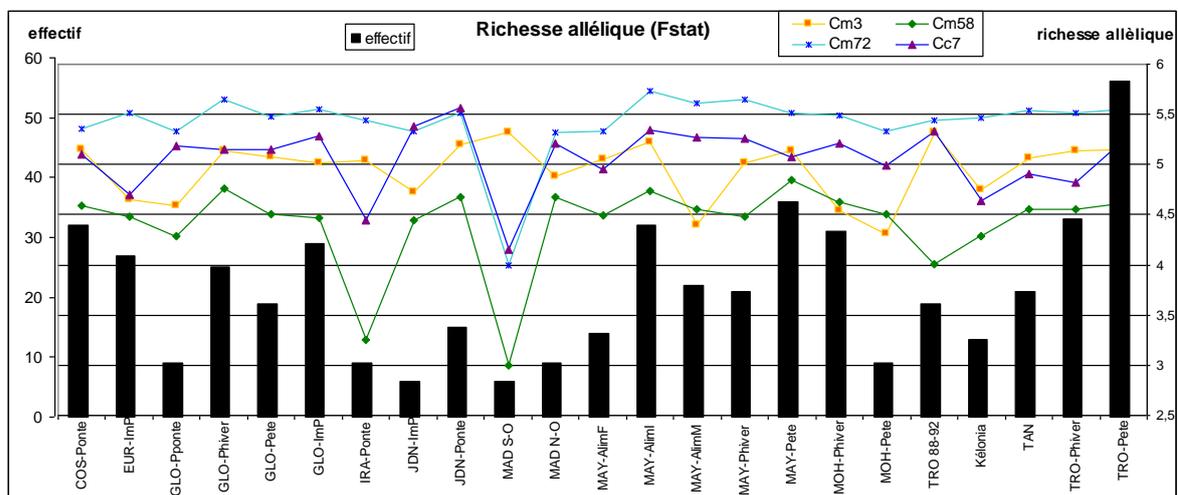
**Figure 3-6 : Etude empirique de la richesse allélique des groupes étudiés.**

- a)** En abscisse l'effectif et en ordonné le **nombre total d'allèles** (les 4 loci confondus) **pour chaque groupe**. Plusieurs modèles de corrélation (courbes de tendance) sont testés.
- b)** En abscisse l'effectif du groupe et en ordonné les **nombres d'allèles** présents dans le groupe **pour chaque locus** choisi. Sur chaque nuage de points est appliqué une courbe de tendance (type 'puissance').
- c)** En abscisse l'effectif et en ordonné le **nombre total d'allèles** (les 4 loci confondus) pour chaque groupe. Les groupes sont regroupés en 4 nuages **selon l'activité** des individus qui le composent (ponte, alimentation). Une courbe de tendance (type 'puissance') est appliquée à chaque nuage.

Le deuxième élément frappant est la relative homogénéité de cette richesse allélique, contrairement à la richesse haplotypique. L'écart-type des valeurs estimées de l'indice de richesse allélique ne dépasse pas 0,44 (Cm58). De plus, une relation de corrélation satisfaisante ( $R^2 \approx 0,96$ ) a pu être mise en évidence entre l'effectif d'un groupe et le nombre d'allèles (**Figure 3-7**), aussi bien pour le nombre total d'allèles (**a**), que pour le nombre d'allèles de chaque locus étudié (**b**), ou encore pour chaque catégorie d'individus (**c**). Dans tous les cas, le nombre d'allèles observés dépend en grande partie de l'effectif du groupe, renforçant l'idée d'une richesse allélique très importante dans la zone.



**Figure 3-5 :** effectif (courbe) et nombre d'allèles par locus (histogramme) pour chaque groupe étudié.



**Figure 3-7 :** Estimation de la richesse allélique d'un groupe pour chaque locus étudié (courbes) corrigée en raison des différences d'effectifs (histogramme). Calculée grâce au logiciel Fstat.

On observe un manque d'hétérozygotie dans pratiquement tous les sites de la zone d'étude, malgré la forte richesse allélique observée de la région. Pour tous, les tests d'écart à l'équilibre d'Hardy-Weinberg (effectués à l'aide du logiciel Arlequin 3.1) sont significatifs pour au moins un locus, et pour la majorité des groupes pour 3 loci, voire pour les 4 dans certains cas. Les taux d'hétérozygotie les plus faibles (par rapport à la valeur attendue) sont observés à Juan de Nova.

Site	Hétérozygotie moyenne (4 loci)		
	H attendue	H attendue corrigée	H observée
	Ecart-type	Ecart-type	Ecart-type
<b>Europa</b> Immatures zone ponte	<b>0,8958</b>	<b>0,9149</b>	<b>0,9167</b>
	0,0371	0,0379	0,0900
<b>Juan de Nova</b> Ponte	<b>0,8594</b>	<b>0,9167</b>	<b>0,6563</b>
	0,0486	0,0518	0,1573
<b>Juan de Nova</b> Immatures zone ponte	<b>0,8300</b>	<b>0,9222</b>	<b>0,7500</b>
	0,0346	0,0385	0,3000
<b>Nosy Iranja</b> Ponte	<b>0,8036</b>	<b>0,8654</b>	<b>0,8214</b>
	0,0918	0,0989	0,1798
<b>Glorieuses</b> Ponte	<b>0,9273</b>	<b>0,9388</b>	<b>0,8354</b>
	0,0299	0,0302	0,0234
<b>Glorieuses</b> Immatures zone ponte	<b>0,9091</b>	<b>0,9263</b>	<b>0,8981</b>
	0,0414	0,0421	0,0466
<b>Mayotte</b> Ponte	<b>0,9247</b>	<b>0,9359</b>	<b>0,8512</b>
	0,0319	0,0323	0,0563
<b>Mayotte</b> Alimentation	<b>0,9298</b>	<b>0,9374</b>	<b>0,8770</b>
	0,0389	0,0392	0,0606
<b>Mohéli</b> Ponte	<b>0,9039</b>	<b>0,9187</b>	<b>0,8226</b>
	0,0423	0,0430	0,0416
<b>Cosmolédo</b> Ponte	<b>0,9040</b>	<b>0,9205</b>	<b>0,9464</b>
	0,0274	0,0279	0,0461
<b>Tanzanie</b>	<b>0,8878</b>	<b>0,9184</b>	<b>0,8167</b>
	0,0385	0,0398	0,2064
<b>Tromelin</b> Ponte	<b>0,9257</b>	<b>0,9315</b>	<b>0,8906</b>
	0,0313	0,0315	0,0157
<b>Tromelin</b> Nées en 1988-1992	<b>0,8920</b>	<b>0,9161</b>	<b>0,8816</b>
	0,0616	0,0633	0,0899
<b>TOTAL</b>	<b>0,9349</b>	<b>0,9361</b>	<b>0,8679</b>
	0,0307	0,0307	0,0336

**Tableau 3-4** : Hétérozygotie moyenne attendue (équilibre d'Hardy-Weinberg), hétérozygotie attendue corrigée pour le biais d'échantillonnage, et hétérozygotie réellement observée dans la population. L'écart-type de chaque estimation est reporté sur la ligne au-dessous.

## 2. Diversité allélique

La liste des allèles mis en évidence pour chaque échantillon analysé a été indiquée en **Annexe 3**. Aucun allèle spécifique, c'est-à-dire présent dans une zone limitée, n'a pu être mis en évidence. Certains allèles ne sont présents que dans un groupe mais étant présents à un ou deux exemplaires, ils ne sont pas pris considération. La répartition des allèles dans la zone semble donc être plus ou moins homogène.

### *C. Discussion sur la diversité génétique de la région*

Le nombre total d'haplotypes mis en évidence dans la zone d'étude est compatible avec ceux obtenus dans d'autres régions, en prenant en compte les différences d'effectifs : 29 haplotypes pour 902 échantillons analysés soit environ 3,2 haplotypes pour 100 échantillons analysés (haplo/100ind) ; 24 haplotypes pour 714 échantillons soit 3,3 haplo/100ind (**Dethmers et al., 2006**) ; 24 haplotypes pour 796 échantillons soit 3,0 haplo/100ind (**Formia, 2002**). La valeur légèrement inférieure obtenue pour l'étude de **Formia (2002)** est certainement due au fait que la superficie de sa zone d'étude était inférieure à celles de **Dethmers et al. (2006)** et de la présente étude. Ce n'est donc pas le nombre total d'haplotypes qui fait l'originalité de notre zone d'étude, mais leur diversité. En effet, les haplotypes mis en évidence dans la zone appartiennent à 3 clades fortement divergents les uns des autres, avec notamment un clade composé d'haplotypes originaires de l'Atlantique et deux clades d'haplotypes de l'Indo-Pacifique. Le sud-ouest de l'océan indien est donc une zone de contact importante entre des tortues originaires de la métapopulation Atlantique-Méditerranée et celles de la métapopulation Indo-Pacifique.

Par contre, le nombre total d'allèles par locus microsatellite est très supérieur à celui obtenu dans d'autres études (cf. **Chapitre 3I.C**). Le fait que le nombre d'échantillons analysés (572) soit très supérieur à ceux des autres études, comme pour **Roberts et al. (2004)** avec 337 échantillons, constitue un premier élément de réponse. Cependant, il est également possible que cette diversité de taille des allèles microsatellites soit corrélée à la grande diversité haplotypique de la région.

La configuration radiale des clades 'CM8' et 'C3' (**Figure 3-1**) semble indiquer que des événements de type 'fondation' pourraient être intervenus. Dans cette hypothèse, les individus porteurs des haplotypes centraux CM8 et C3 auraient immigré dans le sud-ouest de l'océan Indien. Puis, ces populations auraient évolué indépendamment de leurs populations d'origine, l'haplotype central donnant naissance par mutations à de nombreux haplotypes. Le fait que des individus porteurs d'haplotypes non centraux (D2, C1, CMP19) aient immigré en même temps que ceux porteurs d'haplotypes centraux (C3, CM8) n'est pas en contradiction avec cette hypothèse. D'autant plus que dans des populations potentiellement à l'origine des tortues de notre zone d'étude, comme dans l'étude de **Formia (2002)** par exemple, les haplotypes présents étaient eux aussi organisés de façon radiale autour de CM8. Ainsi, toute migration incluant des individus porteurs de l'haplotype central CM8 conserverait alors cette configuration radiale.

La configuration du clade 'A2' ne semble pas être radiale. Cependant si l'on retire les 3 haplotypes spécifiques de la Polynésie française, on retrouve une configuration radiale à deux centres : A2 et CmI2.

Grâce à la mise en évidence de la présence d'individus porteurs de l'haplotype CM8 dans le sud-ouest de l'océan Indien, **Bourjea et al. (2007)** avaient montré l'existence de phénomènes de migration de tortues vertes originaires de l'océan Atlantique vers l'océan Indien. Cependant, la mise en évidence dans cette étude de la présence de 4 haplotypes dérivés de CM8 et qui semblent absents de l'océan Atlantique, nous laissent penser que les individus portant CM8 dans la région ont commencé à évoluer indépendamment de leurs 'cousins' restés en Atlantique. Ces haplotypes diffèrent chacun de CM8 par une seule mutation ponctuelle. Le passage (ou le début du passage) de femelles CM8 dans l'océan Indien daterait donc de 200 000 ans ou moins. On suppose qu'il y avait au moins une partie des immigrants qui étaient des femelles, puisque leur haplotype a été transmis aux générations

suivantes dans les sites de ponte du sud du canal du Mozambique. La présence dans la région de 2 haplotypes jusqu'à présent uniquement décrits dans le golfe de Guinée, CM42 et CM46, et à de faibles effectifs (**Formia, 2002**), laisse à penser que les tortues du sud-ouest de l'océan Indien portant CM8 pourraient être, elles aussi, originaires de cette zone. L'absence d'haplotype dérivé de CM42 et CM46 dans nos effectifs pourrait indiquer que les femelles portant CM42 et CM46 auraient pu immigrer dans l'océan Indien plus récemment que les CM8. Cependant, ces deux haplotypes divergent de CM8 par un seul événement mutationnel (pour CM42, il s'agit d'une insertion de 4 nucléotides). On ne peut donc pas écarter l'hypothèse que les séquences présentes dans la région et correspondant à CM42 et à CM46 pourraient être des séquences homologues, c'est-à-dire ne provenant pas d'une migration mais d'événements mutationnels homologues ayant eu lieu indépendamment dans deux océans différents.

La seule autre zone de contact connue à l'heure actuelle entre des tortues vertes de l'Atlantique-Méditerranée et de l'Indo-Pacifique est la côte ouest de l'Afrique, elle concerne donc cette fois un passage de tortues vertes de l'Indo-Pacifique vers l'Atlantique. En effet, l'haplotype IND1 mis en évidence par **Formia (2002)** est à la fois fortement divergent des autres haplotypes de l'Atlantique et très semblable (un nucléotide de différence) à ceux que cet auteur a mis en évidence aux Comores. Formia a donc supposé que cet haplotype était originaire de l'océan Indien et que quelques individus porteurs de IND1 avaient immigré dans l'océan Atlantique. Ce passage pourrait être plus récent du fait de la faible représentation d'IND1 en Atlantique et de l'absence d'haplotype dérivé. Par ailleurs, les individus porteurs d'IND1 mis en évidence en Atlantique sont des individus en alimentation (2 sur les 239 échantillons de Corisco Bay), et peut-être un individu échoué en Namibie (sur 9 échantillons). Plusieurs hypothèses peuvent être évoquées quant à la situation de ces individus :

- ces individus peuvent avoir immigré définitivement, de façon active ou passive, en Atlantique mais sans avoir la possibilité de s'y reproduire ou sans s'y reproduire.
- ces individus s'alimentent en Atlantique, mais se reproduisent dans l'océan Indien (IND1 représente d'ailleurs 5 des 10 femelles en ponte échantillonnées aux Comores).
- enfin, leur situation peut être symétrique à celle des individus porteurs de CM8 dans l'océan Indien, c'est-à-dire qu'ils se reproduiraient en Atlantique mais dans un site qui n'aurait pas encore été identifié.

Le passage de tortues vertes de l'océan Indien à l'océan Atlantique a également été évoqué par **Roberts et al. (2004)**. Leur hypothèse était l'immigration vers l'Atlantique de tortues vertes mâles, ce flux de gènes de l'océan Indien vers l'océan Atlantique engendrant une certaine homogénéisation au niveau des microsatellites entre les deux bassins océaniques. Alors que l'absence de femelles immigrantes garantirait le maintien de leur forte divergence haplotypique. Ces deux situations ne sont pas incompatibles dans la mesure où aucun échantillonnage (et donc aucune analyse de locus microsatellite) n'avait alors été réalisée dans la zone du golfe de Guinée et de la Namibie, lors de l'étude de **Roberts et al. (2004)**.

La puissance du courant des Aiguilles, et son sens de circulation majoritairement Nord-Nord Est→Sud-Sud Ouest, permet d'expliquer facilement le passage d'individus, de manière active ou passive, entre l'océan Indien et l'Atlantique, mais il ne facilite pas le passage en sens inverse comme c'est le cas ici. Ce passage datant d'au plus 200 000 ans, on peut penser que d'anciens phénomènes de glaciation/inter-glaciation aient pu modifier temporairement le régime des courants au niveau du Cap des Aiguilles, ainsi que la température de surface de l'eau. Ceci aurait alors permis le passage de tortues de l'Atlantique vers l'océan Indien. En ce qui concerne les haplotypes CM42 et CM46, on peut également émettre l'hypothèse que les quelques tortues porteuses de ces haplotypes ont pu immigrer dans l'océan Indien de manière extrêmement récente (quelques centaines d'années) à bord des navires de la compagnie des

Indes. En effet, les tortues marines constituaient une source de viande fraîche appréciable pour les marins car elles pouvaient rester plusieurs mois sans nourriture sur le pont, à condition d'être arrosées régulièrement. Les nombreux naufrages ayant eu lieu à cette époque ont pu engendrer la libération de quelques tortues d'origine Atlantique dans la région. Il n'est donc pas impossible de penser que quelques unes des tortues porteuses d'haplotypes CM42, CM46, ou même CM8 ne soient les descendantes de rescapées d'anciens naufrages.

Le fait que les temps de divergence estimés entre le clade 'CM8' et les deux autres clades soient identiques, et que les clades 'C3' et 'A2' soient plus proches entre eux qu'avec 'CM8', est en accord avec l'existence des deux métapopulations de tortues vertes : l'isolement de 'CM8' par rapport à 'A2' et à 'C3' sont des événements simultanés. **Formia et al. (2005)** estime la séparation entre les deux métapopulations vers 3,6 millions d'années, ce qui correspondrait à la fermeture de l'Isthme du Panama. Ceci est en accord avec les résultats de cette étude, qui donne une estimation entre 2,4 et 4,8 millions d'années.

L'haplotype C3 possède plus d'haplotypes dérivés que CM8 et A2. Ceci peut s'expliquer par le fait que C3 est très largement majoritaire dans la région, il y a donc statistiquement plus de chances d'échantillonner un individu porteur de C3 ayant subi une mutation. Si l'on considère l'ensemble de la zone du Sud-Est asiatique et de l'Australie, l'haplotype majoritaire est C3 (Moritz et al., 2002). Il n'est donc pas étonnant que ce soit également l'haplotype majoritaire du sud-ouest de l'océan Indien.

Les haplotypes fortement minoritaires comme C1 ou C5, peuvent être issus de phénomènes migratoires isolés ou être le fruit de mutations homologues. Si l'on écarte cette dernière hypothèse et que l'on recherche l'origine potentielle de l'individu porteur de C1 par exemple, on s'aperçoit que cet haplotype est très abondant le long des côtes nord et ouest de l'Australie, il est même le deuxième haplotype majoritaire, derrière A2 mais devant C3 (**Moritz et al., 2002 ; Dethmers et al., 2006**). Il est donc étonnant, étant donné les courants océaniques de l'océan Indien orientés majoritairement Est→Ouest, qu'il n'y ait pas plus de C1 dans la région. Il est possible que des tortues porteuses de C3, A2, et C1 aient migré en proportion égales dans la région mais qu'un phénomène dit de "*bottleneck*" (effondrement de l'effectif de la population, associé à l'action de la dérive génétique) ait pu entraîner la quasi-disparition de C1 dans la région. Il en va de même pour C14 et D2, même si ce dernier a été conservé dans de plus larges proportions (**Dethmers et al., 2006**). Les haplotypes A1, C4, C5 quant à eux sont peu répandus dans la région du Sud-Est asiatique et de l'Australie, il n'est donc pas étonnant qu'ils soient peu représentés dans la région. L'arrivée plus importante de tortues porteuses de C4 peut être le fruit du hasard. On peut même imaginer l'intervention d'un phénomène de facilitation sociale, poussant des tortues plus jeunes à suivre leurs aînées vers la Réunion ou le sud de Madagascar.

La configuration radiale à deux centres du clade 'A2' nous amène à nous interroger sur l'origine de l'haplotype CmI2. En effet, il n'avait jusqu'alors jamais été décrit chez la tortue verte, bien qu'il soit présent dans des groupes ayant déjà fait l'objet d'analyses mitochondriales (femelles en ponte à Mohéli, Cosmolédo, Tromelin ; **Bourjea et al., 2007**). Cependant, la fréquence de CmI2 dans ces groupes étant très faible et les effectifs analysés par **Bourjea et al. (2007)** moins importants, il est possible qu'au hasard de l'échantillonnage aucun prélèvement n'ait été effectué sur un individu porteur de CmI2.

L'haplotype CmI2 a trois origines possibles. Tout d'abord, il dérive par mutation de l'haplotype A1 dont il est le plus proche génétiquement (**Figure 3-1**). Dans ce cas, le très

faible effectif que représente A1 indique que la dérive génétique aurait joué un rôle, soit en diminuant la fréquence relative de A1, soit en augmentant celle de CmI2. Dans une deuxième hypothèse, moins vraisemblable mais que nous ne pouvons toutefois pas rejeter, CmI2 aurait dérivé depuis A2. Enfin, il est également possible que CmI2 soit issu d'un phénomène migratoire. Un deuxième élément étonnant est le très faible nombre de A1 dans l'effectif étudié : 2 individus sur 902 analysés, alors que **Bourjea et al. (2007)** en ont mis en évidence 7 sur 288 individus analysés, dont 6 dans des sites communs entre les deux études. Au vu du faible nombre d'années entre ces deux campagnes d'échantillonnage, il est tout à fait improbable que cette diminution soit due à la dérive génétique. Par contre, il est possible que les tortues en ponte lors de l'étude de Bourjea et al. (1996 et 2004), se trouvaient en phase d'alimentation dans un site non échantillonné en 2004-2007. L'hypothèse selon laquelle les tortues en ponte en 1996, en 2004 et en 2004-2007 appartiendraient à des populations différentes sera étudiée dans le **chapitre 4**.

La fréquence de A2 dans les groupes est relativement faible (moins de 12%) sauf au niveau des Seychelles et des immatures des Glorieuses où elle atteint plus de 25%, ainsi que dans le nord-ouest de Madagascar (17,6%). Ainsi, il semble que le nord de la zone d'étude soit le terrain de prédilection des tortues porteuses de A2.

En ce qui concerne la richesse haplotypique, certains groupes atypiques sont fortement éloignés de la courbe de tendance suivie par les autres groupes de même catégorie (**Figure 3-3 c**). Ainsi, compte tenu de leurs effectifs, les femelles en ponte à Cosmolédo et à Mohéli (en hiver) présentent plus d'haplotypes. Ces deux groupes seraient donc constitués de tortues de différentes origines. Ce qui est d'autant plus étonnant que, contrairement à d'autres groupes comme Mayotte, l'échantillonnage de tous les individus de chacun de ces groupes a été réalisé la même année, le même mois et la même semaine pour Cosmolédo.

La Polynésie française apparaît bien comme un groupe témoin, avec un seul individu porteur d'un haplotype commun avec la zone d'étude. Cependant, ces résultats montrent également que ce site est, à l'instar de notre zone d'étude, une zone à la fois riche (5 haplotypes pour 18 individus analysés) et originale (3 haplotypes nouveaux sur les 5 mis en évidence), qu'il serait intéressant d'étudier plus attentivement. On constate également, que bien qu'appartenant à la même métapopulation (Indo-Pacifique), le sud-ouest de l'océan Indien et la Polynésie française divergent radicalement.

Le cas particulier de la Réunion sera abordé en détail dans le **chapitre 4**. On remarquera cependant sa grande diversité haplotypique et la présence en proportions importantes de l'haplotype C4.

### ***D. Conclusions de l'étude de la diversité génétique : le SWIO, une riche zone de contact***

Le sud-ouest de l'océan Indien possède une importante richesse génétique (ADNmt et microsatellites). Pourtant ce qui fait l'originalité de la région n'est pas sa richesse mais sa diversité génétique. En fait, on y trouve des haplotypes de diverses origines, et notamment des haplotypes typiques de l'océan Atlantique. Ces haplotypes peuvent être classés en 3 clades génétiques bien distincts, avec des temps de divergence entre eux supérieurs à un million d'années. A cela s'ajoute la présence de 15 nouveaux haplotypes, répartis entre tous les clades, et qui semblent dans l'état actuel des connaissances, spécifiques à la région. Par conséquent, le sud-ouest de l'océan Indien, en plus de regrouper des haplotypes d'origines diverses, présente des haplotypes qui lui sont propres.

On connaissait l'importance des populations de tortues vertes du sud-ouest de l'océan Indien en terme de démographie pour l'espèce, il apparaît maintenant grâce à ces résultats qu'elles jouent aussi un rôle important dans la diversité génétique globale de l'espèce.

La configuration radiale de nos clades d'haplotypes est soit consécutive de phénomènes de fondation à partir d'haplotypes centraux, c'est-à-dire l'association de phénomènes de migration, et de mutations ; soit héritée via des phénomènes de migrations. Les deux scénarii pouvant avoir tous les deux joué un rôle, dans des proportions variables.

Les résultats obtenus grâce à l'étude de la diversité génétique ont permis de confirmer que le sud-ouest de l'océan Indien n'est pas (ou n'a pas été dans un passé récent) une zone fermée et plus particulièrement au niveau du Cap des Aiguilles.

Ainsi, non seulement le sud-ouest de l'océan Indien est l'une des 2 seules zones de contact connues entre des individus originaires des métapopulations de l'Atlantique-Méditerranée et de l'Indo-Pacifique (**Formia, 2002 ; Bourjea et al., 2007**), mais, c'est aussi la seule zone où on a pu mettre en évidence que ces deux groupes se reproduisaient dans des sites de ponte proches, voire communs. Cependant, bien que ces individus soient en contact tant sur les sites de ponte, que d'alimentation ou de développement des immatures, les seules analyses mitochondriales ne permettent pas de savoir s'il y a mélange entre les deux métapopulations puisque l'ADNmt est maternellement hérité. Or c'est une question importante car s'il y a contact mais non mélange, cela signifie qu'il n'y a pas d'échange génétique entre les deux métapopulations, ce qui pourrait aboutir à un phénomène de spéciation et à la création de deux nouvelles espèces. C'est pourquoi dans la section suivante nous allons chercher à savoir s'il existe ou non des échanges génétiques entre les tortues appartenant à ces deux métapopulations.

### III. Le SWIO, une zone de contact ou de mélange ?

L'objectif de cette section est de déterminer s'il y a brassage génétique entre les tortues de la région qui sont originaires de l'Atlantique et celles originaires de l'Indo-Pacifique.

#### A. Mise en évidence d'un brassage génétique

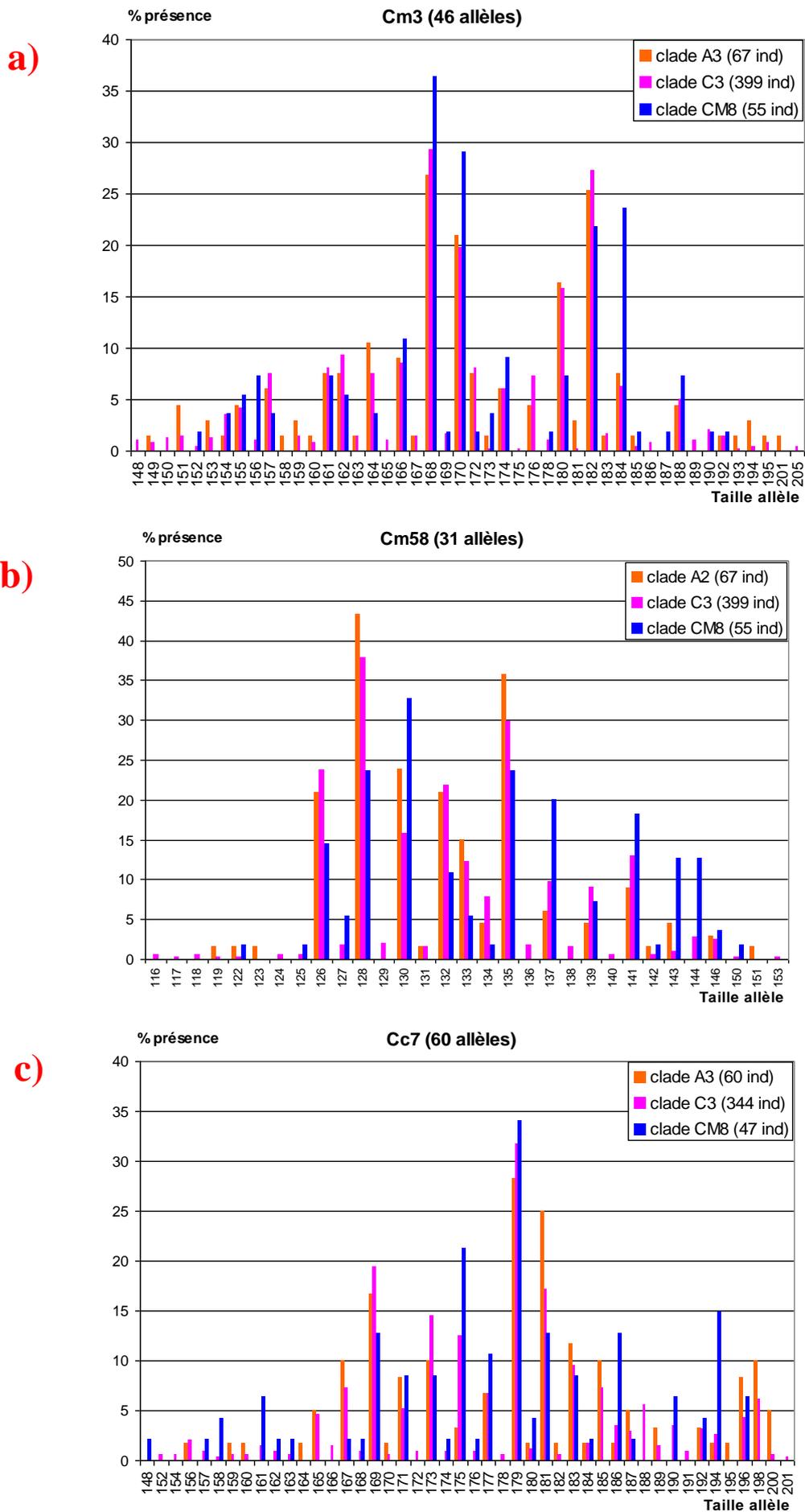
Les individus ont été regroupés, non pas en fonction de leur site d'échantillonnage et de leur catégorie (ponte, alimentation), mais en fonction du clade auquel appartient l'haplotype dont l'individu est porteur. La **Figure 3-8** présente la répartition par taille des allèles des 3 loci microsatellites (Cm3, Cm58, et Cc7) sélectionnés en raison de leur fort rendement lors des analyses, pour chacun de ces trois ensembles d'individus, désignés pour plus de facilité par le nom du clade auquel ils sont associés. Du fait des disparités d'effectifs, ce sont les fréquences alléliques qui sont représentées (nombre d'occurrence de l'allèle pour 100 individus) et non le nombre total d'occurrences de l'allèle.

On constate l'absence d'allèles spécifiques entre les clades, ainsi que la grande similitude de leurs profils, ce qui constitue autant d'indices d'une certaine homogénéité au niveau microsatellites des individus quel que soit le clade mitochondrial auquel ils appartiennent. Ceci montre qu'il y a bien échange génétique, mélange entre les individus porteurs de différents types d'haplotypes. Le sud-ouest de l'océan Indien est donc non seulement une zone de contact mais aussi une zone de mélange entre les tortues originaires de l'Atlantique et celles de l'Indo-Pacifique. Il y a également mélange entre les individus dont l'haplotype appartient au clade 'A2' et ceux du clade 'C3', qui bien que présent dans la même métapopulation (Indo-Pacifique), divergent fortement. En raison de la forte philopatrie des femelles, on peut supposer que l'essentiel de ces échanges s'effectuent via les mâles.

Afin de déterminer si ces échanges génétiques se limitent aux individus porteurs de certains haplotypes uniquement, ou s'ils concernent l'ensemble des individus, une Analyse en Composantes Principales (ACP) a été réalisée à l'aide du logiciel *R*. Cette ACP porte sur un objet *genind* de *R*, prenant en compte le génotype des individus, chaque individu étant assigné à une population en fonction de son haplotype. La liste des 'populations' composant cet objet figure dans le **Tableau 3-5** et les résultats de l'analyse sont présentés sur la **Figure 3-9**.

Les résultats concernant les nombreux haplotypes ultra minoritaires (1 seul individu) ou minoritaires (3-13 individus) ont été conservés sur la **Figure 3-9**, mais ne peuvent pas faire l'objet d'une interprétation. On ne s'intéresse donc qu'aux populations A2, CM8 et C3, dont les effectifs sont tout de même très disparates.

Là encore, il est impossible de différencier nettement les populations. Ce qui indiquerait que les échanges se font sur l'ensemble des individus. Il n'y a pas ségrégation des individus porteurs d'un haplotype par rapport aux autres.

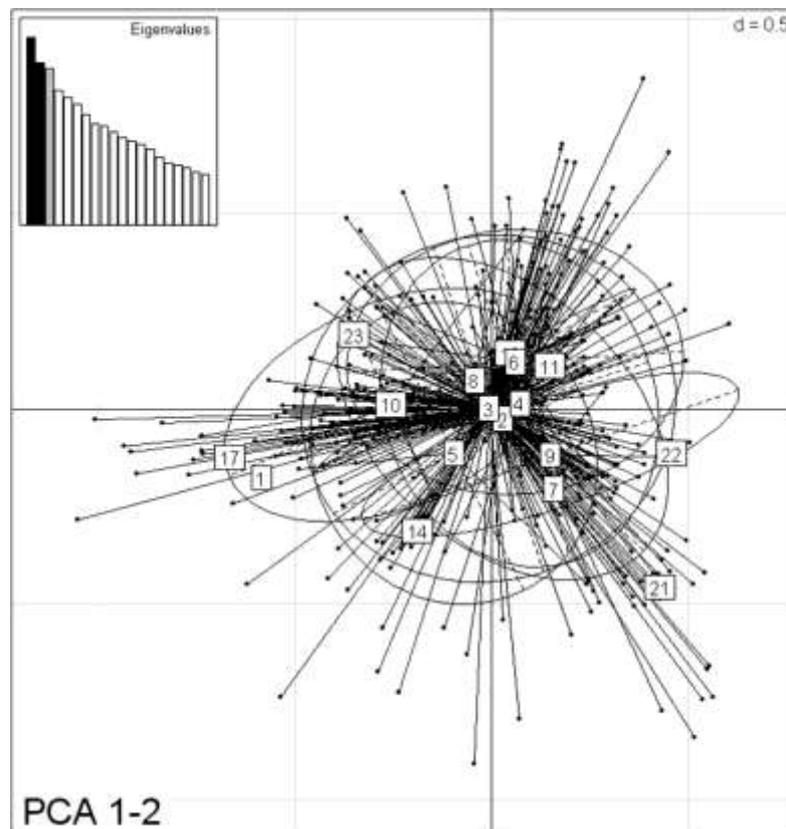


**Figure 3-8** : Répartition par taille des allèles selon le clade auquel appartient l'haplotype (ADNmt) dont est porteur l'individu, pour chacun des loci microsatellites :

**a)** Cm3 ; **b)** Cm58 ; **c)** Cc7.

N°	Haplotype	effectif
1	A2	50
2	CM8	46
3	C3	314
4	CmI4	1
5	CmI2	7
6	IND3	13
7	CmI3	1
8	CM46	1
9	C4	3
10	glo33	1
11	D2	5
12	CmI9	1
13	C1	1
14	A1	1
15	CMP19	3
16	CmI8	1
17	C5	1
18	CmI7	1

**Tableau 3-5** : Liste des ‘populations’ composant l’objet *genind* qui constitue le fichier entrant de l’ACP effectuée (à l’aide du logiciel *R*).

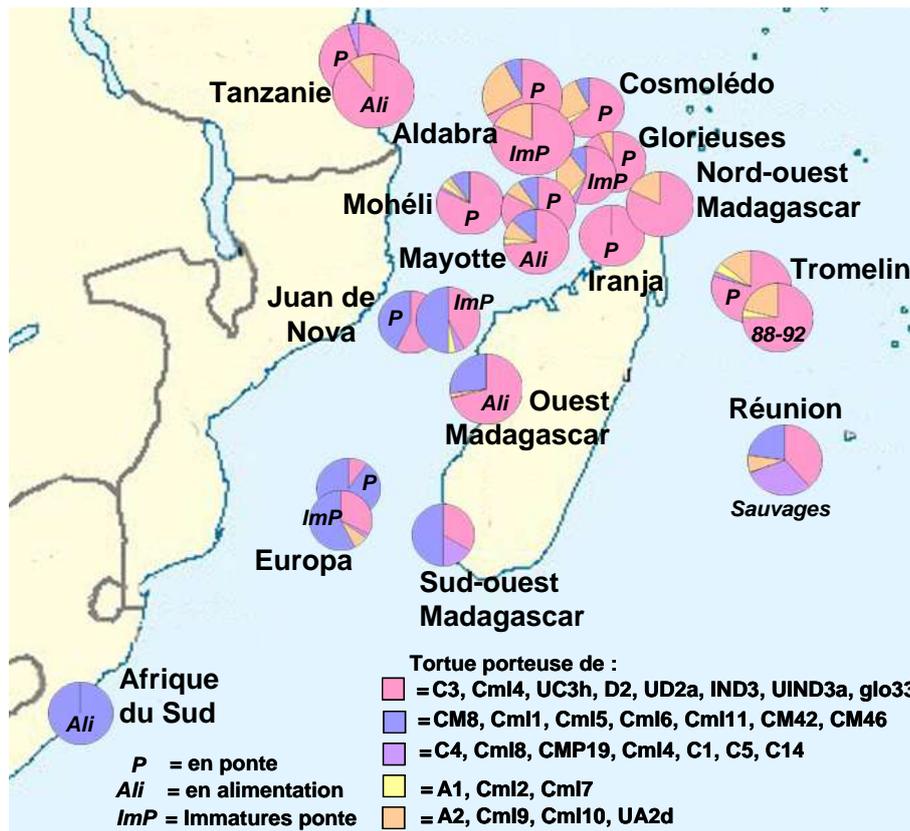


**Figure 3-9** : Résultats d’une ACP centrée non normée de l’objet *genind* réalisée à l’aide du logiciel *R*.

Cependant, il existe tout de même des différences dans la distribution des allèles entre les différents clades et haplotypes. En effet, sur la **Figure 3-8** on remarque que les individus porteurs d'haplotypes du clade 'CM8' présentent plus fréquemment les allèles : 175, 186, 194 (locus Cc7) ; 168, 170, 184 (Cm3) ; 130, 137, 143, 144 (Cm58), alors que ceux des deux autres clades présentent plus fréquemment : 169, 173, 181 (Cc7) ; 180, 182 (Cm3) ; 128, 135 (Cm58). Par ailleurs, des tests par paire sur permutations (500 répliques) réalisés sur l'indice de fixation des populations  $F_{st}$  (estimateur  $RH$  de **Robertson & Hill, 1984**) montrent que les tortues porteuses d'haplotypes appartenant au clade 'CM8' diffèrent significativement des tortues des deux autres clades, indiquant une certaine structuration génétique. Cependant, la différenciation est faible ( $F_{st} = 0,003 < 0,05$ ), signifiant qu'il existe tout de même des flux de gènes entre ces clades. Les deux clades Indo-Pacifique ne présentent pas de différence significative. Il n'y a donc pas une parfaite homogénéité au niveau des marqueurs microsatellites entre les tortues originaires de l'Atlantique et celles de l'Indo-Pacifique. Ceci n'a rien d'étonnant puisque le contact entre les métapopulations est relativement récent. De plus, la tortue verte est une espèce fortement philopatride, au moins en ce qui concerne les femelles, ce qui ralentit l'expansion géographique de CM8 et limiterait donc la zone de contact entre les deux métapopulations.

### ***B. Mise en évidence d'un cline génétique***

Ainsi, il y a contact et mélange des deux métapopulations de tortues vertes dans le sud-ouest de l'océan Indien, mais on ignore l'étendue et la localisation de la zone de contact. L'observation de la composition haplotypique des 22 groupes de la région (**Figure 3-10**) laisse soupçonner l'existence d'un cline génétique. La **Figure 3-11** confirme l'existence d'un cline génétique le long du canal du Mozambique portant sur les fréquences de CM8 et de C3 (régressions linéaires :  $R^2(\text{CM8}) = 0,8853$  et  $R^2(\text{C3}) = 0,7472$ ). L'existence d'un tel cline n'est pas en soi une surprise, puisqu'il s'agit d'une situation courante au niveau des zones hybrides ou des zones de contact (Hewitt, 1988 ; **Barton & Hewitt, 1989** ; **Barton, 2001** ; **Hewitt, 2001**). Cependant, les clines génétiques peuvent avoir plusieurs origines. Ils peuvent résulter d'un contact et d'un mélange de deux populations (ou sous-espèces), ou bien être le fruit de phénomènes de sélection (**Laurent et al., 2006**). La région contrôlée de l'ADNmt étant considérée comme sélectivement neutre, et considérant par ailleurs qu'il y a effectivement contact entre deux populations très divergentes, nous retiendrons l'hypothèse du mélange entre deux populations.



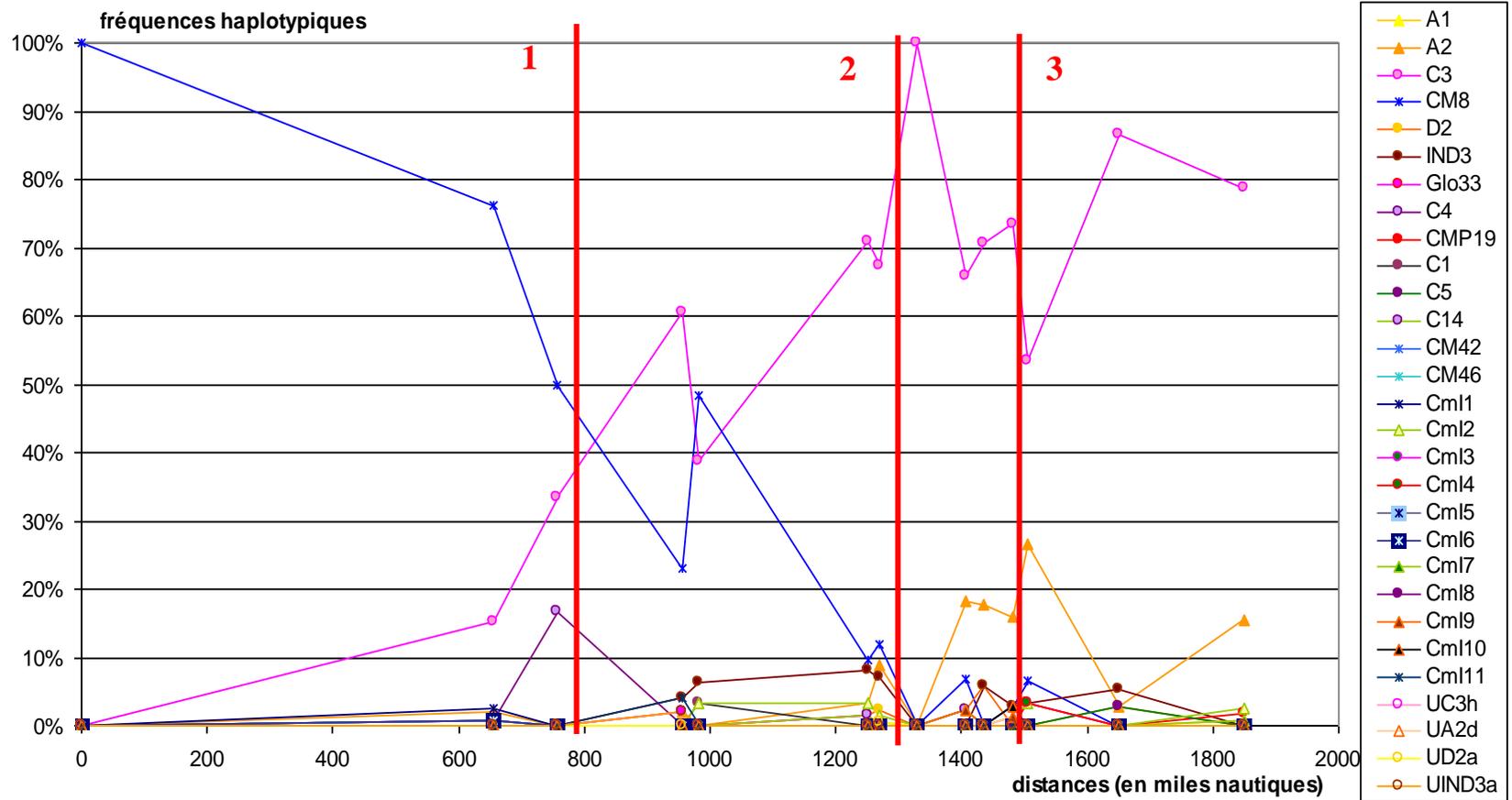
**Figure 3-10** : Carte présentant la composition en 4 groupes d'haplotypes des 22 groupes de tortues vertes de la zone d'étude.

Le groupe des tortues de la Réunion a été retiré de la **Figure 3-11** car il se trouve dans une situation géographique particulière, de l'autre côté de Madagascar, il sera donc traité à part. En raison du très grand nombre d'allèles (208 au total pour Cm3, Cm58 et Cc7), il n'est pas possible de mettre en évidence un éventuel cline microsatellites.

Le point d'inflexion de ce cline, quand les courbes de fréquences se croisent (**Figure 3-11, 1**), est atteint pour une distance de 800-850 milles nautiques, correspondant à une zone se situant légèrement au sud de Juan de Nova. Ce qui est en accord avec la composition haplotypique (presque 50/50 entre CM8 et C3) des groupes de tortues de cette île et des îles Barrens (ouest de Madagascar), ainsi qu'avec l'étude de **Bourjea et al. (2007)** qui situait la limite entre les métapopulations de l'Atlantique-Méditerranée et de l'Indo-Pacifique au niveau de Juan de Nova. Ceci pourrait d'ailleurs expliquer le manque d'hétérozygotie observé chez les tortues de cette île (cf. **Chapitre 3II.B.1**), qui correspondrait à un effet Wahlund (**Hartl, 1994**). Les groupes de tortues de Juan de Nova et des îles Barrens constitueraient la réunion de tortues des deux métapopulations.

Le crochet dans le cline observé aux environs de 1000 milles nautiques et correspondant à Juan de Nova, est dû à la réunion des tortues en ponte, dont la composition haplotypique est en parfait accord avec les tendances du cline, et les immatures en alimentation qui elles ont une composition atypique par rapport au cline.

La 'pente' du cline (30% de fréquence haplotypique pour 100 milles nautiques) n'est pas très importante, laissant supposer que les deux populations se sont déjà bien mélangées (taux de migrants importants) et qu'aucun phénomène de type ségrégation ou sélection n'a freiné le processus de manière importante. L'importance des échanges et/ou leur ancienneté pourrait expliquer la présence de tortues CM8 à Cosmolédo et de C3 à Europa. Dans une zone de



**Figure 3-11** : Fréquences observées de chaque haplotype du SWIO en fonction de la distance géographique séparant le site d'échantillonnage du site d'Afrique du Sud.

Les distances (en miles nautiques) ont été obtenues par calcul à partir des coordonnées GPS (obtenues à l'aide de GoogleEarth) des différents sites d'échantillonnage, excepté pour les sites hors canal du Mozambique où les distances ont été mesurées à l'aide de GoogleEarth afin que les 'trajets' entre deux sites ne passent pas au-dessus de Madagascar.

contact, il y a deux aspects à étudier. Premièrement, le fait que des individus migrent d'une zone à l'autre, et deuxième, le fait que les individus de la population 1 qui sont en contact avec ceux de la population 2 (au niveau du front de contact ou après migration) se reproduisent avec ces individus de la population 2, c'est-à-dire qu'il y a échange génétique entre les deux populations (cf. section précédente).

Si on observe attentivement la portion des courbes située entre les marques **2** et **3** (**Figure 3-11**), on remarque qu'il semble y avoir un deuxième cline, cette fois-ci entre les fréquences de C3 et d'A2 (régressions linéaires :  $R^2(C3) = 0,7267$  et  $R^2(A2) = 0,7863$ ), bien que cette dernière ne dépasse jamais le seuil de 30% des individus. Ce cline est moins important que le premier, mais il pourrait constituer une trace du mélange des tortues porteuses de ces deux haplotypes lors de la colonisation de la région il y a plusieurs centaines de milliers d'années, selon notre estimation.

### ***C. Conclusions de la section : le SWIO, une zone en cours de mélange***

La rencontre au sud de Juan de Nova de tortues vertes originaires des deux métapopulations (Atlantique et Indo-Pacifique), a généré un cline génétique reposant principalement sur les fréquences relatives de CM8 et C3. Les deux populations (migration d'individus) semblent déjà bien mélangées, du fait de l'ancienneté du contact entre les deux populations et/ou de taux de migrations importants. La deuxième hypothèse suppose l'absence de ségrégation ou de sélection des individus en fonction de leur haplotype dans la région. Elle est cependant en désaccord avec l'hypothèse d'une forte philopatrie des femelles. Se pose alors la question de la dynamique de ce cline. En effet, ce n'est qu'en intégrant le facteur temps (cf. **chapitre 4**), que l'on pourra déterminer si la région est en équilibre dynamique ou si les tortues porteuses de l'haplotype sont en train de coloniser toute la région, peut-être même en supplantant les tortues porteuses de C3.

La structure des populations de tortues vertes du Sud-ouest de l'océan Indien semble être de type bipolaire, avec au pôle nord des influences Indo-Pacifiques, et au pôle sud des tortues plutôt originaires de l'Atlantique. Les tortues de la Réunion (habitantes de la lune si nous suivons la même métaphore) et du sud-ouest de Madagascar constitueraient une population spécifique, hors du cline génétique observé.

Par ailleurs, les résultats montrent l'existence d'échanges génétiques entre les tortues de différentes origines. La région n'est cependant pas encore totalement homogénéisée. Des phénomènes comme la philopatrie ou la sélection du partenaire pourraient freiner ces échanges.

L'existence de ces échanges a de grandes implications en biologie de la conservation. Tout d'abord, cela montre que les deux métapopulations de tortues vertes n'ont pas atteint un niveau de divergence suffisant pour entraîner l'arrêt de l'inter-reproduction. Par ailleurs, leur faible différenciation au niveau des marqueurs microsatellites montre que l'on est très loin d'un phénomène de spéciation des deux métapopulations. Par ailleurs, cela augmente encore l'intérêt de la région qui constitue une zone de brassage génétique très importante pour le maintien de la biodiversité de l'espèce.

Fst WC1000	AFS-Alim	EUR-ImP	EUR-Ponte	MAD S-O	JDN-Ponte	JDN-ImP	MAD O-Alim	MAD N-O	MAY-Alim	MAY-Ponte	MOH-Ponte	GLO-Ponte	GLO-ImP	TAN-Ponte	TAN-Alim	IRA-Ponte	COS-Ponte	ALD-Ponte	ALD-ImP	TRO-Ponte	RUN-Sauv	TRO 88-92	POL-centre
AFS-Alim		0,11111	-0,06756	0,17757	0,39785	0,14849	0,42354	0,62925	0,48322	0,59725	0,56576	0,89341	0,43762	0,79785	0,73365	1	0,4713	0,54498	0,69158	0,70002	0,28366	0,6739	0,44967
EUR-ImP	0,11111		0,13955	-0,07705	-0,00527	-0,01995	0,12729	0,27275	0,19178	0,2788	0,25093	0,4037	0,15771	0,38627	0,30187	0,44415	0,1876	0,22083	0,35456	0,38666	0,0624	0,31883	0,31514
EUR-Ponte	0,06756	0,13955		0,1924	0,3661	0,19025	0,45273	0,6357	0,47711	0,58073	0,56467	0,71998	0,51081	0,69817	0,66877	0,74291	0,53824	0,57793	0,65715	0,65828	0,40104	0,65245	0,57854
MAD S-O	0,17757	-0,07705	0,1924		-0,09329	-0,08184	0,05227	0,23112	0,12986	0,23784	0,19814	0,49646	0,08705	0,42908	0,27397	0,60822	0,12862	0,176	0,34637	0,37814	-0,06765	0,30814	0,24353
JDN-ponte	0,39785	-0,00527	0,3661	-0,09329		-0,03702	-0,04456	0,11691	0,01794	0,08581	0,05749	0,33237	0,03924	0,26171	0,13767	0,46074	0,06864	0,08127	0,1893	0,21575	0,00909	0,17538	0,30766
JDN-ImP	0,14849	-0,01995	0,19025	-0,08184	-0,03702		0,08746	0,23822	0,15487	0,2407	0,20661	0,38569	0,13576	0,35652	0,26494	0,43133	0,1632	0,19735	0,32855	0,36427	0,0457	0,29766	0,28957
MAD O - Alim	0,42354	0,12729	0,45273	0,05227	-0,04456	0,08746		0,04147	0,0041	0,02763	0,01382	0,11445	0,03629	0,09398	0,03875	0,15211	0,05013	0,04268	0,07786	0,09974	0,0689	0,07751	0,33525
MAD N-O	0,62925	0,27275	0,6357	0,23112	0,11691	0,23822	0,04147		-0,0058	-0,01185	-0,00253	0,04402	0,00073	0,03899	-0,0609	0,13298	-0,00452	-0,02776	-0,01486	-0,00962	0,13802	-0,03524	0,35996
MAY-Alim	0,48322	0,19178	0,47711	0,12986	0,01794	0,15487	0,0041	-0,0058		0,00284	-0,00059	0,06482	0,01539	0,05371	-0,00538	0,10396	0,02096	0,00621	0,03109	0,04154	0,1067	0,02449	0,36186
MAY-Ponte	0,59725	0,2788	0,58073	0,23784	0,08581	0,2407	0,02763	-0,01185	0,00284		-0,00994	0,02939	0,05808	0,01413	-0,02469	0,06965	0,05689	0,02498	0,00644	0,01962	0,18782	0,01752	0,43952
MOH-Ponte	0,56576	0,25093	0,56467	0,19814	0,05749	0,20661	0,01382	-0,00253	-0,00059	-0,00994		0,03908	0,05429	0,01699	-0,01897	0,07446	0,05704	0,03383	0,01501	0,02944	0,15627	0,03137	0,40676
GLO-Ponte	0,89341	0,4037	0,71998	0,49646	0,33237	0,38569	0,11445	0,04402	0,06482	0,02939	0,03908		0,14446	-0,01064	-0,02067	-0,00999	0,14129	0,10448	-0,00466	0,00002	0,32415	0,03811	0,52794
GLO-ImP	0,43762	0,15771	0,51081	0,08705	0,03924	0,13576	0,03629	0,00073	0,01539	0,05808	0,05429	0,14446		0,1472	0,02929	0,20978	-0,02783	-0,02003	0,08007	0,09061	0,03915	0,0296	0,26702
TAN-Ponte	0,79785	0,38627	0,69817	0,42908	0,26171	0,35652	0,09398	0,03899	0,05371	0,01413	0,01699	-0,01064	0,1472		-0,01141	0,02272	0,14287	0,11023	0,00708	0,02484	0,30132	0,06271	0,51067
TAN-Alim	0,73365	0,30187	0,66877	0,27397	0,13767	0,26494	0,03875	-0,0609	-0,00538	-0,02469	-0,01897	-0,02067	0,02929	-0,01141		0,08828	0,03189	0,00194	-0,04452	-0,03851	0,16607	-0,03535	0,39283
IRA-Ponte	1	0,44415	0,74291	0,60822	0,46074	0,43133	0,15211	0,13298	0,10396	0,06965	0,07446	-0,00999	0,20978	0,02272	0,08828		0,20951	0,18285	0,0468	0,05249	0,38889	0,12235	0,57266
COS-Ponte	0,4713	0,1876	0,53824	0,12862	0,06864	0,1632	0,05013	-0,00452	0,02096	0,05689	0,05704	0,14129	-0,02783	0,14287	0,03189	0,20951		-0,02532	0,07528	0,08297	0,06849	0,0209	0,28006
ALD-Ponte	0,54498	0,22083	0,57793	0,176	0,08127	0,19735	0,04268	-0,02776	0,00621	0,02498	0,03383	0,10448	-0,02003	0,11023	0,00194	0,18285	-0,02532		0,03748	0,04066	0,10724	-0,0106	0,33918
ALD-ImP	0,69158	0,35456	0,65715	0,34637	0,1893	0,32855	0,07786	-0,01486	0,03109	0,00644	0,01501	-0,00466	0,08007	0,00708	-0,04452	0,0468	0,07528	0,03748		-0,00794	0,25079	-0,00443	0,47674
TRO-Ponte	0,70002	0,38666	0,65828	0,37814	0,21575	0,36427	0,09974	-0,00962	0,04154	0,01962	0,02944	0,00002	0,09061	0,02484	-0,03851	0,05249	0,08297	0,04066	-0,00794		0,28684	-0,00741	0,5154
RUN	0,28366	0,0624	0,40104	-0,06765	0,00909	0,0457	0,0689	0,13802	0,1067	0,18782	0,15627	0,32415	0,03915	0,30132	0,16607	0,38889	0,06849	0,10724	0,25079	0,28684		0,20174	0,18974
TRO 88-92	0,6739	0,31883	0,65245	0,30814	0,17538	0,29766	0,07751	-0,03524	0,02449	0,01752	0,03137	0,03811	0,0296	0,06271	-0,03535	0,12235	0,0209	-0,0106	-0,00443	-0,00741	0,20174		0,42499
POL	0,44967	0,31514	0,57854	0,24353	0,30766	0,28957	0,33525	0,35996	0,36186	0,43952	0,40676	0,52794	0,26702	0,51067	0,39283	0,57266	0,28006	0,33918	0,47674	0,5154	0,18974	0,42499	

**Tableau 3-6 :** Valeurs calculées de l'estimateur de **Weir & Cockerham (1984)** de l'indice de fixation *Fst*. Tests par paire sur permutations (1000 répétitions) réalisés à l'aide du logiciel Genetix pour les 23 groupes étudiés. Les valeurs surlignées en bleu correspondent aux tests significatifs (pourcentage de répétitions présentant une valeur de *Fst* inférieure à celle observée > 95%).

## IV. Différenciation génétique

L'objectif de cette section est d'identifier des populations et de déterminer quelle est la structure de ces populations de tortues vertes dans la région d'étude. Pour cela nous avons cherché à différencier des groupes d'individus, puis nous les avons classés en ensembles significativement divergents les uns des autres en considérant le niveau haplotypique, microsatellite ou les deux à la fois.

### A. A partir des données mitochondriales

Dans cette section, 23 groupes de tortues sont considérés parmi les 29 qui figurent sur le **Tableau 3-3**. Les groupes 'Glorieuses Mâles' et 'Madagascar Ouest Ponte' ne sont pas pris en compte en raison de leurs trop faibles effectifs. Par ailleurs, les groupes 'Mayotte Femelles Mortes', 'Madagascar Ouest *Bycatch*', 'Tanzanie Autres', et 'Kélonia' ne sont pas considérés non plus car on ne peut pas déterminer avec exactitude l'activité ou le site d'échantillonnage.

#### 1. HaploTYPE Dominant.

Les 23 groupes retenus (**Tableau 3-3**), permettent de différencier 4 ensembles en fonction de l'haploTYPE ou des haplotypes dominants du groupe :

- CM8 dominant = l'Afrique du Sud, les deux groupes d'Europa.
- C3 et CM8 co-dominants = les 2 groupes de Juan de Nova, le sud-ouest de Madagascar.
- C4, C3 et CM8 co-dominants = la Réunion (individus sauvages).
- C3 dominant = tous les autres groupes (16), nommé par la suite 'Ensemble central'.

#### 2. Analyse des *Fst* et détermination des ensembles.

A l'aide du logiciel Genetix, des tests par paire sur permutations (1000 répétitions) ont été réalisés sur les valeurs observées de l'estimateur de **Weir & Cockerham (1984)** de l'indice de substitution *Fst* des 23 groupes étudiés (**Tableau 3-6**). Sur les 253 tests réalisés, 144 ce sont révélés significatifs, c'est-à-dire que pour 5% des permutations au plus, la valeur de l'indice *Fst* est inférieure à la valeur observée. Sous l'hypothèse  $H_0$  'les deux groupes forment un seul et même ensemble génétique', la probabilité d'observer une telle situation est inférieure à 0,05, on peut donc rejeter  $H_0$ . On considère alors que les deux groupes diffèrent significativement au niveau de la région contrôlée de l'ADNmt.

La comparaison des profils *Fst* (significativité des tests et valeurs estimées de *Fst*) des 23 groupes étudiés (**Tableau 3-6**) a permis la construction de 10 ensembles. Chaque ensemble étant constitué de groupes non significativement différents entre eux et présentant des profils similaires, à la fois au niveau de la significativité des tests et des valeurs de *Fst* de ces groupes avec ceux des autres ensembles. Ces 10 ensembles sont présentés dans le **Tableau 3-7**. En raison de l'existence ponctuelle de tests non significatifs entre des groupes appartenant à deux ensembles différents, la validité de ces ensembles a dû être testée. Dans un premier temps, ces 10 ensembles ont subi des tests 2 à 2 sur les valeurs observées de l'indice *Fst* (**Tableau 3-8**). Sept de ces ensembles sont parfaitement différenciés entre eux. Les 3 autres cependant ('Juan de Nova Ponte' ; 'Tanzanie' ; 'Aldabra Ponte'), présentent des affinités avec de nombreux autres ensembles.

<b>Fst WC1000</b>	<b>Sud</b>	<b>Europa Ponte</b>	<b>Juan de Nova Ponte</b>	<b>Ponte Nord Canal</b>	<b>Alimentation Nord Canal</b>	<b>Cosmolédo</b>	<b>Tromelin</b>	<b>Aldabra Ponte</b>	<b>Tanzanie</b>	<b>Polynésie</b>
<b>Sud</b>		0,14441	-0,00992	0,30712	0,15814	0,16373	0,35127	0,19962	0,26739	0,29841
<b>Europa Ponte</b>	0,14441		0,3661	0,60175	0,44732	0,49384	0,64369	0,57793	0,64208	0,57854
<b>Juan de Nova Ponte</b>	-0,00992	0,3661		0,13409	0,00071	0,06026	0,20991	0,08127	0,14539	0,30766
<b>Ponte Nord Canal</b>	0,30712	0,60175	0,13409		0,0271	0,10076	0,01859	0,05896	0,0063	0,50534
<b>Alimentation Nord Canal</b>	0,15814	0,44732	0,00071	0,0271		0,0309	0,05291	0,01534	0,02032	0,3593
<b>Cosmolédo</b>	0,16373	0,49384	0,06026	0,10076	0,0309		0,08457	-0,01608	0,03175	0,28421
<b>Tromelin</b>	0,35127	0,64369	0,20991	0,01859	0,05291	0,08457		0,03725	-0,00883	0,52185
<b>Aldabra Ponte</b>	0,19962	0,57793	0,08127	0,05896	0,01534	-0,01608	0,03725		-0,00096	0,33918
<b>Tanzanie</b>	0,26739	0,64208	0,14539	0,0063	0,02032	0,03175	-0,00883	-0,00096		0,40612
<b>Polynésie</b>	0,29841	0,57854	0,30766	0,50534	0,3593	0,28421	0,52185	0,33918	0,40612	

**Tableau 3-8** : Valeurs calculées de l'estimateur de **Weir & Cockerham (1984)** de l'indice de fixation *Fst*. Tests par paire sur permutations (1000 répétitions) réalisés pour les 10 ensembles testés. Les valeurs surlignées en rose correspondent aux tests non significatifs.

N°	Nom de l'ensemble	Composition	Type	effectif
1	Sud	AFS ; EUR-ImP ; JDN-ImP ; RUN-Sauv ; MAD S-O	Ensemble mixte	87
2	Europa Ponte	EUR-Ponte	Tortues en ponte	112
3	Juan de Nova Ponte	JDN-Ponte	Tortues en ponte	7
4	Alimentation Canal	MAD O –Alim ; MAY-Alim	Tortues en alimentation	181
5	Ponte Nord Canal	MAY-Ponte ; MOH-Ponte ; GLO-Ponte ; TAN-Ponte ; IRA-Ponte	Tortues en ponte	192
6	Tanzanie	TAN-Alim ; MAD N-O	Ensemble mixte	27
7	Cosmolédo	COS-Ponte ; GLO-ImP	Ensemble mixte	59
8	Aldabra Ponte	ALD-Ponte	Tortues en ponte	27
9	Tromelin	TRO-Ponte ; TRO 88-92 ; ALD-ImP	Ensemble mixte	165
10	Polynésie	POL	Autres	18

**Tableau 3-7** : Liste des 10 ensembles constitués à partir des données mitochondriales.

Concernant les valeurs proprement dites de ces *Fst*, on constate qu'elles sont globalement importantes (**Tableau 3-9**). Dans environ deux tiers des cas, la différenciation entre les deux ensembles considérés est modérée à très grande, selon les critères de **Hartl (1994)**. Avec une moyenne de 0,25 (sans la Polynésie), les valeurs extrêmes sont 0,019 (entre 'Tromelin' et 'Ponte Nord Canal') et 0,644 (entre 'Tromelin' et 'Europa Ponte'). Ces 10 ensembles sont donc globalement très différenciés au niveau haplotypique. Le site témoin, la Polynésie française, constitue l'ensemble le plus divergent.

	critère	nombre de tests
<b>tests non significatifs</b>	$P > 0.05$	11
<b>faible différenciation</b>	$Fst < 0,05$	5
<b>différenciation modérée</b>	$0,05 < Fst < 0,15$	6
<b>grande différenciation</b>	$0,15 < Fst < 0,25$	4
<b>très grande différenciation</b>	$Fst > 0,25$	10
<b>test avec la Polynésie</b>	tous : $Fst > 0,25$	9
<b>Total</b>		<b>45</b>

**Tableau 3-9** : Bilan des valeurs de *Fst* calculées lors des tests effectués sur les 10 ensembles. Les critères utilisés sont ceux de **Hartl (1994)**.

### 3. Analyse AMOVA et validation des ensembles.

A l'aide du logiciel Arlequin des analyses de type AMOVA (basée sur les différences 2 à 2) ont été réalisés avec comme structure de départ les 9 ensembles du sud-ouest de l'océan Indien mis en évidence dans la section précédente. En fonction des résultats, d'autres structures ont été testées, à la fois avec plus ou moins d'ensembles. Nous ne détaillerons pas ici les résultats de toutes les AMOVA réalisées, mais nous remarquerons que dans tous les cas la proportion de variance expliquée par les différences intragroupe est supérieure à 60%. Ceci montre une grande diversité interindividuelle des tortues étudiées, qui est cependant beaucoup

plus faible que celle observée (plus de 90%) par **Formia (2002)** sur les tortues de l'Atlantique.

Il s'avère que la structure la plus adéquate semble être une structure à 10 ensembles, présentés dans le **Tableau 3.10**. En effet, dans ce cas la proportion de variance expliquée par les différences intraensemble et intergroupes est minimale avec 0,43% ( $p = 0,00196$ ) alors que la proportion expliquée par les différences interensembles est maximale 36,39 % ( $p = 0,00000$ ). La part de variance expliquée par les différences intragroupe est de 63,18% ( $p = 0,00000$ ), l'estimation de l'indice *Fst* donne 0,36815 et de *Fct* 0,36387. Une structure basée sur les sites d'échantillonnage, c'est-à-dire où les groupes d'un même site sont regroupés dans un même ensemble, qui semble la plus logique dans une première approche s'avère pourtant moins en adéquation avec les résultats obtenus puisque l'on observe alors une part de variance intraensemble et intergroupes de 3,80% ( $p = 0,00196$ ). Ceci peut notamment s'expliquer par l'intervention du facteur stade de développement, qui sera abordé en détail dans le **chapitre 4**. Les AMOVA réalisées sur l'ensemble des données, en incorporant l'ensemble 'Polynésie', donnent des résultats similaires.

N°	Nom de l'ensemble	Composition	Type	effectif
1	Sud	AFS ; EUR-ImP ; JDN-ImP ;	Tortues en alimentation	68
2	Réunion	RUN-Sauv ; MAD S-O	Ensemble mixte	19
3	Europa Ponte	EUR-Ponte	Tortues en ponte	112
4	Juan de Nova Ponte	JDN-Ponte	Tortues en ponte	7
5	Alimentation Canal	MAD O –Alim ; MAY-Alim	Tortues en alimentation	181
6	Ponte Nord Canal	MAY-Ponte ; MOH-Ponte ; GLO-Ponte ; TAN-Ponte ; IRA-Ponte	Tortues en ponte	192
7	Tanzanie	TAN-Alim ; MAD N-O	Ensemble mixte	27
8	Cosmolédo	COS-Ponte ; GLO-ImP	Ensemble mixte	59
9	Aldabra Ponte	ALD-Ponte	Tortues en ponte	27
10	Tromelin	TRO-Ponte ; TRO 88-92 ; ALD-ImP	Ensemble mixte	165
11	Polynésie	POL	Autres	18

**Tableau 3-10** : Liste des 11 ensembles constitués à partir des analyses AMOVA.

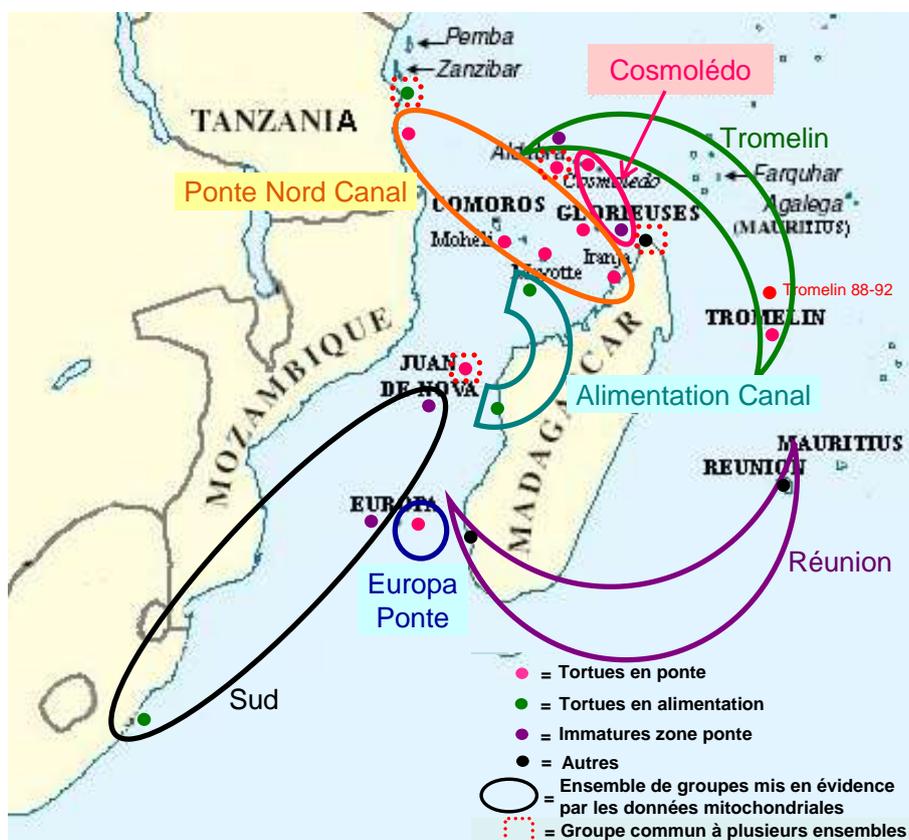
#### 4. Conclusions sur les données mitochondriales.

Huit ensembles ont été déterminés, en combinant les informations obtenues à partir de l'étude de l'haplotype dominant, de l'indice de fixation ( $F_{st}$ ) et d'AMOVA. Ces ensembles correspondent à ceux présentés dans le **Tableau 3-10**, exception fait des ensembles 4, 7 et 9 qui sont peu différenciés des autres ensembles. Ceux-ci ne peuvent pas être associés à un unique autre ensemble, ils sont communs à plusieurs des ensembles génétiquement différenciés qui ont été mis en évidence. Il est donc nécessaire de les classer à part.

Les ensembles constitués sont donc :

- Ensemble '**Sud**' = {Afrique du Sud, Europa Immatures Ponte, Juan de Nova Immatures ponte}.
- Ensemble '**Réunion**' = {la Réunion (individus sauvages), sud-ouest de Madagascar}.
- Ensemble '**Europa Ponte**' = {Europa Ponte}.
- Ensemble '**Alimentation canal**' = {Mayotte Alimentation, ouest de Madagascar Alimentation}.
- Ensemble '**Ponte Nord Canal**' = {Mayotte Ponte, Mohéli Ponte, Glorieuses Ponte, Tanzanie Ponte, Iranja Ponte}.
- Ensemble '**Cosmolédo**' = {Cosmolédo Ponte, Glorieuses Immatures ponte}.
- Ensemble '**Tromelin**' = {Tromelin Ponte, Tromelin 88-92, Aldabra Immatures ponte}.
- Ensemble '**Polynésie**' = {Polynésie française}.

Les 7 ensembles du sud-ouest de l'océan Indien sont représentés sur la carte de la **Figure 3-12**. En plus de ces ensembles nettement différenciés, des groupes communs à plusieurs ensembles ont été mis en évidence : 'Juan de Nova Ponte', 'Tanzanie Alimentation', 'Aldabra Ponte', et 'Madagascar Nord-Ouest'.



**Figure 3-12** : Carte bilan de la différenciation dans la zone d'étude de 7 ensembles de tortues à partir des données mitochondriales.

<b>Fst RH1000</b>	<b>EUR-ImP</b>	<b>JDN-BB</b>	<b>MAY-Ponte</b>	<b>MOH-Ponte</b>	<b>MAY-Alim</b>	<b>GLO-ImP</b>	<b>GLO-Ponte</b>	<b>IRA-Ponte</b>	<b>COS-Ponte</b>	<b>TRO-Ponte</b>	<b>TRO 88-92</b>	<b>TAN</b>	<b>JDN-ImP</b>
<b>EUR-ImP</b>		0,03975	0,00657	0,0058	0,00575	0,00994	0,00366	0,01679	0,00618	0,00343	0,00706	0,00137	-0,02188
<b>JDN-BB</b>	0,03975		0,03342	0,03365	0,02775	0,03142	0,01827	0,02318	0,03003	0,03303	0,01875	0,02574	0,00815
<b>MAY-Ponte</b>	0,00657	0,03342		0,00368	0,00077	-0,00055	0,00145	0,00491	0,00199	0,0025	0,00117	-0,00174	-0,01132
<b>MOH-Ponte</b>	0,0058	0,03365	0,00368		0,00475	0,00816	0,00292	-0,00382	0,00424	0,00338	0,00967	0,00131	-0,00886
<b>MAY-Alim</b>	0,00575	0,02775	0,00077	0,00475		-0,00151	0,00276	0,00215	0,00355	0,00487	0,00404	-0,00165	-0,00612
<b>GLO-ImP</b>	0,00994	0,03142	-0,00055	0,00816	-0,00151		0,00325	0,00995	0,00222	0,00503	0,00415	-0,00054	0,00547
<b>GLO-Ponte</b>	0,00366	0,01827	0,00145	0,00292	0,00276	0,00325		-0,00387	0,00349	0,0036	0,00708	-0,00105	-0,01444
<b>IRA-Ponte</b>	0,01679	0,02318	0,00491	-0,00382	0,00215	0,00995	-0,00387		0,00805	-0,0046	-0,00189	0,00243	0,0057
<b>COS-Ponte</b>	0,00618	0,03003	0,00199	0,00424	0,00355	0,00222	0,00349	0,00805		0,00141	0,00445	0,00006	0,00251
<b>TRO-Ponte</b>	0,00343	0,03303	0,0025	0,00338	0,00487	0,00503	0,0036	-0,0046	0,00141		0,0036	-0,0004	-0,01623
<b>TRO 88-92</b>	0,00706	0,01875	0,00117	0,00967	0,00404	0,00415	0,00708	-0,00189	0,00445	0,0036		0,00202	-0,00091
<b>TAN</b>	0,00137	0,02574	-0,00174	0,00131	-0,00165	-0,00054	-0,00105	0,00243	0,00006	-0,0004	0,00202		-0,00387
<b>JDN-ImP</b>	-0,02188	0,00815	-0,01132	-0,00886	-0,00612	0,00547	-0,01444	0,0057	0,00251	-0,01623	-0,00091	-0,00387	
<b>effectif</b>	<b>24</b>	<b>8</b>	<b>42</b>	<b>31</b>	<b>61</b>	<b>27</b>	<b>41</b>	<b>7</b>	<b>28</b>	<b>80</b>	<b>19</b>	<b>15</b>	<b>5</b>

**Tableau 3-11** : Valeurs calculées de l'estimateur de **Robertson & Hill (1984)** de l'indice de fixation Fst. Tests par paire sur permutations (1000 répétitions) réalisés pour les 13 groupes étudiés. Les valeurs surlignées en bleu correspondent aux tests significatifs.

## ***B. A partir des données microsatellites***

Dans cette section, 13 groupes ont été étudiés. Ils correspondent aux groupes analysés lors de l'étude de la diversité allélique (**Chapitre 3II.B**).

### **1. Analyse des *Fst* et détermination des ensembles.**

De la même façon que pour les données mitochondriales, des tests par paire sur permutation (1000 répliques) ont été effectués sur les 13 groupes étudiés. Cette fois, l'estimateur de *Fst* utilisé est celui de **Robertson & Hill (1984) RH** du fait des faibles valeurs de *Fst* observées ( $Fst < 0,10$ ) pour ces groupes. L'estimateur de **Raufaste & Bonhomme (2000) RH'** devrait être le mieux adapté à notre jeu de données puisqu'il est également non biaisé pour de faibles valeurs de *Fst*. Cependant, avec cet estimateur, plusieurs valeurs calculées de *Fst* sont aberrantes ( $Fst \gg 1$ ), nous avons donc choisi l'estimateur **RH** qui doit exprimer une variance plus faible que celle de l'estimateur de **Weir & Cockerham (1984) WC** pour de faibles valeurs de *Fst*.

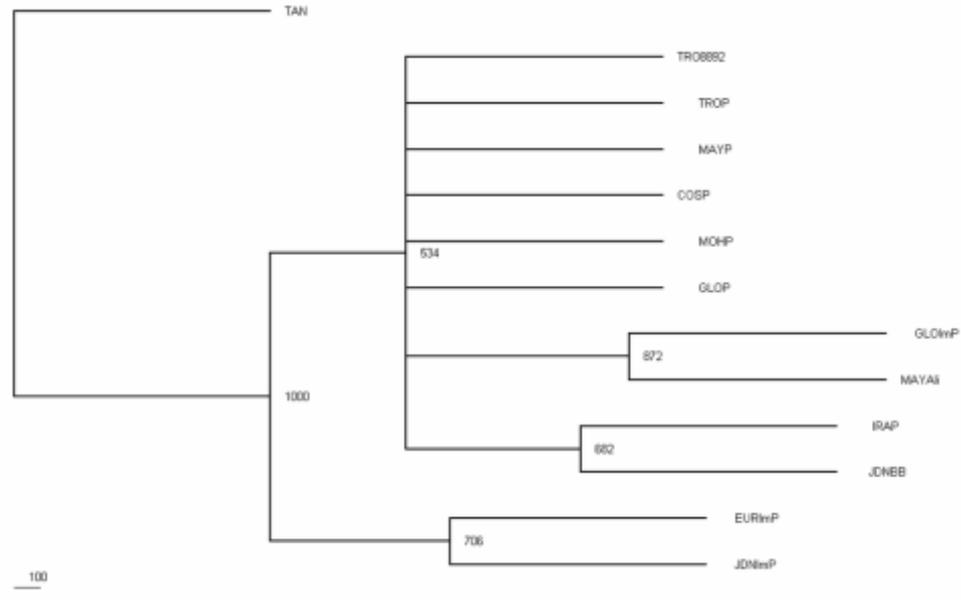
Sur les 78 tests réalisés, 36 sont non significatifs et les 42 tests significatifs restants montrent tous une faible différenciation entre les deux groupes considérés (**Tableau 3-11**). En effet, la moyenne des valeurs observées est de 0,012 avec des valeurs extrêmes de 0,003 (entre 'Tromelin Ponte' et 'Mayotte Ponte') et 0,040 (entre 'Juan de Nova Emergentes 1/nid' et 'Europa Immatures Ponte'). Sur les 36 tests non significatifs, 21 concernent les groupes 'Juan de Nova Immatures Ponte' et 'Tanzanie'. Ces deux entités ont été considérées comme des groupes communs, pouvant appartenir à plusieurs ensembles différents. Ils n'ont donc pas été pris en compte dans la détermination des ensembles de groupes (encadrés sur la **Figure 3-13**). Sur une carte (**Figure 3-13**), les 15 tests non significatifs ont été représentés sous forme de lien rectiligne entre les deux groupes concernés. Trois ensembles ont ainsi été mis en évidence, en plus des deux groupes communs :

- Les immatures d'Europa.
- Les émergentes (1/nid) de Juan de Nova.
- Les 9 autres groupes : l'ensemble central.

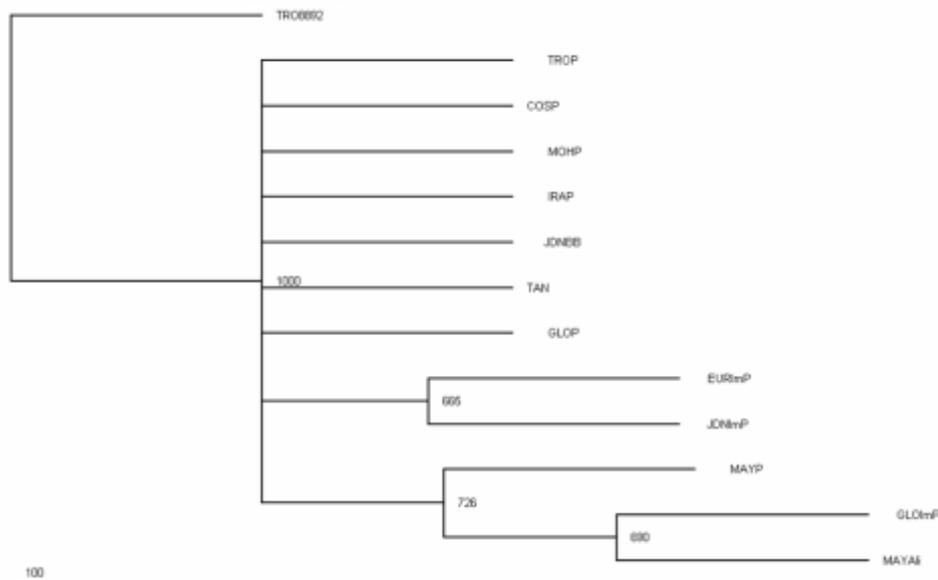


*Figure 3-13 : Carte synthétisant les résultats des tests sur Fst et des ensembles de groupes de tortues vertes mis en évidence à partir des données microsatellites.*

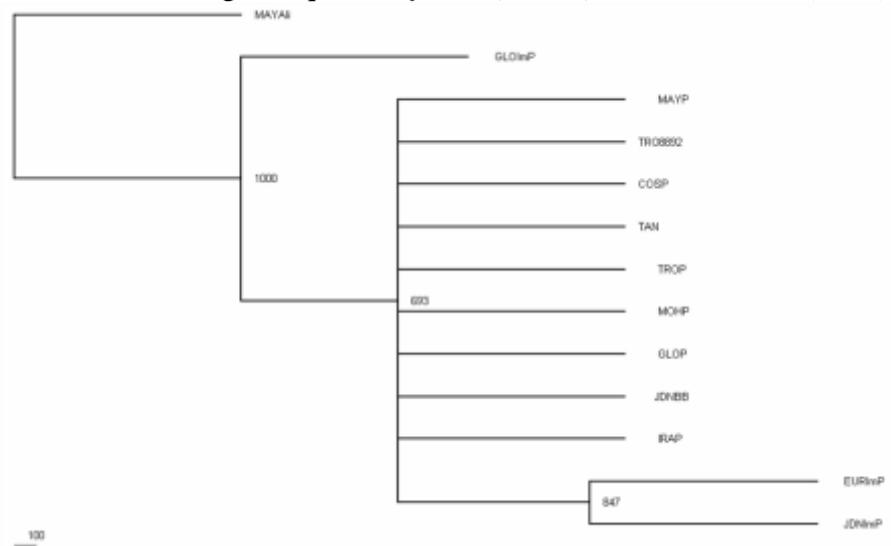
a) estimateur de la distance génétique : **Nei (1972)**.



b) estimateur de la distance génétique : **Cavalli-Sforza & Edwards (1967)**.



c) estimateur de la distance génétique : **Reynolds, Weir, & Cockerham (1983)**.



**Figure 3-14** : Arbres phylogénétiques consensus obtenus à l'aide du logiciel Phylip (1000 bootstraps) à partir de trois estimateurs de la distance génétique.

## 2. Arbre phylogénétique.

A l'aide du logiciel Phylip, des arbres phylogénétiques consensus ont été construits (1000 bootstraps), à partir des 3 estimateurs de la distance génétique disponibles : **Nei (1972)** ; **Cavalli-Sforza & Edwards (1967)** ; et **Reynolds, Weir, & Cockerham (1983)**. Les deux derniers supposent l'absence de phénomène de mutation, les changements de fréquences alléliques seraient alors dus uniquement à la dérive génétique.

Les 3 arbres ont en commun l'existence d'un ensemble central et la différenciation d'un ensemble constitué des immatures en alimentation à Europa et à Juan de Nova (**Figure 3-14**). Suivant l'estimateur considéré, d'autres ensembles se détachent. Cependant, ces ensembles ne correspondent pas à ceux mis en évidence à partir des tests sur les *Fst*.

Aucun des arbres phylogénétiques n'étant en réelle contraction avec les résultats obtenus à partir des *Fst*, nous considérerons uniquement les ensembles de groupes génétiquement différenciés mis en évidence par les *Fst* et représentés sur la **Figure 3-13**. Le fait que le test sur l'indice *Fst* entre les tortues en ponte à Europa et les tortues de Tanzanie ne soit pas significatif, alors que les tortues en ponte à Europa diffèrent significativement de tous les autres groupes, est étonnant. Cela est peut-être dû au fait que le groupe des tortues de Tanzanie est un groupe composé d'individus en ponte et d'autres en alimentation, prélevés sur différents sites de la Tanzanie. Le caractère 'commun' des immatures de Juan de Nova résulte quant à lui certainement de son très faible effectif.

### *C. Discussion sur la différenciation génétique*

La différenciation des groupes est plus beaucoup plus faible à partir des données microsatellites. Cela peut résulter d'une forte philopatrie des femelles. En outre, il peut s'agir de la conséquence du plus grand nombre de groupes (et plus éloignés en termes de distance géographique) analysés dans l'étude de l'ADNmt.

Par ailleurs, les études de **Meylan et al. (1990)** et de **Allard et al. (1994)** avaient apporté des éléments en faveur de l'hypothèse de la philopatrie au détriment de celle de la facilitation sociale. Nos résultats, à l'instar de ceux de toutes les autres études portant sur la structure des populations, sont en accord avec cette hypothèse de philopatrie, qui se retrouve en outre chez les autres espèces de tortues marines. Cependant, cette philopatrie n'est pas absolue, des changements de sites ont été observés grâce au marquage (Monel Tag) de femelles de tortues vertes en ponte (**Le Gall & Hughes, 1987**), mais ceux-ci semblent très rares. Par ailleurs, les tests d'assignation semblent plus puissants pour détecter les phénomènes de philopatrie. Ainsi, dans l'étude de **Lee et al. (2007)**, si aucune structure génétique n'avait pu être mise en évidence par l'étude des *Fst*, les probabilités d'assignation démontraient qu'une tortue avait significativement plus de chances d'être issue du site dans lequel on l'avait trouvée que d'un autre. Et ce, même si on ne pouvait exclure aucun des sites étudiés de la liste des origines potentielles selon les critères des tests d'assignation. Ici, le phénomène de philopatrie, mis en évidence par les tests d'assignation, n'était donc pas suffisant pour entraîner une différenciation génétique significative des 3 plages de l'île de l'Ascension étudiées.

Au niveau de l'ADNmt, les 7 ensembles mis en évidence dans la région sont globalement en accord avec les résultats de **Bourjea et al. (2007)** qui avaient différencié 4 ensembles :

- Les femelles en pontes à Europa.
- Les femelles en pontes à Juan de Nova.
- Les femelles en pontes aux Seychelles (dont Cosmolédo).
- Les femelles en pontes dans les autres sites, dont Tromelin.

Le seul point divergeant concerne les femelles en ponte à Tromelin, qui dans cette étude ont pu être différenciées des femelles pondant dans les autres sites du nord du canal du Mozambique. Cependant, cela peut être dû au fait que dans cette étude 89 échantillons ont été analysés, contre 44 pour **Bourjea et al. (2007)**.

Les campagnes de marquage-recapture réalisées par **Le Gall & Hughes (1987)** avaient montré que les tortues en ponte à Europa semblaient s'alimenter dans l'ouest et le sud-est de Madagascar, ainsi que dans les Mascareignes et le Mozambique. Ceci est en accord avec nos résultats sur la différenciation des populations, puisque, bien que les femelles d'Europa soient génétiquement isolées des autres groupes, elles présentent bien une certaine affinité avec les tortues de ces zones d'alimentation. Cela constitue également une hypothèse sur l'origine des tortues porteuses de CM8 et de C4 de la Réunion. De la même façon, **Le Gall & Hughes (1987)** supposent que les tortues en ponte à Tromelin s'alimentent dans l'est de Madagascar, les Mascareignes, St Brandon, mais aussi le nord-ouest de Madagascar. Ceci est en accord avec la structure génétique mise en évidence dans cette étude et la présence d'individus porteurs de C3 en 2007 à la Réunion (cf. **chapitre 4**).

Le caractère 'commun' des femelles en ponte à Juan de Nova vis-à-vis de l'ADNmt pourrait résulter de la position centrale de ce site, au niveau du point d'inflexion du cline génétique (cf. **Chapitre 3III.B**). Cependant, il est probable que cela soit simplement la conséquence du très faible nombre d'échantillons de ce groupe, les deux hypothèses n'étant pas incompatibles. En revanche, l'effectif ne peut expliquer totalement la très faible différenciation des groupes 'Tanzanie' et 'Aldabra Ponte'. De même, l'effectif n'explique pas la non différenciation génétique (microsatellites) des immatures de Juan de Nova, alors que les émergentes sont également très peu nombreuses.

En combinant les données mitochondriales et microsatellites, 9 ensembles sont mis en évidence. Ils sont présentés dans le **Tableau 3-12**. Les ensembles 7 et 8 ont une composition assez intéressante, comprenant à la fois des femelles en ponte et des immatures en alimentation dans un site proche. Cet aspect sera étudié en détail dans le **chapitre 4** quand nous aborderons l'influence de 'l'âge' (immatures, adultes) sur la structure des populations. Mais, nous pouvons d'ores et déjà supposer que ces immatures s'alimentant sur un site de ponte deviendront des adultes qui iront pondre sur un autre site. Les autres ensembles mixtes sont issus du regroupement d'individus en alimentation et d'individus dont on ignore l'activité (individus morts). Il est intéressant de constater que les autres ensembles sont constitués d'une seule catégorie d'individus (ponte ou alimentation), hormis les groupes communs.

N°	Nom de l'ensemble	Composition
1	Sud	AFS ; <b>EUR-ImP</b> ; <b>JDN-ImP</b> ; <i>JDN-Ponte</i>
2	Réunion	RUN-Sauv ; MAD S-O ; <i>JDN-Ponte</i>
3	Europa Ponte	EUR-Ponte
4	Alimentation Canal	MAD O –Alim ; <b>MAY-Alim</b> ; <b>JDN-Ponte</b> ; <i>ALD-Ponte</i> ; <i>TAN-Alim</i> ; <i>MAD N-O</i>
5	Ponte Nord Canal	<b>MAY-Ponte</b> ; <b>GLO-Ponte</b> ; <b>TAN-Ponte</b> ; <b>IRA-Ponte</b> ; <i>JDN-Ponte</i> ; <i>TAN-Alim</i> ; <i>MAD N-O</i>
6	Mohéli Ponte	<b>MOH-Ponte</b>
7	Cosmolédo	<b>COS-Ponte</b> ; <b>GLO-ImP</b> ; <i>JDN-Ponte</i> ; <i>ALD-Ponte</i> ; <i>TAN-Alim</i> ; <i>MAD N-O</i>
8	Tromelin	<b>TRO-Ponte</b> ; <b>TRO 88-92</b> ; <b>ALD-ImP</b> ; <i>ALD-Ponte</i> ; <i>TAN-Alim</i> ; <i>MAD N-O</i>
9	Polynésie	POL

**Tableau 3-12** : Liste des 8 ensembles génétiquement différenciés mis en évidence dans le sud-ouest de l'océan Indien, à partir des données mitochondriales et microsatellites.

Les groupes en **gras** ont fait l'objet à la fois d'une analyse mitochondriale et microsatellite, et les groupes en *italique* sont communs à plusieurs ensembles.

Neuf ensembles ont été mis en évidence dans la région. Cependant, les ensembles 1 et 4 ne sont composés que de groupes d'individus en alimentation (hors groupes communs), ils ne peuvent donc pas être considérés comme des populations à proprement parlé puisqu'ils ne peuvent pas se reproduire seuls. A partir de ces 9 ensembles génétiquement différenciés, on peut donc mettre en évidence au moins 6 populations distinctes dans le sud-ouest de l'océan Indien :

- **La Réunion.**
- **Europa.**
- **Juan de Nova.**
- **Le nord du canal du Mozambique** : Mayotte, Glorieuses, Tanzanie, Iranja, Mohéli.
- **Cosmolédo.**
- **Tromelin.**

Le fait que des ensembles d'individus en alimentation se différencient génétiquement des ensembles de femelles en ponte semble indiquer que ces ensembles sont issus de l'association de tortues appartenant à des populations différentes (cf. **Chapitre 4**). Il n'est donc pas possible de les associer avec certitude à l'une ou l'autre des 6 populations mises en évidence.

## V. Conclusions du chapitre

Les analyses des données mitochondriales et microsatellites montrent que les protocoles d'analyse génétique mis au point dans cette étude sont opérationnels. Ils ont permis de confirmer que le meilleur mode de conservation à long terme d'échantillons de tissu est : dans une solution de 20% DMSO saturée en sel avec stockage au congélateur. De plus, les loci microsatellites ayant les meilleurs rendements sont Cm3, Cm58, Cc7, ainsi que Cm72. Les protocoles d'analyse des loci Cm84 et Cc117 doivent être améliorés (nouveau couple d'amorces). On observe un manque d'hétérozygotie dans nos effectifs, indiquant la présence possible d'allèles nuls.

Les populations du sud-ouest de l'océan Indien montrent plusieurs particularités :

Tout d'abord, ces populations présentent une très forte diversité génétique provenant à la fois de la rencontre entre des haplotypes issus d'origines très diverses (3 clades bien distincts dont un d'origine Atlantique), mais aussi de la présence de 15 nouveaux haplotypes, spécifiques à la région, également très diversifiés, qui font de la région une zone originale. Par ailleurs, bien que n'étant pas exceptionnelle, la richesse génétique (ADNmt et microsatellites) de la région est également importante. Le sud-ouest de l'océan Indien joue donc un rôle stratégique dans la diversité génétique globale de l'espèce.

La région constitue également une des deux seules zones connues de contact entre les métapopulations de l'Atlantique-Méditerranée et de l'Indo-Pacifique, et la seule dans le sens Atlantique→Indo-Pacifique. Le sud-ouest de l'océan Indien n'est donc pas une zone fermée ou ne l'a pas été dans un passé récent. Ce contact a engendré la formation d'un cline génétique (fréquences de C3 et CM8) le long du canal du Mozambique. L'aspect dynamique de ce cline sera abordé dans le **chapitre 4**, afin de déterminer si la région est en équilibre, ou si la colonisation de la région par CM8 va continuer. De plus, la région est la seule zone où on a pu prouver que les tortues immigrantes commençaient à diverger génétiquement de leurs populations d'origines.

Le sud-ouest de l'océan Indien est également la seule zone où l'on a pu mettre en évidence l'existence d'échanges génétiques, d'un mélange entre les deux métapopulations, ainsi qu'entre les tortues porteuses d'haplotypes appartenant aux clades 'C3' et 'A2'. Le sud-ouest de l'océan Indien est donc une zone de mélange. L'existence de ces échanges génétiques montre que les deux métapopulations de la tortue verte ne constituent pas des sous-espèces. La région constitue donc bien une zone de brassage génétique à l'échelle de l'espèce.

Les résultats obtenus lors de l'étude de la différenciation des populations montrent l'existence de 8 ensembles génétiquement différenciés dans la zone, soit au niveau de l'ADNmt, soit des microsatellites, soit des deux à la fois. La Polynésie française constitue un neuvième ensemble. Tout en confirmant l'importante diversité génétique globale de la région, ces ensembles indiquent une diversité intra-région très importante. Ce qui aura des conséquences au niveau de la gestion et de la conservation de la diversité génétique de la région. Le sud-ouest de l'océan Indien n'est pas une zone uniforme.

Six populations distinctes ont pu être mises en évidence dans la région : les tortues se reproduisant respectivement (1) à la Réunion, (2) à Europa, (3) à Juan de Nova, (4) dans le nord du canal du Mozambique (Mayotte, Glorieuses, Tanzanie, Iranja, Mohéli), (5) à Cosmolédo, et enfin (6) à Tromelin.

On connaissait l'importance des populations de tortues vertes du sud-ouest de l'océan Indien en termes de démographie pour l'espèce, dorénavant on sait que cette région joue un rôle important non seulement dans la diversité globale de l'espèce mais aussi dans le maintien de cette diversité.



*Chapitre 4 : Influence des facteurs  
intrinsèques et extrinsèques sur la  
structure des populations*



## Chapitre 4 : Influence des facteurs intrinsèques et extrinsèques sur la structure des populations

L'objectif de ce chapitre est d'étudier d'éventuels liens de corrélation entre la diversité et la différenciation génétiques observées dans le sud-ouest de l'océan Indien et plusieurs facteurs, intrinsèques ou extrinsèques. Il ne s'agit pas d'une étude exhaustive de tous les facteurs possibles, mais de rechercher des pistes permettant d'expliquer certaines caractéristiques génétiques de la zone d'étude. L'objectif de la section **III** constitue une application à un cas réel : les tortues de la Réunion, afin de mieux comprendre les facteurs ayant pu influencer le 'retour' de tortues vertes autour de l'île.

En raison du grand nombre de facteurs étudiés et afin de faciliter la lecture, les paragraphes de discussion ont été placés dans chaque section de résultats.

### I. Influence des facteurs explicatifs intrinsèques étudiés

Les deux facteurs intrinsèques qui sont abordés dans cette section sont : le 'sexe-âge' et l'activité de l'individu. Le terme 'sexe-âge' fait référence à la distinction : immatures, femelles, mâles.

#### A. Influence du 'sexe-âge' de l'individu :

Afin d'étudier ce facteur, les groupes ont été reformés en prenant en compte le stade de développement (immatures, adultes) et le sexe des adultes. Des tests sur l'indice *F<sub>st</sub>* ont alors été réalisés, à partir des données mitochondriales (valeurs supérieures) en utilisant l'estimateur *WC* de **Weir & Cockerham (1984)**, et à partir des données de 4 loci microsatellites (valeurs inférieures) en utilisant l'estimateur *RH* de **Robertson & Hill (1984)**. Les valeurs de *F<sub>st</sub>* obtenues sont présentées dans le **Tableau 4-1**.

#### 1. Différences entre la structure génétique des femelles et celle des mâles

Dans les deux sites d'alimentation d'adultes étudiés, on n'observe pas de différence génétique significative entre les femelles et les mâles (**Tableau 4-1**), et ce quel que soit le marqueur utilisé (ADNmt ou microsatellites). Il semblerait que les femelles et les mâles s'alimentent dans chacun de ces deux sites, appartiennent au même ensemble génétique. Notre étude ne permet donc pas de mettre en évidence une quelconque différence dans la structuration génétique des mâles et des femelles lors de la phase d'alimentation. Or, dans l'étude portant sur un site d'alimentation du Nicaragua, **Bass et al. (1998)** avaient pu mettre en évidence une tendance (bien que non significative) concernant les colonies (sites de pontes) d'origine des femelles et des mâles s'alimentant sur ce site. Ces auteurs attribuaient cette différence à des comportements migratoires distincts entre les deux sexes. Il est donc possible que contrairement aux tortues du Nicaragua, il n'y ait pas de différence dans le comportement migratoire des mâles et des femelles dans le sud-ouest de l'océan Indien. Mais, il est également possible que, n'étant par ailleurs pas significatifs, les résultats de **Bass et al. (1998)** soient dus au hasard des échantillonnages et que les tortues du Nicaragua ne présentent pas non plus de différence entre mâles et femelles.

Fst WC1000	EUR-ImP	EUR-Ponte	JDN-ImP	JDN-Ponte	MAD O - Alim-I	MAD O - Alim-F	MAD O - Alim-M	MAY-Alim-I	MAY-Alim-F	MAY-Alim-M	GLO-ImP	GLO-Ponte	ALD-ImP	ALD-Ponte	TAN-Alim-I
Fst RH1000															
EUR-ImP		0,14933	-0,02138	-0,01177	0,07646	0,25154	-0,01492	0,21485	0,2239	0,0926	0,1485	0,3936	0,34458	0,21064	
			-0,01257	0,03975				0,0099	0,01996	0,00852	0,01063	0,00366			0,02442
EUR-Ponte	0,14933		0,19025	0,3661	0,42851	0,62919	0,33445	0,55031	0,5749	0,42921	0,51081	0,71998	0,65715	0,57793	
JDN-ImP	-0,02138	0,19025		-0,03702	0,04562	0,21895	-0,03796	0,18521	0,19965	0,06458	0,13576	0,38569	0,32855	0,19735	
	-0,01257			0,00815				0,00343	0,01107	0,00033	0,00645	-0,01222			0,00029
JDN-Ponte	-0,01177	0,3661	-0,03702		-0,07053	0,06966	-0,07388	0,04132	0,06043	-0,03773	0,03924	0,33237	0,1893	0,08127	
	0,03975		0,00815					0,02625	0,02411	0,02109	0,03142	0,01827			0,01165
MAD O - Alim-I	0,07646	0,42851	0,04562	-0,07053		0,03069	-0,00677	0,0196	0,02909	-0,01931	0,03324	0,16404	0,11289	0,04816	
MAD O - Alim-F	0,25154	0,62919	0,21895	0,06966	0,03069		0,14536	-0,01281	-0,01076	0,03289	0,05599	0,01978	-0,00645	0,0394	
MAD O - Alim-M	-0,01492	0,33445	-0,03796	-0,07388	-0,00677	0,14536		0,11617	0,12302	-0,00335	0,04207	0,41077	0,27368	0,11536	
MAY-Alim-I	0,21485	0,55031	0,18521	0,04132	0,0196	-0,01281	0,11617		-0,01583	0,01599	0,02325	0,04811	0,01467	0,00615	
	0,0099		0,00343	0,02625					0,00816	0,00281	-0,00007	0,00339			0,00633
MAY-Alim-F	0,2239	0,5749	0,19965	0,06043	0,02909	-0,01076	0,12302	-0,01583		0,01557	0,00996	0,04443	0,00356	-0,01211	
	0,01996		0,01107	0,02411				0,00816		0,00453	0,00716	0,00709			0,01549
MAY-Alim-M	0,0926	0,42921	0,06458	-0,03773	-0,01931	0,03289	-0,00335	0,01599	0,01557		0,01006	0,13845	0,09262	0,0265	
	0,00852		0,00033	0,02109				0,00281	0,00453		0,00313	0,00192			0,00268
GLO-ImP	0,1485	0,51081	0,13576	0,03924	0,03324	0,05599	0,04207	0,02325	0,00996	0,01006		0,14446	0,08007	-0,02003	
	0,01063		0,00645	0,03142				-0,00007	0,00716	0,00313		0,00325			0,00774
GLO-Ponte	0,3936	0,71998	0,38569	0,33237	0,16404	0,01978	0,41077	0,04811	0,04443	0,13845	0,14446		-0,00466	0,10448	
	0,00366		-0,01222	0,01827				0,00339	0,00709	0,00192	0,00325				0,00256
ALD-ImP	0,34458	0,65715	0,32855	0,1893	0,11289	-0,00645	0,27368	0,01467	0,00356	0,09262	0,08007	-0,00466		0,03748	
ALD-Ponte	0,21064	0,57793	0,19735	0,08127	0,04816	0,0394	0,11536	0,00615	-0,01211	0,0265	-0,02003	0,10448	0,03748		
TAN-Alim-I															
	0,02442		0,00029	0,01165				0,00633	0,01549	0,00268	0,00774	0,00256			
Effectif	39	112	24	7	28	13	6	54	38	41	29	15	48	27	
	27		8	8				14	14	22	29	41			6

**Tableau 4-1** : Valeurs de l'indice *Fst* obtenues lors de tests par paire (1000 permutations) et effectifs des groupes analysés.

Valeurs supérieures = à partir des données mitochondriales (estimateur de **Weir & Cockerham, 1984**).

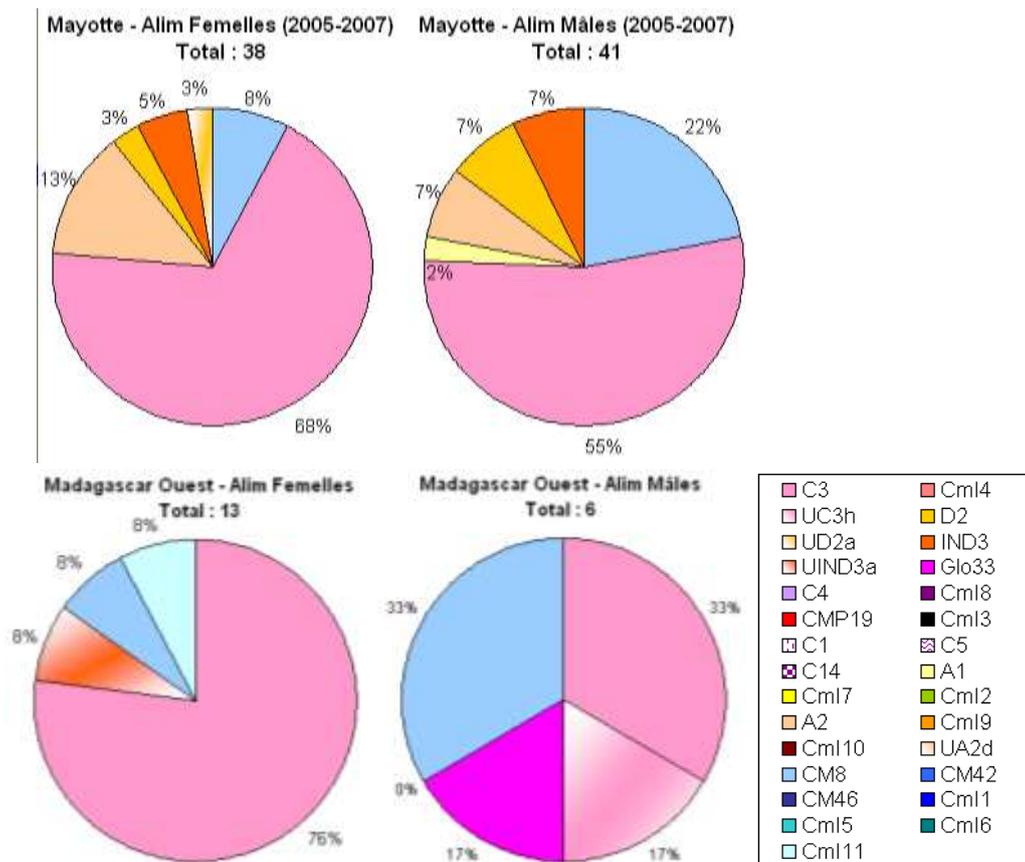
Valeurs inférieures = à partir des données microsatellites (estimateur de **Robertson & Hill, 1984**).

Les valeurs surlignées correspondent aux tests significatifs.

couples testés	ADNmt Fst WC1000	Microsatellites (4 loci) Fst RH1000
Ouest Madagascar- Alimentation Femelles/Mâles	non Significatif	
Mayotte- Alimentation Femelles/Mâles	non Significatif	non Significatif

**Tableau 4-2 :** Résultats des tests sur *Fst* pour les paires Femelles/Mâles des groupes de tortues en alimentation. Colonne de gauche : à partir des données mitochondriales (estimateur de **Weir & Cockerham, 1984**) ; colonne de droite : à partir des données microsatellites (estimateur de **Robertson & Hill, 1984**).

Le nombre d'échantillons de mâles et de femelles en alimentation à Madagascar qui ont été collectés est très faible, du fait de la très faible proportion d'adultes présents au niveau de ces sites. Ces faibles effectifs pourraient expliquer la non significativité du test *Fst* réalisé. Les compositions haplotypiques (**Figure 4-1**) des femelles et des mâles en alimentation dans l'ouest de Madagascar (en bas) semblent différer, contrairement à celles des tortues de Mayotte (en haut). Il est toutefois impossible de savoir si cette situation est due au hasard de l'échantillonnage ou à une réelle divergence génétique.



**Figure 4-1 :** Compositions haplotypiques des mâles (à droite) et des femelles (à gauche) en alimentation à Mayotte (en haut) et dans l'ouest de Madagascar (en bas).

Par ailleurs, on remarque que sur l'ensemble des tests réalisés sur l'indice *Fst*, le pourcentage de tests non significatifs est plus important pour les données microsatellites (36 tests sur 78, soit 46,2%) que pour l'ADNmt (109 tests sur 253, soit 43,1%). Ces résultats doivent être considérés avec prudence du fait de l'absence des femelles en ponte à Europa dans le jeu de données microsatellites, car elles constituent une source potentielle de différenciation. Cependant même si l'on ne considère que les sites communs aux analyses de ces deux types de marqueurs, on constate une plus faible différenciation pour les données microsatellites. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans d'autres études à travers le monde (Karl et al., 1992 ; Fitzsimmons et al., 1997a ; Roberts et al., 2004 ; Naro-Maciel et al., 2007). Lee et al. (2007) obtiennent des résultats similaires, mais ceux-ci pourraient s'expliquer par un échantillonnage beaucoup plus faible des mâles (génotypes reconstitués à partir de ceux d'émergentes). Si cette plus faible différenciation par des marqueurs nucléaires indique avec certitude un flux de gènes par le mâle, elle n'implique pas forcément l'absence de philopatrie chez le mâle, ou une moindre philopatrie par rapport aux femelles. En effet, le mâle pourrait effectivement retourner sur son lieu de naissance, ou sur l'aire d'accouplement de sa population d'origine, et y concentrer ses activités reproductrices. Mais, des accouplements pourraient avoir lieu sur les sites d'alimentation ou lors des migrations génésiques, engendrant effectivement un flux de gènes, uniquement par le mâle. En effet, le problème ne se pose pas pour la femelle qui par définition pond sur la plage : les émergentes porteuses de son génotype naissent sur la plage de naissance de la femelle. Par contre, elle peut être le vecteur de génotypes de mâles avec lesquels elle se sera accouplée et qui sont originaires d'un autre site. Fitzsimmons et al. (1997) ont cherché à tester les deux hypothèses en comparant la composition haplotypique des mâles et des femelles en phase de reproduction dans trois aires d'accouplement. Leurs résultats sont en accord avec l'hypothèse de l'existence d'accouplements opportunistes dans les sites d'alimentation ou lors des migrations génésiques. La tortue verte mâle pourrait donc être aussi philopatride que la femelle. N'ayant pas pu collecter d'échantillons issus de mâles en phase de reproduction, il nous a été impossible de tester ces hypothèses au cours de la thèse.

## 2. Etude de la paternité

Lors des analyses concernant la paternité, nous nous sommes heurtés à deux problèmes. Premièrement, dans certains sites comme Nosy Iranja, les conditions de stockage des échantillons étaient assez mauvaises, et pour presque tous les échantillons, il n'y a eu aucune amplification des loci microsatellites. Pour les autres nids, un deuxième problème s'est posé : l'analyse à l'aide du logiciel Gerud montrait que les échantillons d'un même lot ne pouvaient pas être issus de la même mère. La première explication qui vient à l'esprit est qu'au moment de l'échantillonnage, des individus provenant de plusieurs nids proches et ayant émergés en même temps, aient été placés dans le même lot. En effet, dans le cas d'un des nids de Tromelin, le fait de retirer certains individus permet d'obtenir des résultats. Pourtant il semble que ce ne soit pas le seul facteur qui intervienne, puisqu'en ne prenant en compte que deux loci dans le cas de deux nids d'Europa, Gerud parvient également à estimer le génotype d'une mère unique. Il se pourrait donc que les arrondis effectués lors de la détermination de la taille des allèles microsatellites puissent entraîner des divergences entre les génotypes des émergentes qui n'existent pas en réalité. Une solution serait, nid par nid, de comparer les allèles pour chaque locus afin d'identifier d'éventuels problèmes d'arrondis ou des émergences issus d'un autre nid. Ces analyses sont en cours et feront l'objet d'une publication ultérieure, cependant quelques résultats préliminaires sont présentés et discutés ci-dessous.

Les résultats des études précédentes concernant le phénomène de multipaternité chez la tortue verte diffèrent beaucoup, de manière significative ou non, d'une étude à l'autre, et notamment en fonction du lieu d'étude (**Moore & Ball, 2002** ; **Ireland et al., 2003**). Nos premiers résultats présentent un nombre de pères minimal de 2 pour le nid n°1 de Tromelin avec 6 configurations possibles et de 4 (avec 33 possibilités) pour le nid n°2 d'Europa. Ce qui est en accord avec les résultats de l'étude de Parker et al. (1996, cité par **Pearse & Avise, 2001**), qui démontrent qu'une large part des nids étudiés présente une multipaternité, tout comme **Ireland et al. (2003)** avec 3 nids sur 3 ou **Peare et al. (1994)** avec 2 nids sur 2 (4 et 3 pères différents). Cependant, **Fitzsimmons (1998)** ne met en évidence une paternité partagée que pour moins de 10% des nids. Peare & Parker (1994, cité par **Pearse & Avise, 2001**) et **Fitzsimmons (1996)** ont des résultats mitigés : 50% et moins de 40% respectivement.

Par ailleurs, les contributions des différents pères possibles pour ces deux nids sont relativement équilibrées. Pour le nid de Tromelin, les deux contribuent au nid dans des proportions de 1/3-2/3 ou 50-50. Pour le nid d'Europa, la plus forte contribution ne dépasse pas 44%. Ces résultats sont étonnants, car la plupart des études précédentes montrent l'existence d'un père hautement majoritaire (Peare & Parker, 1994 ; **Fitzsimmons, 1996** ; **Fitzsimmons, 1998**). En effet, dans le cas de l'étude de **Fitzsimmons (1996)** moins de 5% des tortues d'un nid étaient issues d'un des mâles supplémentaires. Ce relativement faible taux de multipaternité observé chez une espèce considérée comme promiscuitaire est assez étonnant (**Fitzsimmons, 1996** ; **Fitzsimmons, 1998**). Plusieurs explications ont été avancées : la présence d'allèles nuls due notamment à la mutation des séquences flanquantes ; ou le taux de mutation très important pour les microsatellites (supérieur à  $10^{-3}$ ) favorisant l'apparition de génotypes mutants qui faussent les statistiques d'analyse, et rendent nécessaire l'étude en parallèle de plusieurs loci (**Fitzsimmons, 1996**). Mais il peut tout simplement être la conséquence d'un faible nombre d'accouplements multiples, à cause du sex-ratio opérationnel, de comportements de compétition entre les mâles, de choix de la part des femelles ou d'une période restreinte de réceptivité des femelles (**Fitzsimmons, 1998**). Enfin, un phénomène de compétition du sperme des différents mâles, influencé par la durée et le moment de l'accouplement, peut aboutir à une préférence pour le premier mâle pouvant aller jusqu'à l'exclusivité (**Fitzsimmons, 1998**). Quand à **Ireland et al. (2003)**, ils évoquent la possibilité d'une distorsion de ségrégation. Le principe de ce phénomène est que la femelle choisit les gamètes qui féconderont ses œufs en fonction de la distance génétique entre l'allèle maternelle et celui du gamète, ce choix engendrait la prédominance d'un des génotypes paternels.

### **3. La structure des populations d'immatures diffère de celle des adultes**

Dans un premier temps on cherche à identifier d'éventuelles divergences génétiques entre les immatures et les autres catégories d'individus d'un même site. On constate que dans la majorité des cas (11 tests sur 15 soit 73%), les immatures ne diffèrent pas significativement des autres individus d'un site (**Tableau 4-3**). Ceci est en accord avec l'hypothèse selon laquelle les immatures seraient elles aussi philopatrices, et choisiraient donc des sites de développement proche de leur site de naissance. Cette hypothèse est évoquée par **Naro-Maciél et al. (2007)**, qui ont étudié 2 sites d'alimentation brésiliens, et qui appuient leurs conclusions sur 3 éléments : (1) les 2 sites, très éloignés géographiquement, diffèrent génétiquement ; (2) les sites d'alimentation et de ponte proches présentent des similarités génétiques ; (3) ce sont les colonies les plus proches géographiquement qui contribuent le plus à un site d'alimentation. D'autres facteurs explicatifs, comme les courants océaniques,

peuvent expliquer en partie les structures génétiques observées. L'étude de **Revelles et al. (2007)** en Méditerranée montre que les courants et une certaine fidélité à une zone ou à un habitat étaient 2 facteurs pouvant agir de conserve. En effet, les tortues caouannes immatures, suivies par télémétrie satellitaire, se dispersaient passivement dans la région via les courants tout en restant fidèles à certaines zones spécifiques. **Bass et al. (2006)** obtiennent des résultats similaires lors de leur étude portant sur des tortues vertes immatures de l'océan Atlantique, à partir de l'étude de la région contrôlée de l'ADNmt. Ces auteurs soulignent également la difficulté de séparer la composante comportementale de l'influence des courants dans la répartition spatiale des immatures. L'influence des courants dans la dispersion des immatures est également évoquée par **Luke et al. (2004)**, la distance géographique n'étant pas suffisante pour expliquer les contributions observées des différentes agrégations d'immatures au site de ponte étudié.

Dans le cas de Mayotte, en plus de la différenciation significative des immatures et des femelles en alimentation au niveau des loci microsatellites (**Tableau 4-3**), on remarque que les femelles en ponte diffèrent aussi des femelles en alimentation, alors que les mâles ne présentent aucune différence significative. On pourrait penser que les immatures présentes à Mayotte deviennent dans le futur, les femelles en ponte et les mâles (résidents) de ce site, mais que des femelles pondant habituellement sur d'autres sites, viennent s'alimenter sur les herbiers de Mayotte. Ceci est en accord avec les résultats des campagnes de marquages (Monel Tag) réalisées qui montrent que les herbiers de l'île sont fréquentés par des femelles d'autres sites comme les Comores (**Frappier, 2006**). En fait, cette divergence génétique provient des femelles en ponte en hiver, car celles en ponte en été ne diffèrent pas significativement des immatures et des femelles en alimentation. Ceci explique l'absence de différenciation au niveau mitochondrial, puisqu'une grande partie des échantillons de femelles en ponte en hiver (provenant de **Bourjea et al., 2007**) ne faisaient pas partie du jeu de données mitochondriales de cette étude. Il est possible que les immatures en alimentation à Mayotte en 2004-2006 appartiennent à la même population que les femelles en ponte en été (2004-2006) sur l'île, qui serait différente de celle des femelles en ponte en hiver 2004 et des femelles en alimentation (2004-2006). L'intervalle entre deux saisons de ponte pour une femelle étant en moyenne de 3 ans à Mayotte (**Frappier, 2006**), on peut également penser que les femelles qui étaient en ponte à Mayotte en hiver 2004 (plage de Saziley) ont passé les deux années suivantes sur leurs sites d'alimentation, dont Mayotte (site de N'Gouja). Dans cette hypothèse, les tortues ayant pondu à Mayotte en 2004 et celles ayant pondu entre la fin de l'année 2004 et 2006 appartiendraient à des populations différentes. Ceci pourrait également expliquer la composition de certains ensembles génétiquement différenciés (cf. **chapitre 3**) comportant des femelles en ponte dans un site et des immatures en alimentation dans un autre site.

Les différences significatives observées au niveau mitochondrial et/ou microsatellite entre les immatures et les femelles en ponte à Europa et à Glorieuses indiquent que dans le cas de ces deux îles, les immatures présentes n'appartiendraient pas aux mêmes populations que les femelles en ponte. Par ailleurs, la richesse haplotypique moyenne observée chez les immatures s'alimentant sur les sites de ponte est très supérieure à celle des femelles en ponte (31 haplotypes pour 100 individus immatures contre 14 haplotypes pour 100 femelles). Ceci semble indiquer que les immatures présentes sur un site de ponte pourraient avoir des origines diverses et constituer ainsi des 'populations mixtes'. Ceci est en accord avec les résultats d'autres études (**Lahanas et al., 1998 ; Luke et al., 2004**) portant sur les agrégations de tortues immatures en alimentation.

couples testés	ADNmt Fst WC1000	Microsatellites (4 loci) Fst RH1000
Ouest Madagascar- Alimentation Immatures/Mâles	non Significatif	
Ouest Madagascar- Alimentation Immatures/Femelles	non Significatif	
Mayotte-Alimentation Immatures/Mâles	non Significatif	non Significatif
Mayotte-Alimentation Immatures/Femelles	non Significatif	<b>Significatif</b>
Mayotte- Immatures/Femelles ponte	non Significatif	non Significatif
Europa- Immatures/Femelles ponte	<b>Significatif</b>	
Juan de Nova- Immatures/Femelles ponte	non Significatif	non Significatif
Glorieuses- Immatures/Femelles ponte	<b>Significatif</b>	<b>Significatif</b>
Aldabra- Immatures/Femelles ponte	non Significatif	
Tanzanie- Immatures/Femelles en ponte		non Significatif

**Tableau 4-3** : Résultats des tests sur Fst pour les paires de groupes Immatures/X.  
 Colonne de gauche : à partir des données mitochondriales (estimateur de **Weir & Cockerham, 1984**) ;  
 colonne de droite : à partir des données microsatellites (estimateur de **Robertson & Hill, 1984**).

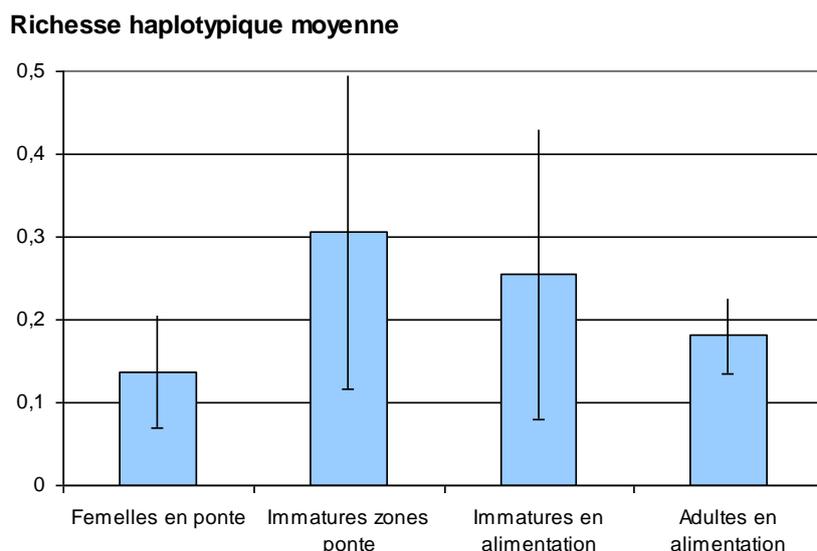
L'étude de la différenciation génétique (ADNmt et microsatellites) des groupes composés d'immatures révèle, a priori, l'existence de 5 ensembles (**Figure 4-2**) qui, contrairement à l'étude globale (cf. **chapitre 3**), se chevauchent de manière systématique. Si l'on ne considère que les résultats mitochondriaux, ou si on ne prend pas en compte les résultats obtenus sur le groupe d'immatures tanzaniens (effectif : seulement 6 individus), les immatures forment alors 4 ensembles qui s'enchaînent le long du canal du Mozambique. Une telle configuration indiquerait que les immatures forment des 'pools régionaux', c'est-à-dire que les immatures rayonneraient autour de leur site de naissance et viendraient en contact avec les individus originaires d'autres sites. Dans cette hypothèse, la distance géographique, via la dispersion par exemple, serait un facteur important dans la structuration des populations de ces immatures. Ceci serait compatible avec les résultats des études de **Naro-Maciel et al. (2007)** et de **Revelles et al. (2007)**. Ces derniers, travaillant sur la tortue caouanne, mettent en évidence une différence d'échelle entre la sélection d'une zone d'alimentation chez les adultes et celle des immatures. En effet, les zones sélectionnées par les immatures sont plus étendues (une centaine de kilomètres) que celles des adultes, ce qui est en accord avec une distribution en 'pools régionaux'.



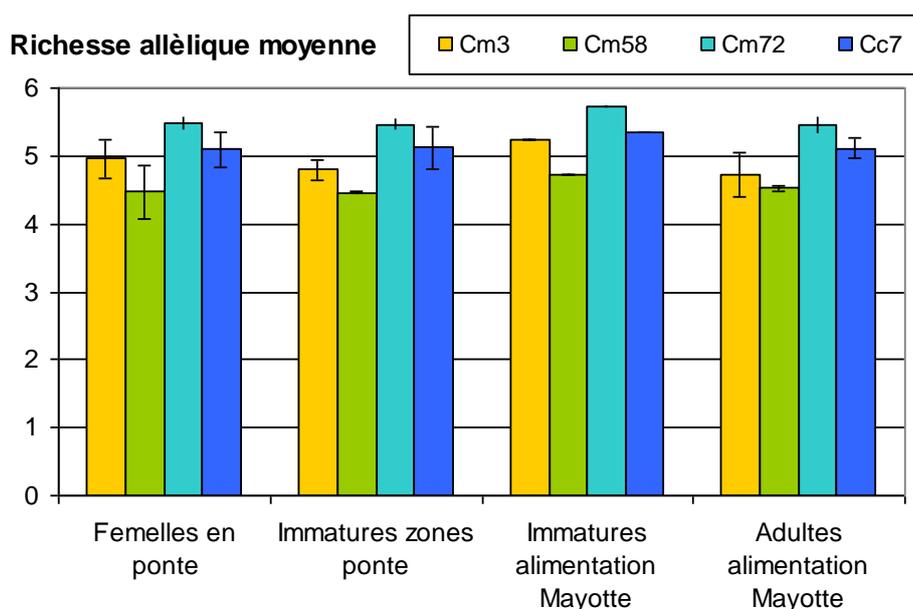
**Figure 4-2 :** Carte présentant les ensembles d'immatures mis en évidence par les tests sur l'indice *Fst* à partir des données mitochondriales (WC1000, en bleu) et des données microsatellites (RH1000, en rouge).

### ***B. Influence de l'activité de l'individu : différences entre la structure des groupes en phase de reproduction et celle des groupes en phase d'alimentation***

Malgré la grande variabilité des données (les écarts-type se recourent), la richesse haplotypique moyenne (nombre d'haplotypes présents sur l'effectif du groupe) des femelles en ponte a tendance à être très inférieure à celles des individus (adultes ou immatures) en alimentation (**Figure 4-3**). Cet indice de richesse ne suit d'ailleurs pas la même courbe de tendance selon l'activité de l'individu (cf. **chapitre 3**). Ce qui est en accord avec l'hypothèse de 'population mixte' évoquée dans toutes les études génétiques portant sur les sites d'alimentation (**Bass et al., 1998 ; Lahanas et al., 1998 ; D'Aloia & Al-Ghais, 2000 ; Luke et al., 2004 ; Naro-Maciel et al., 2007**). Par ailleurs, les individus sont très fidèles à un site d'alimentation particulier, parfois même sur plusieurs années, comme c'est le cas à Mayotte (**Ciccione & Rolland, 2005 ; Taquet et al., 2006**). On pourrait donc penser que la jeune immature (ou la jeune tortue mature) choisirait en fonction d'éléments attracteurs comme les odeurs, la présence de congénères, ou les espèces végétales présentes, un site de développement (ou un site d'alimentation) auquel elle resterait fidèle par la suite. Il n'apparaît aucune différence au niveau de la richesse allélique entre les différentes catégories d'individus (**Figure 4-4**), ce qui pourrait s'expliquer par l'existence de flux de gènes par le mâle.



**Figure 4-3 :** Richesse haplotypique moyenne (nombre d'haplotypes présents divisé par l'effectif du groupe) des différentes catégories d'individus étudiés.



**Figure 4-4 :** Richesse allélique moyenne (calculées à l'aide du logiciel Fstat) pour chaque locus des différentes catégories d'individus étudiés.

L'existence d'une différenciation génétique (ADNmt et/ou microsatellites) entre les femelles en ponte et celles en alimentation à Mayotte est en accord avec les résultats des campagnes de marquage sur l'île (**Ciccione, comm. pers.**) et ceux de l'étude de **Hays et al. (2002)**, qui montrent qu'en général les sites de ponte et d'alimentation des femelles sont distincts. En effet, **Hays et al. (2002)** ont comparé le comportement bathymétrique des tortues femelles en phase de reproduction (île de l'Ascension) avec celui de tortues femelles gravides dans leur habitat d'alimentation (Chypre). Si les tortues de Chypre restent dans des eaux peu profondes, celles de l'île de l'Ascension préfèrent des eaux plus profondes. Les tortues en phase de reproduction s'alimenteraient qu'occasionnellement ; ces résultats sont confirmés par l'étude de contenus stomacaux.

pic de ponté	Fst WC1000	TRO-Ponté-hiver	TRO-Ponté-été	GLO-Ponté-hiver	GLO-Ponté-été	MAY-Ponté-hiver	MAY-Ponté-été	MOH-Ponté-hiver	MOH-Ponté-été	EUR-Ponté-hiver	EUR-Ponté-été
	Fst RH1000										
	TRO-Ponté-hiver		0,0189			0,03709	-0,00517	0,00607	0,07445	0,66703	0,69954
			0,00088	0,01954	0,00469	0,0074	0,0051	0,00624	0,00182		
OUI	TRO-Ponté-été	0,0189				0,01663	0,05263	0,00098	0,06531	0,6004	0,6417
		0,00088		0,01398	0,00087	0,00329	0,00078	0,00079	-0,00134		
OUI	GLO-Ponté-hiver										
		0,01954	0,01398		0,00372	0,00485	0,02709	0,03378	0,00198		
	GLO-Ponté-été										
		0,00469	0,00087	0,00372		-0,00094	0,00259	0,0017	-0,00389		
OUI	MAY-Ponté-hiver	0,03709	0,01663				0,0254	-0,00434	-0,01073	0,50976	0,55103
		0,0074	0,00329	0,00485	-0,00094		0,00568	0,00768	-0,00365		
	MAY-Ponté-été	-0,00517	0,05263			0,0254		-0,0012	0,03516	0,67763	0,71767
		0,0051	0,00078	0,02709	0,00259	0,00568		0,00252	0,00871		
OUI	MOH-Ponté-hiver	0,00607	0,00098			-0,00434	-0,0012		0,00886	0,56598	0,61039
		0,00624	0,00079	0,03378	0,0017	0,00768	0,00252		-0,00054		
	MOH-Ponté-été	0,07445	0,06531			-0,01073	0,03516	0,00886		0,50863	0,55786
		0,00182	-0,00134	0,00198	-0,00389	-0,00365	0,00871	-0,00054			
	EUR-Ponté-hiver	0,66703	0,6004			0,50976	0,67763	0,56598	0,50863		-0,00992
OUI	EUR-Ponté-été	0,69954	0,6417			0,55103	0,71767	0,61039	0,55786	-0,00992	
effectif		56	33			63	16	32	30	51	61
		56	33	6	38	22	35	31	9		

**Tableau 4-4** : Valeurs de l'indice Fst obtenues lors de tests par paire (1000 permutations) et effectifs des groupes analysés.

**Valeurs supérieures** = à partir des données mitochondriales (estimateur de **Weir & Cockerham, 1984**).

**Valeurs inférieures** = à partir des données microsatellites (estimateur de **Robertson & Hill, 1984**).

Les valeurs surlignées correspondent aux tests significatifs.

## II. Influence des facteurs explicatifs extrinsèques étudiés

Les facteurs extrinsèques abordés dans cette section sont : le facteur ‘temps’, le facteur ‘espace’, et le facteur ‘environnement’. Dans le premier cas, nous étudierons plus particulièrement la corrélation éventuelle entre la composition génétique et le mois ou l’année d’échantillonnage. Les facteurs spatiaux étudiés sont la distance géographique et la plage d’échantillonnage. Enfin, nous discuterons de l’influence de certains facteurs environnementaux, comme les courants océaniques.

### *A. Influence des facteurs temporels :*

#### **1. Evolution de la composition génétique d’un groupe de tortues vertes au cours de l’année**

Etant donné que la position du pic de ponte au cours de l’année varie en fonction du site considéré, que la composition génétique des femelles en ponte varie également selon le site, on peut se poser la question de savoir s’il existe une corrélation entre ces deux facteurs. Dans cette hypothèse, les tortues venant pondre en hiver austral et celles venant pondre en été austral appartiendraient à des populations différentes.

Afin de tester ce scénario, il a fallu reformer les groupes d’analyse afin de prendre en compte la ‘saison’, quand cela était possible. Ainsi, deux groupes d’échantillons ont été formés pour Tromelin, Glorieuses, Mayotte, Mohéli et Europa : un correspondant aux prélèvements effectués en hiver austral et un autre contenant ceux d’été austral. Suivant les sites, le groupe incluant les femelles en ponte au moment du pic de ponte n’est pas le même.

Les valeurs obtenues lors des tests sur l’indice  $F_{st}$  (ADNmt et microsatellites) sont présentées dans le **Tableau 4-4**. D’une manière générale, les profils des femelles en ponte en hiver et en été austral sont similaires pour un même site. Ce qui est en accord avec les résultats de **Naro-Maciel et al. (2007)** obtenus sur des sites de ponte et d’alimentation de l’océan Atlantique. Cependant, il y a des exceptions, comme à Mohéli où les femelles en ponte en été austral diffèrent significativement (ADNmt) de celles d’Europa (été et hiver), ce qui n’est pas le cas des femelles en ponte à Mohéli en hiver austral.

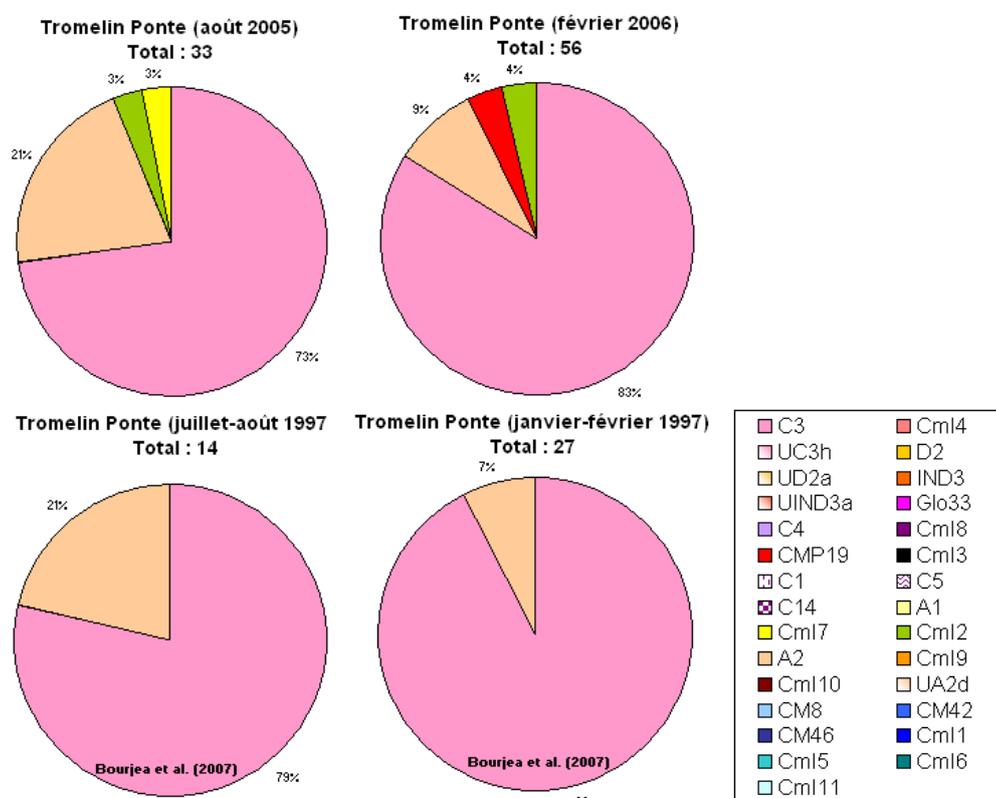
De même, les tests des paires ‘été/hiver’ sont le plus souvent non significatifs (**Tableau 4-5**), ce qui semble indiquer que la composition génétique d’un site de ponte ne varie pas de manière significative au cours de l’année. Les femelles venant pondre durant le pic de ponte appartiendraient à la même population que celles pondant pendant la basse saison. Ceci n’est pas vérifié chez les tortues des Glorieuses et de Mayotte concernant les données microsatellites. Cependant, dans les deux cas les prélèvements effectués en hiver et ceux en été austral ne se sont pas déroulés la même année. Les différences observées pourraient donc résulter de l’influence du facteur ‘année’ et non du facteur ‘saison’. Il n’est toutefois pas possible de conclure avec les échantillons disponibles.

couples testés	ADNmt Fst WC1000	Microsatellites (4 loci) Fst RH1000
Europa- été/hiver	non Significatif	
Mohéli- été/hiver	non Significatif	non Significatif
Mayotte- été/hiver	non Significatif	Significatif
Glorieuses- été/hiver		Significatif
Tromelin- été/hiver	non Significatif	non Significatif

**Tableau 4-5** : Résultats des tests sur Fst pour les paires de groupes de femelles en ponte en été/hiver austral.

Colonne de gauche : à partir des données mitochondriales (estimateur de **Weir & Cockerham, 1984**) ;  
colonne de droite : à partir des données microsatellites (estimateur de **Robertson & Hill, 1984**).

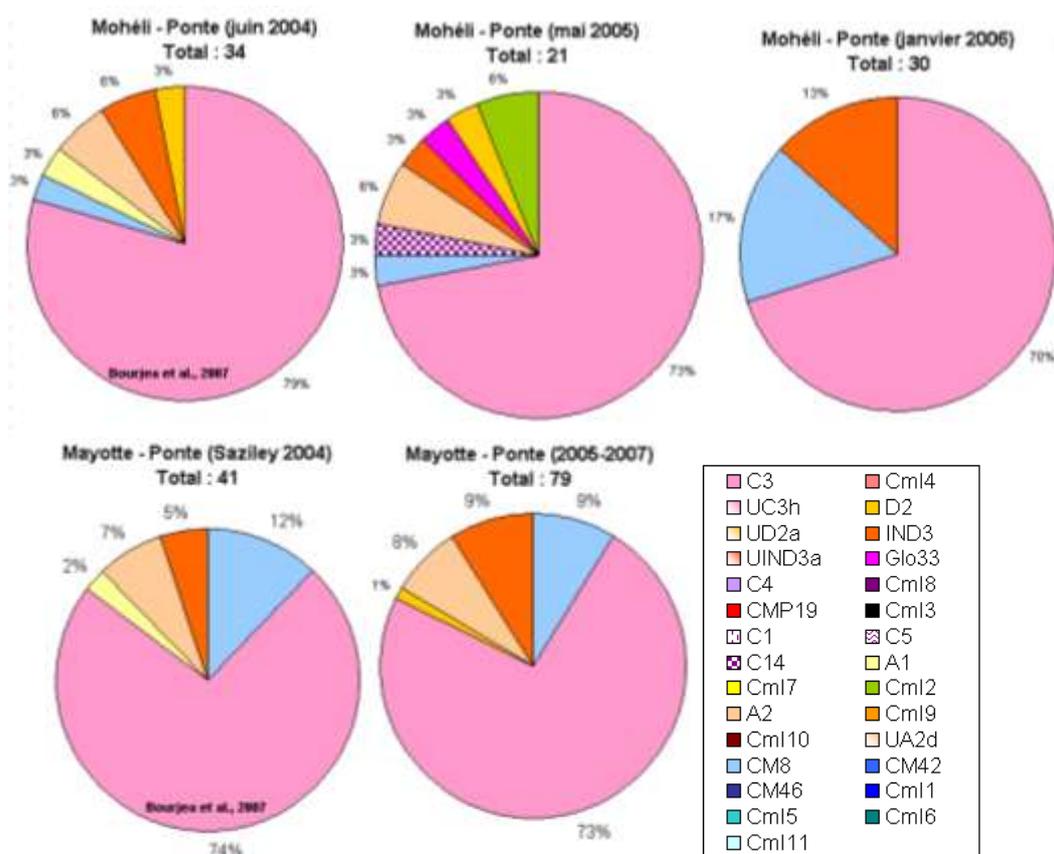
Par ailleurs, malgré l'absence de différences significatives, certains éléments montrent qu'il serait intéressant d'approfondir l'étude de ce facteur. Par exemple, la comparaison de nos résultats avec ceux de **Bourjea et al. (2007)**, nous permet d'étudier l'exemple de Tromelin (**Figure 4-5**). Si on se concentre sur la fréquence de l'haplotype A2, on remarque une plus grande similitude entre les deux groupes de femelles d'une même saison, qu'entre les deux groupes d'une même année, en faisant abstraction bien sûr de l'apparition de nouveaux haplotypes. Ainsi, si la composition génétique d'un site de ponte ne varie pas d'une manière générale au cours de l'année, il est possible d'observer des cas particulier dont l'étude devra être approfondie afin de déterminer s'il s'agit ou non d'événements dus au hasard.



**Figure 4-5** : Compositions haplotypiques des groupes de femelles en ponte à Tromelin : en 1997 (en bas, **Bourjea et al., 2007**) et en 2005-2006 (en haut) ; en été austral (à droite) et en hiver austral (à gauche).

## 2. Evolution de la composition génétique d'un groupe de tortues vertes entre deux années consécutives

Si on observe la composition haplotypique des sites de ponte de Mohéli et de Mayotte pour différentes années d'échantillonnage (**Figure 4-6**), on remarque que si la composition génétique des femelles en ponte à Mayotte semble peu varier d'une année à l'autre, celle de Mohéli en revanche diffère beaucoup d'une année à l'autre, avec des haplotypes spécifiques à une année et des différences de richesse mitochondriale (respectivement 6, 8 et 3 haplotypes). D'autant plus que les effectifs sont assez proches et n'engendrent donc pas de biais a priori, ce qui est confirmé par l'existence d'une plus forte richesse haplotypique pour l'année 2005 qui a pourtant l'effectif le moins élevé. Dans le cas de l'année 2006 cependant, les différences observées peuvent être dues au facteur 'saison'. Il semble néanmoins qu'au moins deux populations différentes se succèdent pour venir pondre alternativement sur l'île. Cette situation pourrait être le résultat de l'existence d'un intervalle inter-saison de ponte supérieur à une année, qui dépend du site considéré, mais qui est en général plus ou moins constant au niveau d'un même site. Dans ce cas, les tortues dont la phase de reproduction a lieu lors de l'année  $N$  et celles de l'année  $N+1$  n'ont pratiquement aucune chance de pouvoir se reproduire et se croiser entre elles, les deux effectifs sont donc isolés au niveau de la reproduction et évolueront donc de manière indépendante.



**Figure 4-6** : Compositions haplotypiques des femelles en ponte à Mohéli (*en haut*) et à Mayotte (*en bas*) pour plusieurs années consécutives.

Il est surprenant que parmi les 902 échantillons analysés dans cette étude, dont 62 provenant de Mohéli, aucun haplotype correspondant à IND1 n'ait été détecté alors qu'il représentait 5 des 10 échantillons de femelles en ponte à Mohéli analysés par **Formia (2002)**. Mais cela pourrait s'expliquer par le fait que la population en ponte à Mohéli l'année de la

campagne d'échantillonnage de Formia aux Comores (2001), soit différente de celles en ponte en 2005 et en 2006. Ce qui est possible puisque les groupes de 2005 et de 2006 diffèrent déjà de manière significative, et que cela serait également cohérent avec un rythme intersaison de ponte de 3 ans avec 3 populations qui s'alternent. On peut alors imaginer qu'en 2005 et 2006, les tortues en ponte à Mohéli en 2001 se trouvaient sur leur site d'alimentation, peut-être l'île de Mohéli elle-même puisque aucun échantillonnage n'a été réalisé sur les individus en alimentation sur ce site. Bien sûr, il est également possible, bien que cela paraisse moins probable au vu des effectifs échantillonnés, que les femelles porteuses de IND1 aient été présentes sur les plages de ponte de Mohéli en 2005 et 2006, mais qu'elles n'aient pas été échantillonnées.

Les résultats obtenus par **Frappier (2006)** concernant l'abondance des pontes à Mayotte montrent une périodicité de 2 ans dans l'abondance des pontes. Une année sur deux la fréquentation des plages de ponte de Mayotte est plus importante. Ce constat irait dans le sens d'une alternance de deux populations à Mayotte comme à Mohéli.

S'il était possible de connaître avec certitude l'âge d'une tortue, ce qui n'est pas le cas, nous aurions pu étudier le facteur 'année' sur une période très importante. En effet, le génotype d'un individu constitue une trace des génotypes des mâles et des femelles en ponte sur leur site de naissance, pour l'année de naissance considérée. Cependant, dans ce cas on doit supposer que les changements de site de ponte sont suffisamment rares pour être négligés et considérer que le site de ponte actuelle d'une femelle est toujours son lieu de naissance.

### **3. Evolution de la composition génétique d'un groupe de tortues vertes après une ou deux décennies**

En comparant nos données avec celles de l'étude de **Bourjea et al. (2007)**, dont une grande part des échantillonnages se sont déroulés en 1997 (**Broderick et al., 1997**) et 1999, on constate une évolution de la composition génétique de certains sites. Ces données étant ponctuelles, il n'est pas possible de retracer l'évolution de la structure des populations elle-même, en revanche nous nous sommes intéressés à la dynamique de la richesse haplotypique. La diversité génétique constitue par ailleurs un indice de la 'santé' d'une population et sa dynamique fait l'objet de nombreuses études en biologie des populations.

Ainsi, dans certains sites, on constate une augmentation de la richesse haplotypique en une dizaine d'années, comme par exemple à Tromelin où l'on passe de 2 à 4 haplotypes entre 1997 et 2005-2006 (**Figure 4-7**) ou encore à Cosmolédo avec 3 haplotypes en 1996 et 7 en 2005. Si dans le premier cas, il y a un déséquilibre dans les effectifs, ce n'est pas le cas de Cosmolédo avec respectivement 31 et 30 échantillons. A l'inverse, la composition haplotypique des femelles en ponte à Glorieuses s'est appauvrie passant de 4 haplotypes en 1999-2000 à 2 en 2004-2005, alors que les effectifs analysés sont supérieurs en 2004-2005. On peut se demander si ces évolutions différentielles sont dues au hasard (dérive génétique), où si elles sont symptomatiques de l'évolution démographique de ces populations. Un autre facteur possible serait, au cours de ces dernières années, la présence accrue de pêcheurs mahorais et comoriens autour des Glorieuses.

Par ailleurs, l'apparition de CM8 en proportion non négligeable (7%) dans la composition haplotypique de Cosmolédo en 2005 indique : soit que les tortues échantillonnées en 1996 et celles échantillonnées en 2005 appartenaient à des populations différentes qui se succèdent sur l'île ; soit que les tortues porteuses de l'haplotype CM8 continuent de migrer vers le nord et colonisent peu à peu le sud-ouest de l'océan Indien. Si la deuxième hypothèse se confirmait, cela montrerait que le cline génétique observé est bien dû à la colonisation de la

région par CM8 et non à la colonisation (du nord vers le sud cette fois) de C3 vers des sites déjà occupés par des tortues porteuses de CM8 immigrées précédemment. Cependant, nous ne pouvons pas écarter cette hypothèse puisque la proportion de C3 dans la population d'Europa a elle aussi augmentée passant de 6% en 1997 (Bourjea et al., 2007) à 10% en 2005-2006. Le sud-ouest de l'océan Indien n'apparaît donc pas ici comme une zone de tension, présentant un cline génétique maintenu par différents facteurs (philopatrie, barrière environnementale), mais plutôt une zone de contact en cours de mélange.

Les tortues élevées en captivité à Kélonia et nées entre 1988 et 1992, constituent une image de ce qu'était la population de femelles nidifiantes (et de leurs partenaires sexuels) à Tromelin il y a presque 20 ans. Avec 3 haplotypes présents à cette époque (Figure 4-7), contre 2 en 1997 et 4 en 2005-2006, on peut envisager que le nombre d'haplotypes ait suivi la même évolution que l'effectif, avec une baisse jusqu'à la fin des années 90, puis un ralentissement de cette baisse. Mais, il semble plus probable que cette légère différence dans le nombre d'haplotypes détectés soit due au hasard des échantillonnages.

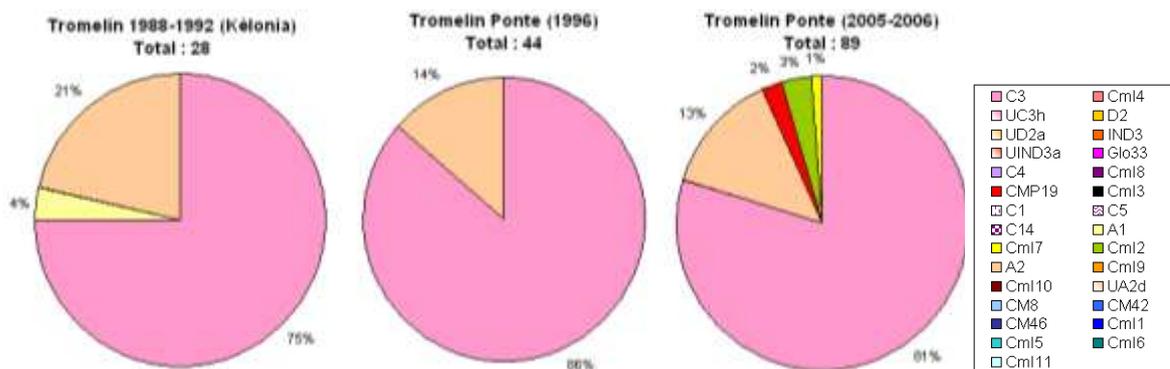


Figure 4-7 : Composition haplotypique des tortues en ponte à Tromelin en 1988-1992 (à gauche), en 1996 (au milieu), et en 2005-2006 (à droite).

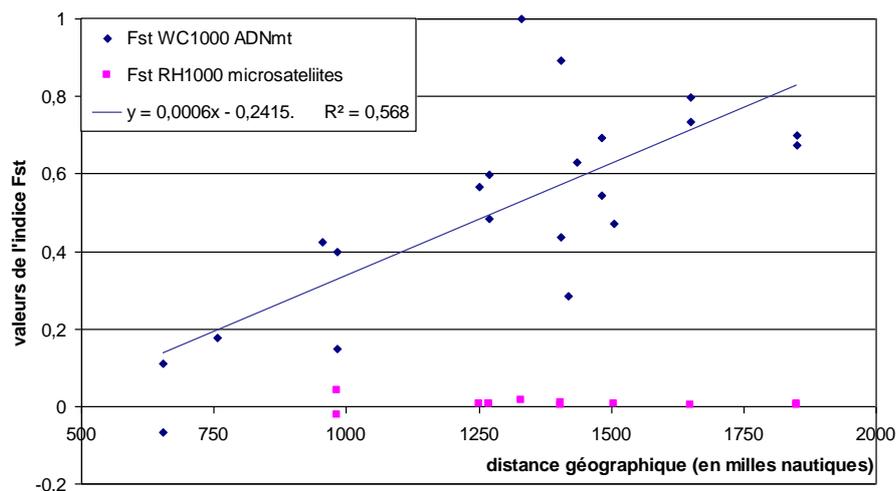
## B. Influence des facteurs spatiaux :

### 1. Influence de la distance géographique sur la structure des populations

Afin de détecter un éventuel lien de corrélation entre les distances géographique et génétique chez les populations de tortues vertes de la région, deux tests de Mantel ont été réalisés à l'aide du logiciel Genetix : un à partir des données mitochondriales et un à partir des données microsatellites, en utilisant à chaque fois l'estimateur de Nei (1972) de la distance génétique. Dans le cas des données microsatellites la probabilité d'erreur en rejetant  $H_0$  = 'indépendances des deux distance' est de 0,59940 on ne peut donc pas rejeter  $H_0$ . Contrairement à l'ADNmt où la probabilité du test est de 0,00999 ce qui signifie que nos données sont compatibles avec un rejet d' $H_0$ . Le résultat, artificiel, obtenu en intégrant la Polynésie est encore plus net  $p=0,00099$ . Cette situation peut s'expliquer par la forte philopatrie des femelles et aux flux de gènes engendrés par le mâle.

Par ailleurs, une autre représentation des résultats a été réalisée, elle est présentée en

Figure 4-8. On remarque sur cette figure que bien que le test de Mantel soit significatif, la corrélation entre les distances géographique et génétique n'est pas aussi nette que chez certaines espèces de poissons par exemple (Planes & Fauvelot, 2002). Par contre, ceci est en accord avec les résultats Dethmers et al., (2006) observés chez la tortue verte dans la région du Sud-Est asiatique et de l'Australie. La distance ne serait peut-être donc pas le facteur (ou le seul facteur) à jouer un rôle dans la structuration géographique des tortues.



**Figure 4-8** : Graphique montrant l'intensité de la différenciation génétique (valeurs de l'indice Fst des tests) des paires Afrique du Sud/X, en fonction de la distance géographique en milles nautiques entre les 2 sites.

## 2. Différences de composition d'une plage de ponte à l'autre

Les tests effectués ne montrent aucune différenciation génétique significative entre les 3 plages de ponte de Mayotte (Saziley, Moya, et N'Gouja) et les tortues en alimentation à N'Gouja. Cependant, les femelles en ponte sur la plage de Saziley diffèrent significativement de celles des deux autres plages et des tortues en alimentation autour de l'île en ce qui concerne les données microsatellites (**Tableau 4-6**). Tout d'abord, les tortues venant pondre sur cette plage pourraient appartenir à une population différente de celle des deux autres plages. Il y aurait alors une structuration des populations à l'échelle de l'île (quelques dizaines de km), ce qui serait en accord avec les résultats de **Peare & Parker, (1996a ; b)** en Atlantique et ceux des données de marquages concernant la fidélité à une zone de plage de 200m (**Bosc & Le Gall, 1986**). Cela pourrait également être dû au facteur 'année' puisque la grande majorité des données microsatellites concernant Saziley provient d'échantillons d'hiver 2004 (**Bourjea et al., 2007** ; cf. paragraphes précédents). Par ailleurs, toujours concernant les données microsatellites, il semble que les tortues en ponte à Saziley et celles qui pondent à Mohéli en hiver appartiennent au même ensemble génétiquement différencié, alors que les femelles pondant sur les deux autres plages sont plus proche des femelles en ponte en été à Mohéli et aux Glorieuses, et des immatures s'alimentant aux Glorieuses (**Tableau 4-7**).

couples testés	ADNmt Fst WC1000	Microsatellites (4 loci) Fst RH1000	Effectifs	
Mayotte- Alimentation plage N'Gouja/ Ponte plage N'Gouja	-0,01007	-0,00471	133	69
			21	13
Mayotte- Alimentation plage N'Gouja/ Ponte plage Moya	-0,00518	0,00309	133	69
			25	15
Mayotte- Alimentation plage N'Gouja/ Ponte plage Saziley	0,00672	0,00389	133	69
			33	29
Mayotte- Ponte plage N'Gouja/ Ponte plage Moya	0,01283	0,00575	21	13
			25	15
Mayotte- Ponte plage N'Gouja/ Ponte plage Saziley	0,03001	0,00755	21	13
			33	29
Mayotte- Ponte plage Moya/ Ponte plage Saziley	-0,03313	0,01062	25	15
			33	29

**Tableau 4-6** : Valeurs de l'indice *Fst* obtenues lors des tests par paire (1000 permutations) à partir des données mitochondriales (estimateur de **Weir & Cockerham, 1984**) et microsatellites (estimateur de **Robertson & Hill, 1984**) sur les groupes de tortues de Mayotte et effectifs des groupes analysés. Les valeurs surlignées correspondent aux tests significatifs.

Fst WC1000	MOH- Ponte- hiver	MOH- Ponte- été	GLO- Ponte- hiver	GLO- Ponte- été	GLO- ImP	effectifs
Fst RH1000						
MAY-Ponte- Saziley	-0,01226	-0,00548	0,00643		0,0724	33
	0,00062	0,00728	0,02777	0,00307	0,00471	29
MAY-Ponte- Moya	-0,01466	-0,02601	0,02838		0,05824	25
	0,0122	0,00888	0,01368	0,00284	-0,00308	15
MAY-Ponte- N'Gouja	0,00698	0,00743	0,12103		-0,01081	21
	0,0099	-0,00156	0,00918	-0,00292	0,00105	13
effectifs	32	30	15		29	
	31	9	6	38	29	

**Tableau 4-7** : Valeurs de l'indice *Fst* obtenues lors des tests par paire (1000 permutations) à partir des données microsatellites (estimateur de **Robertson & Hill, 1984**) sur les tortues en ponte sur les 3 plages de Mayotte et effectifs des groupes analysés. Les valeurs surlignées correspondent aux tests significatifs.

A Tromelin, malgré la très forte fidélité démontrée chez les femelles (**Bosc & Le Gall, 1987**), aucune différence significative n'a été mise en évidence (ADNmt et microsatellites) entre les femelles en ponte sur les plages 1 et 2.

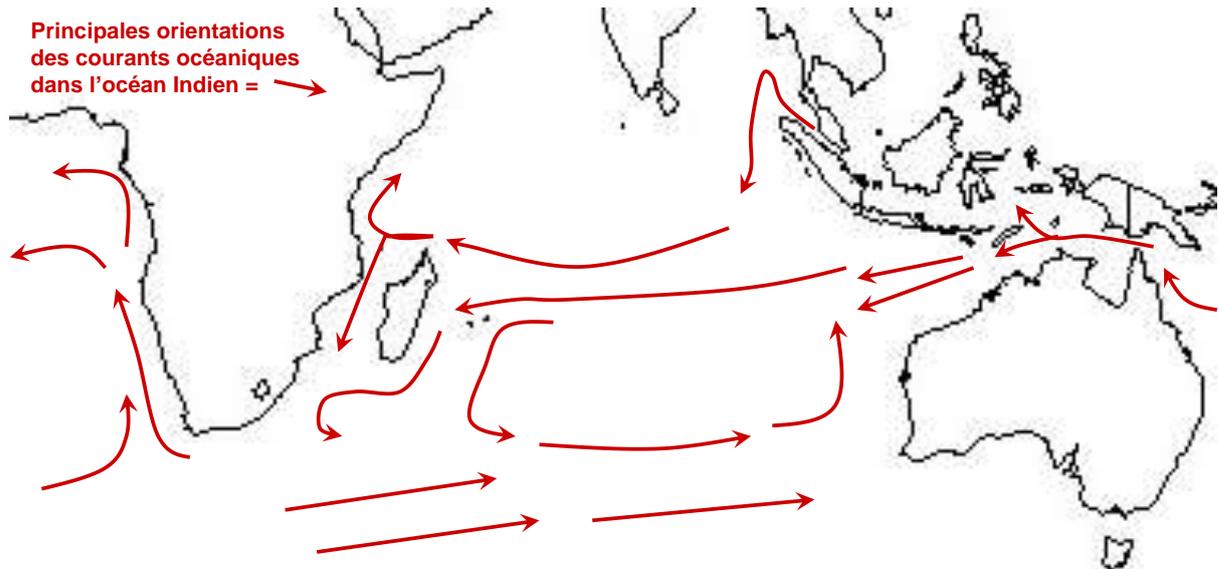
### ***C. Influence des facteurs physiques :***

Les courants océaniques sont le facteur environnemental le plus souvent évoqué pour expliquer la structuration des populations de tortues marines (**Luke et al., 2004 ; Roberts et al., 2004 ; Bourjea et al., 2007**). En effet, on sait que les courants influencent les déplacements des tortues marines, aussi bien ceux des juvéniles qui peuvent s'associer à des objets dérivants (*Sargassum*) et dériver ainsi de manière passive (**Carr & Meylan, 1980**), que ceux des adultes lors des migrations génésiques ou de comportements de type retour au gîte (**Girard et al., 2006**).

Jusqu'à très récemment, le Cap des Aiguilles était considéré comme une barrière environnementale infranchissable pour les espèces marines tropicales, et en particulier les tortues, en raison d'une part de l'existence de forts courants orientés Nord-Nord Est → Sud-Sud Ouest associée à de faibles températures de surface de l'eau. **Roberts et al. (2004)** avaient évoqué la possibilité du passage de tortues vertes de l'océan Indien vers l'Atlantique, ce qui avait été confirmée par **Formia (2002)**. **Luschi et al. (2003)** avaient montré le passage de tortues luth équipées de balises Argos de l'océan Indien vers l'Atlantique. Récemment la mise en évidence de l'haplotype CM8 chez les tortues du canal du Mozambique par **Bourjea et al. (2007)** apporte la preuve de possibilités d'échanges également dans le sens Atlantique → océan Indien, malgré la configuration du courant des Aiguilles peu propice au passage d'individus. Ces échanges pourraient être expliqués par les résultats des travaux de **Peeters et al. (2004)** qui ont montré que l'intensité des échanges océaniques entre l'océan Indien et l'océan Atlantique n'était pas constante. De plus, la variation cyclique du courant des aiguilles correspond aux cycles des glaciations (période = 100 000 ans), le courant étant intense entre les périodes glaciaires et fortement réduit pendant. Ceci correspond parfaitement aux résultats de notre étude, puisque l'on avait estimé l'arrivée des immigrantes porteuses de CM8 dans l'océan Indien entre 0 et 200 000. Cela expliquerait aussi le début de divergence génétique entre les tortues de la région originaires de l'Atlantique et celles restées en Atlantique : le passage ne serait possible que tous les 100 000 ans, le reste du temps les populations seraient isolées par le courant des Aiguilles. La présence de l'haplotype CM8 jusqu'à Cosmolédo nous indique que la zone de contact entre les individus porteurs de CM8 et ceux porteur de C3, au sud de Juan de Nova, n'est pas une barrière environnementale. Cependant, l'existence dans cette zone de courants océaniques divergents pourrait limiter les échanges d'individus et donc de gènes entre le nord et le sud du canal du Mozambique (**Bourjea et al., 2007**).

L'existence d'un courant remontant le long de la côte ouest de l'Afrique est en accord avec la présence de l'haplotype IND1 (originaire de l'océan Indien) dans le golfe de Guinée. De même, la non différenciation des groupes de la Réunion et du sud-ouest de Madagascar est compatible avec la présence d'un courant longeant la Réunion et passant au sud de Madagascar (**Figure 4-9**).

Les résultats de cette étude concernant la structuration des agrégations d'immatrices sont en accord avec l'hypothèse, proposée dans de nombreuses études, selon laquelle les courants océaniques influencent en partie la dispersion des immatures et leur choix de site de développement (**Luke et al., 2004 ; Bass et al., 2006 ; Revelles et al., 2007**). En effet, les nombreuses cellules tourbillonnantes du canal du Mozambique (**Ruijter et al., 2002**) pourraient favoriser la structuration des immatures en 'pools régionaux' dans cette zone.



*Figure 4-9 : Principales orientations des courants océaniques dans la région de l'océan Indien.*

L'île de Tromelin présente la plus forte concentration de femelles nidifiantes. Pourtant, non seulement elle est la plus exposée aux perturbations de type cyclones, mais en plus le pic de ponte a lieu en pleine saison cyclonique. Ceci confirme les résultats de **Pike & Stiner (2007)** qui ont étudié les différences de comportement entre les tortues marines vis-à-vis des cyclones et qui ont montré une faible sensibilité des tortues vertes.

L'utilisation d'autres techniques comme les campagnes de capture-marquage-recapture, la télémétrie satellitaire, ou le suivi acoustique peut nous fournir des informations complémentaires précises, qui nous permettraient de vérifier certaines hypothèses formulées à partir de l'étude des marqueurs moléculaires.

### III. Cas des tortues de la Réunion

Excepté quelques événements ponctuels, aucune ponte de tortues marines n'avait été observée à la Réunion entre le milieu du XX<sup>ième</sup> siècle et 2004. De plus, jusqu'à il y a une vingtaine d'années, l'observation sous-marine de tortues était un événement exceptionnel. Depuis, on observe de plus en plus de tortues vertes et imbriquées s'alimentant autour de l'île, certaines étant sédentaires d'un site donné (Boucan Canot, Passe de l'Hermitage). Il en va de même pour les pontes qui ont à nouveau lieu de manière régulière depuis 2004 (**Ciccione & Bourjea, 2006**). En effet, en 2004, 22 traces de montée avaient été observées sur les plages jouxtant Kélonia, et 6 pontes ont eu lieu (5 en hiver austral et 1 en été) d'au moins 4 mères différentes. En 2005, une seule ponte a été observée, et enfin 6 pontes ont eu lieu en 2007, 1 près du Cap La Houssaye en été austral et 5 (de la même femelle) sur la plage de Kélonia en hiver austral. Ce retour de fréquentation nous amène à nous poser deux questions :

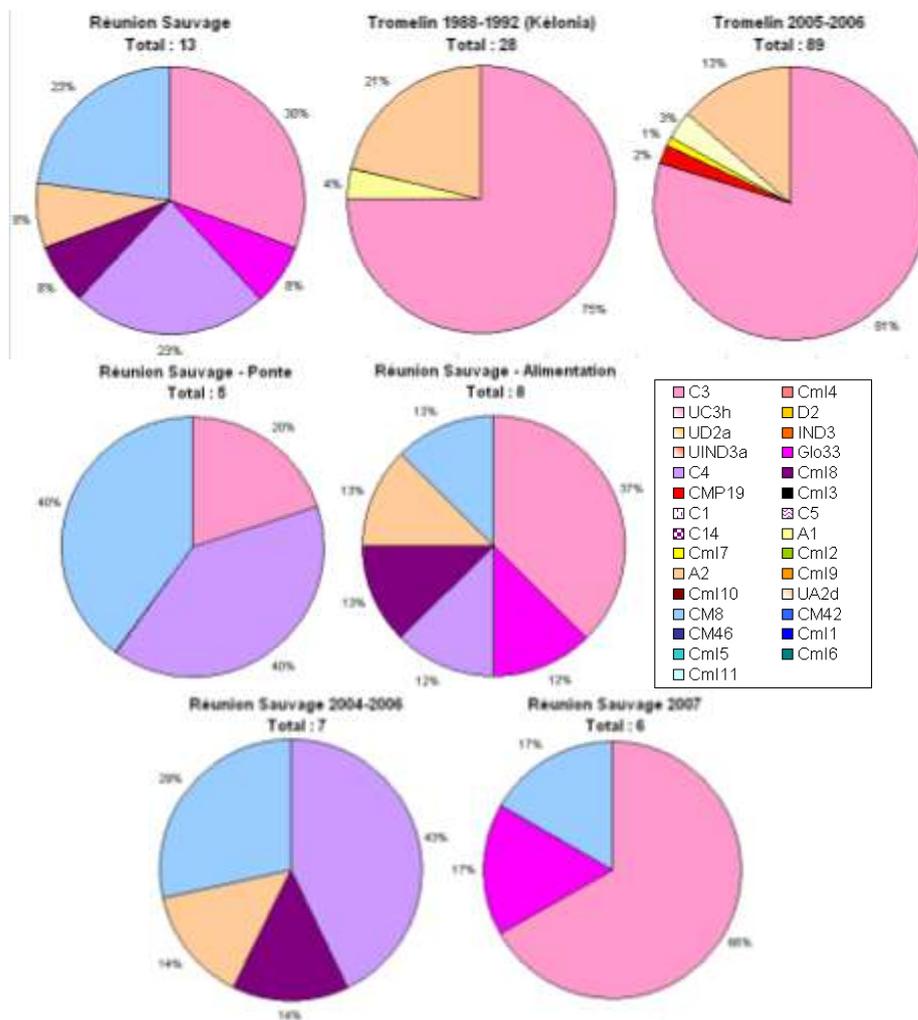
- (1) D'où viennent ces tortues ?
- (2) Pourquoi sont-elles venues ?

Afin de répondre à la première question, des prélèvements génétiques ont été effectués sur les individus qui étaient accessibles, c'est-à-dire les femelles en ponte et les émergentes quand la ponte et l'émergence étaient observées, ainsi que les individus recueillis à Kélonia pour y être soignés ou les individus morts amenés à Kélonia pour autopsie. La Réunion ne possédant pas de zones d'alimentation peu profondes comme des herbiers, il n'a pas été possible d'effectuer des campagnes d'échantillonnage d'individus en alimentation, qui séjournent en général à des profondeurs de 10-20 mètres. Les résultats du séquençage de la région contrôle de l'ADNmt sont présentés sur la **Figure 4-10**. Les allèles des 6 loci microsatellites et l'haplotype mis en évidence pour chaque individu analysé sont présentés en **Annexe 3**. Les données alléliques concernant les tortues réunionnaises étant trop peu nombreuses, elles n'ont pas fait l'objet d'une analyse statistique spécifique.

La première chose que l'on remarque est la grande divergence entre la composition haplotypique des tortues réunionnaises et celles des autres sites de la région, à l'exception du sud-ouest de Madagascar. En effet, avec un tiers d'haplotype C4 ou de son dérivé CmI8, un tiers de C3 et de son dérivé glo33, et enfin un tiers de CM8 et de A2, le groupe des tortues réunionnaises semble composé d'individus d'origines très diverses, représentées en proportions assez similaires. Etant donné que les échantillons analysés proviennent de différentes catégories d'individus, on pourrait envisager que les femelles en ponte et les individus en alimentation échantillonnés appartiennent à des ensembles génétiques distincts. Or, bien que les individus en alimentation présentent une plus grande richesse haplotypique, leur diversité haplotypique se rapproche de celles des femelles en ponte (excepté pour A2). On ne peut pas différencier ces deux groupes avec certitude en raison notamment du trop faible nombre d'individus (**Figure 4-10 au centre**). Il en va de même entre les adultes et les immatures.

Par contre, si l'on sépare les échantillons selon l'année d'échantillonnage (**Figure 4-10 en bas**), on constate que seul l'haplotype CM8 est commun, pour le reste on observe une nette dichotomie entre les échantillons de 2004-2006 avec des individus porteurs de C4, CmI8, et A2 ; et ceux de 2007 avec des individus porteurs de C3 et de glo33. Ceci indique tout d'abord qu'excepté les individus CM8, les femelles ayant pondu en 2004-2006 ne peuvent pas être les mêmes que celles de 2007. Tout se passe comme s'il s'agissait de deux populations différentes venant à la Réunion. Dans cette hypothèse, les tortues venues pondre en 2007 pourraient être originaires de plusieurs autres sites de la région, tandis que celles venues pondre en 2004-2006 appartiendraient à une population spécifique en raison de leur fort pourcentage de C4 et de CmI8, population qui irait peut-être se nourrir dans le sud-ouest de Madagascar entre

autres. Cependant, il est impossible de conclure en raison du trop faible nombre d'échantillons.



**Figure 4-10** : Compositions haplotypiques des tortues réunionnaises échantillonnées (*en haut, à gauche*), regroupées par activité (*au centre*) ou par année (*en bas*) ; ainsi que la composition haplotypique des tortues élevées à Kélonia et nées à Tromelin en 1988-1992 (*en haut, au milieu*) et celle des femelles en ponte à Tromelin en 2005-2006 (*en haut, à droite*).

Par ailleurs, si on peut supposer que la cause du retour de fréquentation de la Réunion par les tortues marines est en rapport avec les actions entreprises depuis une vingtaine d'années avec l'essor des notions de conservation de la biodiversité et de respect de l'environnement, il n'en reste pas moins que nous ignorons l'origine (ou les origines) de ces nouvelles venues. **Ciccione & Bourjea (2006)** ont évoqué un grand nombre d'hypothèses pour expliquer ce retour de fréquentation, dont un certain nombre est présenté ici. Les résultats des analyses génétiques ont permis d'apporter des informations intéressantes, qui sont venues confirmer ou infirmer certaines de nos hypothèses ou de celles de **Ciccione & Bourjea (2006)**.

Notre première hypothèse était que les tortues présentes à la Réunion ces dernières années et particulièrement les femelles en ponte appartiendraient aux 3 500 juvéniles qui avaient été prélevés à Tromelin au moment de l'émergence et qui ont été relâchées depuis le Cap La Houssaye en 1983, après quelques mois passés à Kélonia. Elles seraient alors revenues sur leur lieu d'origine (bien que pas de naissance) une fois adultes pour s'y alimenter et y pondre. Elles auraient d'ailleurs l'âge d'être matures. Il semblait difficile de vérifier cette hypothèse

du fait d'une part que les marques posées sur ces tortues au moment du lâcher ont très probablement disparu au cours de leur vie ; et d'autre part parce que la composition génétique des tortues de Tromelin avait pu évoluer depuis 1983. Heureusement, en plus des 3 500 individus relâchés, 3 500 autres appartenant au même lot sont restés à Kélonia. Aujourd'hui, sur les 65 tortues de Kélonia, 29 sont nés entre 1988 et 1992 c'est-à-dire au moment où les prélèvements d'émergentes ne s'effectuaient que sur Tromelin. L'analyse génétique de ces 29 tortues nous a donc permis d'avoir une image de ce qu'était la composition génétique des femelles en ponte à Tromelin à la fin des années 80. La composition haplotypique des ces tortues, ainsi que la composition actuelle des femelles nidifiantes de Tromelin sont représentées sur la **Figure 4-10 (en haut)**. On constate que la composition haplotypique des tortues réunionnaises diffère de celle de Tromelin, que ce soit aujourd'hui ou il y a 20 ans. Il semble donc que les tortues réunionnaises n'appartiennent pas aux juvéniles relâchés en 1983. Ceci est en accord avec l'étude de **Pelletier et al. (2003)** qui montrait que des immatures élevés en captivité puis relâchés parcourraient des milliers de kilomètres pour rejoindre les aires d'alimentation de leur population d'origine.

Les tortues réunionnaises semblent donc être des tortues originaires d'autres sites, formant une population spécifique à l'île ou une population mixte. Certains individus peuvent tout de même faire partie des individus relâchés depuis une vingtaine d'année : soit en 1983, soit par des particuliers de retour de mission dans les îles Eparses, soit par Kélonia depuis 1997 (140 tortues). Les individus porteurs de C3 peuvent être des tortues de Tromelin venues s'alimenter à la Réunion (**Le Gall & Hughes, 1987**), et dont certaines femelles auraient également pondu sur les plages de l'île. Les individus porteurs de CM8 peuvent venir directement de l'Atlantique, ou être originaires d'Europa. Enfin, les individus C4 pourraient venir de la région du Sud-Est asiatique et de l'Australie grâce aux courants. Cette dernière hypothèse est en accord avec l'alimentation des tortues réunionnaises composée en grande majorité d'algues rouges, comme les tortues de la région australienne, alors que les tortues du sud-ouest de l'océan Indien ont un régime alimentaire composé principalement de phanérogames. L'alimentation des tortues pourrait également être le fruit d'une adaptation à un habitat dépourvu d'herbier.

Par ailleurs, on peut se demander pourquoi ces tortues, quelle que soit leur origine, seraient venues s'alimenter et surtout pondre depuis 2004. On suppose que la baisse de fréquentation était due à la consommation importante de chair et d'écaillés de tortues, et au développement de l'urbanisation. En effet, parmi les sites de ponte anciennement fréquentés (**Robert, 2005**), on trouve notamment la baie de Saint-Paul (sable noir) et Boucan Canot, deux zones aujourd'hui fortement urbanisées. De plus, une des rares ponte survenue lors de la deuxième moitié du XX<sup>ième</sup> siècle a eu lieu sur une plage de Saint-Gilles, au moment d'une très importante coupure d'électricité (**Diringer, comm. pers.**). On suppose que le programme de réhabilitation en plage de ponte de la plage de Kélonia a pu jouer un rôle dans le retour de fréquentation des tortues à la Réunion en augmentant son pouvoir attracteur grâce notamment à la réintroduction de veloutiers, arbre typique des plages de ponte des îles Eparses mais également présent en Australie. Des individus relâchés récemment par Kélonia sont devenus sédentaires du lagon devant le centre Kélonia. Des individus non originaires de Kélonia fréquentent également cette zone, et pourraient constituer des éléments attracteurs pour d'autres individus. Les plages devant Kélonia sont également des plages peu fréquentées par les touristes. Cependant, elles se trouvent près d'une route avec beaucoup de trafic, source de beaucoup de lumière et de bruit. L'augmentation de la prise de conscience du public et les programmes de sensibilisation au respect de l'environnement sont également des facteurs envisageables.

Il est très probable que plusieurs facteurs interviennent dans le retour des tortues à la Réunion.

L'augmentation des effectifs de tortues vertes autour de l'île de la Réunion présente de nombreux intérêts en plus de celui du maintien de biodiversité : des intérêts culturels, du fait de l'histoire des tortues vertes dans l'île ; scientifiques, avec notamment les programmes de réhabilitation des plages de ponte et de suivi des populations de l'île ; mais aussi touristiques, grâce notamment au développement de la plongée sous-marine et de l'écotourisme (visite de Kélonia).

En outre, ce retour de fréquentation des eaux et surtout des plages réunionnaises par les tortues vertes constitue un véritable laboratoire pour l'étude des phénomènes de fondation. C'est pourquoi il est impératif d'augmenter le nombre d'échantillons pour ce site et de suivre l'évolution de cette aggrégation.

#### **IV. Conclusion du chapitre**

Malgré un nombre d'échantillons analysés très important, il n'est pas toujours possible de n'avoir qu'un seul facteur potentiel à tester pour un même groupe d'échantillons. La plupart du temps, plusieurs facteurs interagissent, et il est alors impossible d'identifier l'influence propre de chaque facteur. C'est le cas par exemple à Mayotte où les femelles échantillonnées en ponte en hiver sont presque toutes issues de la plage de Saziley, et de l'année 2004. Il a néanmoins été possible d'identifier des corrélations (significatives ou non) entre la situation observée et certains des facteurs étudiés.

La structure des mâles et des femelles en phase d'alimentation ne diffère pas de manière significative pour les deux sites étudiés. Cependant, la confrontation des résultats des analyses des loci microsatellites et de l'ADNmt révèle un flux de gènes assez important via le mâle, qui pourrait résulter soit d'une moindre philopatrie des mâles par rapport aux femelles, soit de l'existence d'accouplement sur les sites d'alimentation ou lors des migrations génésiques. Dans la plupart des cas, les groupes d'immatures du sud-ouest de l'océan Indien ne divergent pas significativement des groupes d'adultes présents sur les mêmes sites. Les immatures exprimeraient, à l'instar des adultes, un comportement de philopatrie les poussant à fréquenter des aires d'alimentation proches de leur site de naissance. Cette philopatrie ne se ferait pas à l'échelle d'un site mais à l'échelle de zones dans le sud-ouest de l'océan Indien. Ainsi, les immatures du sud-ouest de l'océan Indien semblent s'organiser en 'pools régionaux'. Les groupes d'immatures d'un site donné seraient alors composés d'immatures de différentes origines, provenant des sites d'alimentation les plus proches.

Par ailleurs, les femelles en ponte présentent une richesse haplotypique moindre que les tortues en alimentation, mais possèdent des richesses alléliques similaires. Ceci peut s'expliquer par la forte philopatrie exprimée par les femelles en ponte. Nos résultats sont en accord avec ceux d'études réalisées dans d'autres régions du monde. Les groupes de tortues en alimentation sont des 'populations mixtes', alors que les groupes de femelles en ponte semblent n'être constitués que d'une seule population.

La composition génétique d'un site de ponte ne varie pas de manière significative au cours de l'année. Par ailleurs, il semblerait que deux ou même peut-être trois populations différentes pondent alternativement (une année sur deux ou sur trois) sur les plages de Mohéli. De plus, certains indices laissent à penser que Mayotte serait dans une situation similaire. Toutefois, les différences au niveau de Mayotte n'étant pas très importantes, on peut supposer que ce site n'est qu'au début du processus de différenciation. En effet, une désynchronisation des saisons

de ponte limiterait, voire empêcherait les échanges génétiques entre les deux populations en alternance. Elle constituerait donc un mécanisme d'isolement des populations. En comparant nos résultats avec ceux de **Bourjea et al. (2007)**, on constate des disparités dans l'évolution de la diversité haplotypique des sites étudiés. En effet, si le nombre d'haplotypes détectés à Cosmolédo a considérablement augmenté depuis 1996, celui des Glorieuses en revanche est en baisse. Les causes possibles de ces disparités sont principalement les différences de succès des mesures de protection et de conservation, ou plus simplement dans le cas des Glorieuses et de Tromelin le fait du hasard lors des campagnes d'échantillonnage. Par ailleurs, il semblerait que l'accroissement depuis 1996 de la zone de distribution de l'haplotype CM8 se soit élargie, ceci pouvant être l'indice d'un processus de colonisation par CM8 de l'ensemble du sud-ouest de l'océan Indien.

Aucune corrélation significative entre les distances géographique et génétique n'a pu être mise en évidence à partir des données microsatellites. En revanche, la distance géographique est significativement corrélée à la distance génétique dans le cas de l'ADNmt. Ceci pourrait résulter de l'existence d'un cline génétique dans l'axe du canal du Mozambique (regroupant l'essentiel des échantillons) engendré par le contact d'individus originaires des deux métapopulations de la tortue verte. Par ailleurs, les femelles en ponte sur les deux plages de l'île de Tromelin ne diffèrent pas significativement entre elles, contrairement aux femelles pondant sur la plage de Saziley (Mayotte) qui diffèrent significativement de celles des deux autres plages de l'île. Ceci pourrait être la conséquence d'une forte fidélité des femelles à leur plage de ponte, ou résulter de l'interaction de différents facteurs explicatifs comme la saison ou l'année. Il semblerait par ailleurs que les tortues en ponte à Saziley et celles qui pondent à Mohéli en hiver appartiennent au même ensemble génétiquement différencié, alors que les femelles pondant sur les deux autres plages sont plus proche des femelles en ponte à Mohéli en été, des femelles en ponte en été aux Glorieuses et des immatures des Glorieuses.

La structure des populations observée dans le sud-ouest de l'océan Indien est en accord avec la configuration des courants océaniques. Ces derniers constitueraient par exemple un facteur important dans la dispersion des immatures. Les cycles de glaciation et leur influence sur le courant des Aiguilles pourraient expliquer le passage de tortues vertes de l'océan Atlantique vers l'océan Indien. Par ailleurs, la fréquence d'événements climatiques importants comme les cyclones ne semble pas influencer la répartition géographique, et donc génétique, des tortues de la région.

En raison du trop faible nombre d'échantillons de tortues réunionnaises, on ne peut malheureusement émettre que des hypothèses quant à la raison du retour des tortues marines à l'île de la Réunion, ainsi qu'à leur origine. Cependant, il semblerait que les tortues de la Réunion constituent une population spécifique d'individus aux origines multiples ou une agrégation constituée d'individus de divers sites de la région. En tous cas, il ne semble pas que ces tortues fassent partie des tortues relâchées en 1983 au Cap La Houssaye (originaires de Tromelin). La cause de ce retour est certainement la combinaison de multiples facteurs, mais on peut supposer que la réhabilitation de la plage de Kélonia, un meilleur comportement du public vis-à-vis de l'environnement et la présence d'individus sédentaires dans cette zone aient pu jouer un rôle. Le suivi de cette agrégation de tortues devrait par ailleurs permettre l'étude en temps réel de l'intervention de phénomènes de fondation.



*Chapitre 5 : Synthèse des résultats  
et applications aux stratégies de  
conservation de la tortue verte*



## Chapitre 5 : Synthèse des résultats et applications aux stratégies de conservation de la tortue verte

L'objectif de ce chapitre est de faire la synthèse des résultats obtenus dans le cadre de cette étude, et de les discuter dans l'optique de la biologie de la conservation. Il ne s'agit pas d'élaborer un plan de gestion ou de conservation, mais d'apporter des éléments sur la structure des populations de tortues vertes dans la région qui serviront de base à l'élaboration de ces plans.

### I. La tortue verte : une espèce encore en danger ?

Le déclin global des populations de tortues engagé depuis plusieurs siècles, ainsi que l'importance des menaces qui pèsent sur elles (exploitation par l'homme, dégradation des habitats), ont conduit les experts internationaux à classer la tortue verte dans les espèces menacées, sous le statut 'espèce en danger d'extinction' (<http://www.iucnredlist.org/search/details.php/4615/summ>). Les autres espèces de tortues marines ont subi le même sort. Les tortues olivâtres et caouannes sont elles aussi des 'espèces en danger d'extinction' ; tandis que la situation des tortues luth, imbriquées et de Kemp est encore plus préoccupante et a conduit à leur classement en 'espèce en danger critique d'extinction'. C'est pourquoi depuis plusieurs décennies de nombreux chercheurs à travers le monde ont tenté d'identifier et de quantifier les menaces pesant sur ces espèces, de surveiller l'évolution des différentes populations, mais également d'élaborer des plans de conservation et de gestion visant à protéger au mieux ces populations.

Le bilan des actions entreprises à travers le monde est assez mitigé. En effet, les résultats des plans de conservation mis en place diffèrent beaucoup d'une région à l'autre. Ainsi, de nombreuses populations de tortues vertes sont encore fortement menacées par le braconnage ou la réduction des habitats naturels comme au Mozambique (**Costa et al., 2007**). Par ailleurs, certaines études ont débattu de l'efficacité réelle de dispositifs comme les Aires Marines Protégées (AMP) ou les conventions pour la conservation (**Carpenter, 2006 ; Mora et al., 2006**). A l'inverse, les actions entreprises à Hawaï depuis plus de 30 ans ont permis un rapide recouvrement des agrégations de tortues vertes en alimentation (**Hays, 2004 ; Chaloupka & Balazs, 2007**). De la même façon, la population de tortues vertes de l'Ascension a augmenté de près de 300% depuis les années 70 (**Broderick et al., 2006**). On observe également une forte augmentation des populations du Costa Rica (**Troëng & Rankin, 2005**). Ces succès ont conduit **Broderick et al. (2006)** à mettre en doute le statut global de la tortue verte en tant qu'espèce en danger d'extinction, notamment dans l'océan Atlantique où 75% des populations sont en augmentation. Ces auteurs suggèrent d'accorder le statut 'en danger d'extinction' uniquement aux populations menacées.

Une telle proposition est pour le moins atypique dans le contexte actuel où l'on sait que le bilan des espèces menacées s'alourdit chaque année. Le 12 septembre 2007, l'IUCN annonçait l'arrivée dans la liste des espèces menacées de 200 nouvelles espèces, soit au total 16 306 espèces menacées (1/4 des Mammifères, 1/3 des amphibiens et 70% des plantes). Parmi toutes ces espèces, une seule a été reclassée dans un statut moins alarmant. Cependant, en ce qui concerne ce dernier point, il est important de prendre en compte le facteur géopolitique (**Bowen & Karl, 1999 ; Karl & Bowen, 1999**). En effet, un tel changement de statut implique malheureusement une forte baisse des subventions accordées aux organismes de recherche ou de gestion pour cette espèce. Il est donc paradoxalement plus intéressant qu'une espèce donnée conserve son statut d'espèce menacée, afin de maintenir dans les meilleures conditions les plans de gestion et de conservation, et donc de garantir au mieux sa

survie. Par ailleurs, l'une des difficultés actuelles en biologie de la conservation provient de la nécessité de maintenir les efforts de conservation mis en place et les actions entreprises. En effet, même si la situation d'une espèce s'améliore, les menaces qui pèsent sur elle existent toujours.

A l'échelle mondiale, de grandes avancées ont été réalisées concernant la conservation des tortues marines avec la prise de conscience de nombreux pays développés, mais aussi de plus en plus de pays en retard de développement, de la nécessité de surveiller et de protéger les populations de tortues, et notamment de tortues vertes. Outre leur place dans le patrimoine zoologique mondial, elles constituent un atout éco-touristique important pour tous les pays côtiers. Les captures accidentelles de tortues marines sont devenues de plus en plus importantes avec le développement des pêcheries mondiales, et notamment avec la pratique de la pêche à la senne et de la pêche crevette à la chalut. Elles constituent même une des principales menaces pesant sur ces espèces, d'autant plus que ces captures accidentelles concernent également des individus âgés (**Lewis & Crowder 2007**). Fort heureusement, depuis plusieurs années, les principaux pays concernés par ces activités de pêche ont pris conscience du problème et ont commencé à chercher des solutions. Tout d'abord, des programmes de recherche ont été mis en place afin d'évaluer l'importance de la mortalité des tortues marines due aux captures accidentelles (**Koch et al., 2005 ; Pradhan & Leung, 2006 ; Sasso & Epperly, 2006**), puis des dispositifs visant à limiter ces captures ont été mis au point, comme l'hameçon circulaire pour les palangres et les dispositifs d'exclusion de tortue (TED) pour les chaluts (**Courtney et al., 2006 ; Kerstetter & Graves, 2006**). Cependant, ces mesures de protection ne peuvent être viables que si elles sont intégrées aux systèmes de gestion des pêcheries (**Pradhan & Leung, 2006**). A cela s'ajoutent des actions de sensibilisation et de gestion conduites par les Organisations Non Gouvernementales ou des associations. On peut citer l'exemple du village d'Itsamia à Mohéli où l'ensemble de la population s'est investi dans la conservation de la tortue verte, ou encore les mesures visant à limiter les perturbations des tortues en ponte sur la plage de N'Gouja (hôtel le Jardin Maoré) et le comptage mensuel des tortues s'alimentant sur l'herbier (association *Oulanga Na Nyamba*). A la Réunion, les actions de l'observatoire des tortues marines, Kélonia, jouent un rôle important dans la sensibilisation du public, et notamment des enfants aux enjeux de la conservation de ces espèces emblématiques de la Réunion.

Cependant, malgré les nombreuses actions entreprises à travers le monde, des menaces persistent et beaucoup de populations de tortues marines restent en danger de disparition. Outre le braconnage et les captures accidentelles, on compte parmi les menaces pesant sur ces espèces l'urbanisation et la pollution. Un autre danger risque de compromettre dans un avenir très proche la survie des tortues marines : le réchauffement climatique. En effet, les tortues marines font partie des espèces les plus vulnérables à ce phénomène. Tout d'abord, le réchauffement climatique en lui-même constitue une augmentation globale de la température, ce qui a un impact important sur des espèces dont le sexe est déterminé en partie par la température. Une trop forte augmentation de la température engendrerait un déséquilibre du sex-ratio en faveur des femelles (température pivot 28°C) et menacerait la perpétuation de l'espèce. Par ailleurs, le réchauffement climatique risque d'entraîner une montée du niveau de la mer. Or les tortues marines pondent sur les plages, donc à des altitudes très faibles, une montée du niveau de la mer entraînerait donc une diminution très importante des sites de ponte accessibles. Les mouvements du niveau de la mer, liés aux phénomènes de glaciation, avaient déjà été mentionnés par **Hirth (1978)** qui les considérait comme un facteur d'évolution des motifs de migrations génésiques. Cependant, dans le cas du réchauffement climatique, le phénomène apparaissant plus rapide, il est donc important de s'interroger sur les capacités d'adaptation des tortues marines : évolueront-elles assez rapidement ? Enfin, le

réchauffement climatique conduit à l'intensification de phénomènes comme les cyclones, auxquels les tortues marines sont plus ou moins sensibles selon les espèces (**Pike & Stiner, 2007**).

Le sud-ouest de l'océan indien fait partie des régions où les populations de tortues sont encore en déclin (-32%, **Seminoff, 2004 ; Lauret-Stepler et al., 2007**) et ce malgré les actions menées dans les différents pays comme par exemple au Mozambique (**Costa et al., 2007**) ou dans les îles Eparses (**Lauret-Stepler et al., 2007**). D'une part, les programmes de gestion mis en place ont donné des résultats encourageants, comme l'augmentation du nombre de femelles nidifiantes à Mayotte ces dernières années. Ils pourraient également avoir joué un rôle dans le retour des phénomènes de ponte à la Réunion ou dans l'augmentation de la diversité génétique à Cosmolédo. Mais, d'autre part, il n'a pas été possible de supprimer complètement les menaces pesant les tortues vertes dans la région. D'autant plus, que certaines d'entre elles semblent encore affecter les populations, Ainsi, la taille moyenne réduite des femelles en alimentation à Mayotte par rapport à celle des femelles en ponte, alors que ces deux groupes ne divergent pas génétiquement, pourrait être la conséquence des activités de braconnage qui ont longtemps été très développées sur l'île.

Pour toutes ces raisons, il apparaît nécessaire de poursuivre les actions engagées et de les renforcer afin d'une part d'assurer la survie à long terme des populations de tortues vertes et d'autre part de compenser le plus possible, les effets néfastes que l'on peut attendre du réchauffement climatique.

## **II. Le Sud-Ouest de l'océan Indien : une richesse génétique à préserver**

Le sud-ouest de l'océan Indien comporte de nombreuses plages de ponte, dont 4 font partie des sites majeurs de l'espèce (**Seminoff, 2004**), de vastes zones d'herbiers fréquentées à la fois par des adultes et des immatures, mais aussi de nombreuses zones spécifiques de développement pour les immatures comme les îles Eparses. Tous ces éléments font de la région une des zones importantes dans la démographie globale de l'espèce. Cette étude a montré que le sud-ouest de l'océan Indien présente des particularités qui en font une zone riche qu'il est important de protéger.

Tout d'abord, le sud-ouest de l'océan Indien est une zone présentant une richesse génétique importante, que ce soit au niveau de l'ADNmt ou des 6 loci microsatellites étudiés. En effet, les analyses microsatellites ont mis en évidence un grand nombre d'allèles par locus étudié et des gammes de taille des allèles importantes. Le nombre d'haplotypes (29) de la région contrôlé de l'ADNmt mis en évidence dans la zone d'étude est quant à lui proche de celui que l'on trouve dans d'autres régions du monde.

Ces 29 haplotypes ont des origines très diverses et forment trois clades fortement différenciés, dont un composé d'haplotypes originaires de l'Atlantique. Il est donc intéressant de noter que le sud-ouest de l'océan Indien constitue l'une des deux zones connues de contact entre les métapopulations de l'Indo-Pacifique et de l'Atlantique-Méditerranée. Les populations de tortues vertes du sud-ouest de l'océan Indien sont donc le fruit de la rencontre entre des individus d'origines multiples et variées, qui font de cette région une zone de forte diversité génétique. Or, la richesse et surtout la diversité génétique d'une population ou d'une espèce sont essentielles à sa survie car elles constituent l'un des facteurs favorisant les

capacités d'adaptation. Elles prennent encore plus d'importance chez une espèce comme la tortue verte possédant un temps de génération long et une faible vitesse d'évolution.

Le sud-ouest de l'océan Indien constitue également une zone originale, avec 15 haplotypes qui semblent spécifiques à la région. L'origine multiple de ces haplotypes, dont certains dérivent d'haplotypes originaires de l'Atlantique ou de l'Indo-Pacifique, renforce l'idée d'originalité de la région.

A ce jour, le sud-ouest de l'océan Indien constitue la seule zone connue d'échanges et donc de brassages génétiques entre les deux métapopulations de la tortue verte. En plus de constituer un facteur supplémentaire de diversité génétique, un tel brassage pourrait contribuer au maintien de l'intégrité de l'espèce, en limitant l'isolement de métapopulations.

### **III. Définition des unités de gestion (MUs)**

L'analyse conjointe des données microsatellites et mitochondriales a permis de mettre en évidence l'existence de 8 ensembles génétiquement différenciés. Ces 8 ensembles constituent autant d'unités de gestion (MUs) potentielles. Chacune possède des caractéristiques génétiques qui lui sont propres et qui en font une zone digne d'intérêt. Néanmoins, dans notre contexte de conservation de populations à l'échelle d'une région, il est parfois nécessaire d'établir un ordre de priorité entre les zones à préserver. En effet, il est plus aisé de focaliser les actions de conservation sur des zones clés que de tenter de les appliquer à une région toute entière. Le problème se pose alors de savoir comment choisir les zones à protéger en priorité, sachant que les unités de gestions mises en évidence constituent déjà une première structuration.

Le premier critère qui est en général évoqué est la contribution de cette unité à la diversité et à la différenciation globale dans la région étudiée (**Petit et al., 1998**). En d'autres termes, il s'agit de donner la priorité aux unités possédant un maximum d'haplotypes et d'allèles spécifiques, et qui divergent le plus possible avec les autres unités. Dans le cas de notre étude, les unités prioritaires pourraient donc être : 'Réunion', 'Europa Ponte', 'Tromelin', 'Cosmolédo' et 'Alimentation canal'. Le fait que des haplotypes ou allèles rares aient plus de chance de disparaître par dérive génétique peut constituer un autre élément à prendre en compte dans l'établissement des priorités de conservation.

Par ailleurs, les 'populations mixtes' possèdent également un intérêt certain, car elles sont liées à plusieurs populations et tout événement, positif ou négatif, qui les affectera, aura également un impact sur ces autres populations. Toutefois, la sauvegarde des unités uni-populationnelles reste très importante, puisque celles-ci contribuent de manière importante à la diversité et à la différenciation de l'ensemble. Il faut trouver un juste milieu permettant d'optimiser la sauvegarde du patrimoine génétique de la région tout en maximisant le nombre de populations préservées. De même, les unités constituées d'immaturs ne doivent pas être mises de côté. En effet, elles constituent les adultes et bien que les conséquences du déclin d'un groupe d'immaturs aient peu d'effets visibles à court terme (en dehors du déclin lui-même bien sûr), les effets à long terme seront d'autant plus importants qu'il sera peut-être trop tard pour inverser le processus.

Sur la base de nos données, nous pouvons recommander, pour les discussions futures, la prise en compte de 8 unités de gestion potentielles :

- Ensemble '**Sud**' = {Afrique du Sud, Europa Immatures Ponte, Juan de Nova Immatures ponte}.
- Ensemble '**Réunion**' = {la Réunion (individus sauvages), sud-ouest de Madagascar}.
- Ensemble '**Europa Ponte**' = {Europa Ponte}.
- Ensemble '**Alimentation canal**' = {Mayotte Alimentation, ouest de Madagascar Alimentation}.
- Ensemble '**Ponte Nord Canal**' = {Mayotte Ponte, Mohéli Ponte, Glorieuses Ponte, Tanzanie Ponte, Iranja Ponte}.
- Ensemble '**Mohéli Ponte**' = {Mohéli Ponte}.
- Ensemble '**Cosmolédo**' = {Cosmolédo Ponte, Glorieuses Immatures ponte}.
- Ensemble '**Tromelin**' = {Tromelin Ponte, Tromelin 88-92, Aldabra Immatures ponte}.

Ces futures discussions devront également prendre en compte d'autres paramètres tout aussi importants comme les plans d'aménagement versus les lieux de fréquentation des tortues, les facteurs socio-culturels, le contexte économique, les mesures de gestion des pêcheries, etc. Ces données devront être mises en balance avec les connaissances acquises sur la biologie et le comportement des tortues.

Dans les années à venir des propositions devraient être faites dans ce sens auprès des pays de la COI, intégrant les plans de conservation à l'échelle de la région, et prenant en compte les contraintes nationales et locales. Cette structuration arborescente devrait permettre la prise en compte de conditions particulières et apporter ainsi une plus grande efficacité que les plans de gestion globaux.

## Conclusion générale et perspectives de recherche

En conclusion de cette étude, nous faisons un point sur les éléments de réponse apportés aux questions initialement posées. Il nous a été possible de collecter 1551 échantillons de tortues vertes, à la fois au niveau de sites de ponte et d'alimentation. Cet important effort d'échantillonnage a été possible notamment grâce à la constitution d'un réseau de collaboration avec des chercheurs étrangers sur l'ensemble de la région du sud-ouest de l'océan Indien. La mise au point de protocoles d'analyse opérationnels pour 4 des 6 loci microsatellites étudiés durant cette étude a permis l'obtention d'un jeu de données microsatellites venant compléter celui provenant de l'analyse de la région contrôle de l'ADNmt. L'analyse combinée des données provenant de ces deux types de marqueurs moléculaires nous a permis d'atteindre notre objectif premier qui était de recueillir des éléments sur la structure globale des populations de tortues vertes dans le sud-ouest de l'océan Indien. Nous avons également pu mettre en évidence un certain nombre de caractéristiques et de particularités génétiques de la zone d'étude qui en font une zone digne d'intérêt.

En premier lieu, les populations de tortues marines du sud-ouest de l'océan Indien sont constituées d'individus aux origines très diversifiées, et dont les haplotypes mitochondriaux forment trois clades fortement différenciés. Les populations locales de la région constituent donc, ou ont constitué récemment (0 à 200 000 ans), une population ouverte. Cependant, ces populations locales ont évolué indépendamment de celles de leurs régions d'origine, ayant semble-t-il donné lieu à la formation de 15 nouveaux haplotypes, qui pourraient être spécifiques à la région. Le sud-ouest de l'océan Indien est donc une zone riche et diversifiée, jouant un rôle important dans la diversité génétique de l'espèce.

L'une des principales caractéristiques de la structure des populations dans la région provient du contact dans la zone d'étude d'individus issus des deux métapopulations de tortues vertes (Atlantique-Méditerranée et Indo-Pacifique) démontré par **Bourjea et al. (2007)**. En effet, ce contact a entraîné la formation d'un cline génétique reposant principalement sur les fréquences relatives des haplotypes C3 et CM8, et dont le centre se situerait dans une zone au sud de Juan de Nova. En plus de constituer une zone de contact, cette étude a permis de mettre en évidence l'existence d'échanges génétiques entre les individus des deux métapopulations, ainsi qu'entre ceux des deux clades indo-pacifiques ('C3' et 'A2'). Le sud-ouest de l'océan Indien constitue donc une zone de mélange et une source de brassage génétique à l'échelle de l'espèce.

Les analyses réalisées ont permis la détermination de 8 ensembles d'individus génétiquement différenciés dans la zone d'étude, en plus du groupe témoin (la Polynésie française). En outre, la présence d'au moins 6 populations dans la région a été identifiée. Ces ensembles constituent des unités de gestion (MUs) potentielles, qui pourront servir de base à l'élaboration de plans de gestion et de conservation de la tortue verte. Cette dernière passant par l'intégration de facteurs socio-économiques, culturels, et géographiques. Les unités à privilégier au niveau de la diversité et de la différenciation génétiques sont celles regroupant les individus de la Réunion, d'Europa (Ponte), de Cosmolédo, de Tromelin, et dans une moindre mesure les individus en alimentation à Mayotte et dans les îles Barrens (Madagascar).

Les tortues en phase d'alimentation dans la région semblent former des 'populations mixtes', à l'instar de la situation observée dans d'autres régions du monde. De même, les sites de ponte sont fortement différenciés du point de vue de l'ADNmt, en accord avec la forte philopatrie supposée de la femelle, et l'hypothèse d'unité populationnelle des tortues en phase de reproduction sur un même site.

La structure génétique des groupes de femelles et de mâles en alimentation ne diffère pas de manière significative. De plus, les résultats de cette étude montre l'existence d'un flux de gènes importants par la voie mâle sur l'ensemble de la région. Celui-ci pourrait résulter soit d'une moindre philopatrie des mâles par rapport aux femelles, soit de l'existence d'accouplement sur les sites d'alimentation ou lors des migrations génésiques. Les éléments recueillis ne nous permettent pas de trancher définitivement la question.

Bien que les immatures se différencient génétiquement peu ou pas des autres groupes de tortues fréquentant le site considéré, leur structuration génétique présente certaines particularités par rapport à celles des adultes. En effet, les immatures semblent s'organiser en pools régionaux, du fait de l'action conjointe des courants océaniques et d'un phénomène de philopatrie.

Malgré l'observation de quelques tendances, la composition génétique d'un groupe ne varie pas significativement au cours de l'année. En revanche, celle-ci peut varier d'une année à l'autre comme à Mohéli où au moins 2 populations viennent pondre en alternance sur l'île. Cet élément doit être pris en compte dans l'élaboration de stratégies de conservation de l'espèce dans la région. On observe également une évolution de cette composition sur une ou deux décennies, notamment au niveau de la richesse haplotypique. Cette évolution diffère selon le site considéré, peut-être en relation avec les actions de conservation qui y ont été entreprises.

La distance géographique ne semble pas constituer un facteur essentiel dans la structuration des populations, excepté pour les immatures. Par ailleurs, les femelles, pondant sur deux plages d'une même île, peuvent diverger génétiquement, comme c'est le cas de Saziley et des plages de Moya et N'Gouja (Mayotte). La distance géographique entre deux sites ne suffit pas pour nous renseigner totalement sur leur distance génétique et ne peut pas constituer un critère fiable dans l'identification de zones à préserver en priorité.

En outre, la structure des populations observée est en accord avec le système de courants océaniques dans la région. Les cycles de glaciation pourraient avoir joué un rôle non seulement dans le passage d'immigrants entre l'océan Atlantique et l'océan Indien, mais également dans la dynamique de la structure des populations au niveau des sites de pontes. Ces cycles constitueraient un facteur de structuration important. Ceci souligne davantage l'importance de prévenir les futurs effets du réchauffement climatique qui pourraient s'avérer néfastes pour la conservations des populations de tortues vertes.

Les tortues de la Réunion forment, avec celles du sud-ouest de Madagascar, un ensemble fortement différencié génétiquement, et constituent une unité de gestion potentielle (MU). Cet ensemble présente des influences possibles de l'Atlantique, du sud du canal du Mozambique (notamment Europa), de Tromelin, et de la région du Sud-Est asiatique et de l'Australie. Il peut soit constituer une population spécifique très diversifiée, soit être la réunion d'individus appartenant à des populations distinctes et très différenciées, certains ayant changé de site de ponte, mais n'ayant pas encore acquis une cohérence globale propre leur permettant de constituer une seule et même population.

En conclusion, le sud-ouest de l'océan Indien est une zone de mélange extrêmement diversifiée, qui pourrait jouer un rôle dans le maintien de la diversité et de l'intégrité de l'espèce.

Pour l'avenir, il conviendrait de compléter le travail réalisé par l'analyse d'échantillons du Mozambique, qui constitue par sa façade maritime un pays clé au niveau du canal du Mozambique. Beaucoup d'études portent sur l'est de l'océan, mais très peu ont cherché à

déterminer la structure des populations de tortues vertes dans le nord de l'océan Indien. Ce complément permettra d'avoir une vision globale des populations de tortues vertes dans l'ensemble de l'océan Indien.

L'étude des tortues réunionnaises devrait être poursuivie et approfondie car la Réunion constitue un véritable laboratoire pour l'étude en temps réel des phénomènes de fondation.

Dans la zone Pacifique, les quelques résultats obtenus concernant l'ADNmt des tortues vertes de Polynésie française montrent tout l'intérêt qu'il y aurait à poursuivre cette étude.

Lors de cette étude, nous avons pu constater que la génétique constitue un bon outil pour l'étude de la structure des populations de tortues. Par la suite, il serait intéressant d'utiliser d'autres techniques d'analyse comme les tests d'assignation (**Lee et al., 2007**) ou les *Mismatch Stock Analysis* MSA (**Formia, 2002**), afin d'essayer de mieux identifier l'origine des tortues constituant les agrégations mixtes. Il est également envisageable de tester de nouveaux couples d'amorces pour le locus microsatellite Cm84, ou d'utiliser d'autres loci microsatellites en complément de ceux étudiés lors de cette thèse. Il est également essentiel de confronter nos résultats avec ceux obtenus à l'aide d'autres techniques : télémétrie satellitaire, acoustique. Ceci pouvant nous permettre de vérifier certaines de nos hypothèses.

Enfin, il serait intéressant de comparer la structure des populations mise en évidence pour la tortue verte dans le sud-ouest de l'océan Indien avec celle d'autre espèces comme la tortue Imbriquée, qui n'ont jusqu'à présent fait l'objet d'aucune étude génétique dans la région, excepté aux Seychelles (**Mortimer & Broderick, 1999**).

Afin de valoriser les résultats obtenus lors de cette étude, plusieurs articles scientifiques sont en cours de rédaction :

- un visant à présenter l'étude de la structure des populations des tortues vertes sur l'ensemble de la région du sud-ouest de l'océan Indien,
- un autre traitant de manière plus approfondie les caractéristiques de la zone de contact que constitue la région et du cline génétique qui en découle.
- un autre présentant les résultats obtenus lors de l'étude des facteurs pouvant influencer la structure génétique.
- enfin, un spécifique au cas de la Réunion.

## Références Bibliographiques

- Allard, M. W., Miyamoto, M. M., Bjorndal, K. A., Bolten, A. B. & Bowen, B. W. 1994. Support for natal homing in green turtles from mitochondrial DNA sequences. *Copeia*, **1**, 34-41.
- Avens, L. & Lohmann, K. J. 2003. Use of multiple orientation cues by juvenile loggerhead sea turtles *Caretta caretta*. *The Journal of Experimental Biology*, **206**, 4317-4325.
- Avise, J. C. 1998. Conservation genetics in the marine realm. *Journal of Heredity*. **89**, 377-382.
- Avise, J. C., Bowen, B. W., Lamb, T., Meylan, A. B. & Bermingham, E. 1992. Mitochondrial DNA Evolution at a Turtle's Pace: Evidence for Low Genetic Variability and Reduced Microevolutionary Rate in the Testudines. *Molecular Biology and Evolution*, **9**, 457-473.
- Balazs, G. H. 1982. Growth rates of immature green turtles in the Hawaiian archipelago. In: *Biology and conservation of sea turtles* (Ed. by Bjorndal K.A.). p. 117-125. Smithsonian Inst. Press, Washington, D.C.
- Barton, N.H. 2001. The role of hybridization in evolution. *Molecular Ecology*. **10**. pp551-568.
- Barton, N.H. & Hewitt, G.M., 1989. Adaptation, speciation and hybrid zones. *Nature*, **341**. pp497-503
- Bass, A. L., Epperly, S. P., Braun-McNeill, J. 2006. Green Turtle (*Chelonia mydas*) Foraging and Nesting Aggregations in the Caribbean and Atlantic: Impact of Currents and Behavior on Dispersal. *Journal of Heredity*. Vol. **97**(4). pp346-354.
- Bass, A. L., Lagueux, C. J. & Bowen, B. W. 1998. Origin of green turtles, *Chelonia mydas*, at "sleeping rocks" off the northeast coast of Nicaragua. *Copeia*, **4**, 1064-1069.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., Bonhomme F. 1996-2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France). <http://www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/genetix.htm>
- Bickham, J. W., Carr, J. L. 1983. Taxonomy and phylogeny of the higher categories of cryptodiran turtles based on a cladistic analysis of chromosomal data. *Copeia*. **4**, pp918-932.
- Bjorndal, K. A., 1997. Foraging ecology and nutrition of sea turtles, *In The Biology of Sea Turtles*, Lutz and Musick (Eds). *CRC Marine Science Series*, 199-231.
- Bjorndal, K. A., Sugasuma, H. & Bolten, A. B. 1991. Digestive Fermentation in Green Turtles, *Chelonia-Mydas*, Feeding on Algae. *Bulletin of Marine Science*, **48**, 166-171.
- Bolten, A. B. 2003. Variation in sea turtle life history patterns: neritic vs. oceanic developmental stages. In: *The biology of sea turtles. Volume II* (Ed. by Lutz, P. L., Musick, J. A. & Wyneken, J.), pp. 243-257. Boca Raton: CRC Press.
- Bonhomme, F., Salvidio, S., Lebeau, A. & Pasteur, G. 1987. Genetic Comparison of Green-Turtles (*Chelonia-Mydas*) from the Atlantic, Indian and Pacific Oceans - Possible Example of Muller Classical-Theory of Population Genetic-Structure. *Genetica*, **74**, 89-94.

- Bonnet, B., Le Gall, J.-Y., Lebrun, G. 1985. Tortues marines de la Réunion et des Iles Eparses. *Biba's Communication*, Saint-Denis, Ile de la Réunion.
- Bosc, P. & Le Gall, J. Y. 1986. Nest Site Fidelity of the Green Turtle *Chelonia-Mydas* on Tromelin-Island (Indian-Ocean). *Oceanologica Acta*, **9**, 489-495.
- Bourjea, J., Lapegue, S., Gagnevin, L., Broderick, D., Mortimer, J. A., 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, B., Avise, J. C., Richardson, J. I., Meylan, A. B., Margaritoulis, D. & Hopkinsmurphy, S. R. 1993. Population-Structure of Loggerhead Turtles (*Caretta-Caretta*) in the Northwestern Atlantic-Ocean and Mediterranean-Sea. *Conservation Biology*, **7**, 834-844.
- Bowen, B. W. & Karl, S. A. 1997. Population Genetics, Phylogeography, and Molecular Evolution. In: *The Biology of Sea Turtles* (Ed. by Lutz, P. L. & Musick, J. A.), pp. 29-50. Boca Raton: CRC Press.
- Bowen, B. W. & Karl, S. A. 1999. In war, truth is the first casualty. *Conservation Biology*, **13**, 1013-1016.
- Bowen, B. W., Meylan, A. B. & Avise, J. C. 1989. An Odyssey of the Green Sea Turtle - Ascension Island Revisited. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **86**, 573-576.
- Bowen, B. W., Meylan, A. B., Ross, J. P., Limpus, C. J., Balazs, G. H. & Avise, J. C. 1992. Global population structure and natural history of the green turtle (*Chelonia mydas*) in terms of matriarchal phylogeny. *Evolution*, **46**, 865-881.
- Bowen, B. W., Nelson, W. S. & Avise, J. C. 1993. A Molecular Phylogeny for Marine Turtles - Trait Mapping, Rate Assessment, and Conservation Relevance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **90**, 5574-5577.
- Brand-Gardner, S. J., Lanyon, J. M. & Limpus, C. J. 1999. Diet selection by immature green turtles, *Chelonia mydas*, in subtropical Moreton Bay, south-east Queensland. *Australian Journal of Zoology*, **47**, 181-191.
- Brongniart, A. 1799. Essai d'une classification naturelle des reptiles. In: *Bulletin des sciences*, Société de Philomathique de Paris. Tome **2**, 89.
- Brill, R. W. B., G.H.;Holland, K.N.;Chang, R.K.C.;Sullivan, S.; George, J.C. . 1995. Daily movements, habitat use, and submergence intervals of normal and tumor-bearing juvenile green turtles (*Chelonia mydas* L.) within a foraging area in the Hawaiian Islands. *J. EXP. MAR. BIOL. ECOL.* , **vol. 185** pp. 203-218
- Broderick, D., Johanson, H., Moritz, C. & Limpus, C. 1997. Genetic assessment of green turtles nesting at Tromelin and Europa atolls in the Réunion French territories. pp. 18. Queensland, Australia: Department of Zoology and the Center for Conservation Biology.
- Broderick, A. C., Frauenstein, R., Glen, F., Hays, G. C., Jackson, A. L., Pelembe, T., Ruxton, G. D., Godley, B. J. 2006. Are green turtles globally endangered? *Global Ecology and Biogeography*. **15**. pp21–26.

- Brookfield, J. F. Y. 1996. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology*, **5**, 453-455.
- Carpenter, A. I. 2006. Conservation convention adoption provides limited conservation benefits: The Mediterranean Green turtle as a case study. *Journal for Nature Conservation*. **14**. pp 91-96.
- Carr, A. 1986. Rips, FADS, and Little Loggerheads. *BioScience*, Vol. 36, No. 2, 92-100.
- Carr, A., Coleman, P. J. 1974. Seafloor spreading theory and the odyssey of the Green turtle. *Nature*, **249**, 128-130.
- Carr, A., Meylan, A.B. 1980. Evidence of passive migration of green turtle hatchlings in sargassum. *Copeia*, **2**, 366-368.
- Cavalli-Sforza, L. L., Edwards, A. W. F. 1967. Phylogenetic Analysis: Models and Estimation Procedures. *Evolution*, Vol. **21**, (3), 550-570.
- Chaloupka, M. Y. & Musick, J. A. 1997. Age, Growth and Population Dynamics. In: *The biology of sea turtles. Volume I* (Ed. by Lutz, P. L. & Musick, J. A.), pp. 233-276. Boca Raton: CRC Press.
- Chaloupka, M., Limpus, C. & Miller, J. 2004. Green turtle somatic growth dynamics in a spatially disjunct Great Barrier Reef metapopulation. *Coral Reefs*, **23**, 325-335.
- Chaloupka, M., Balazs, G. 2007. Using Bayesian state-space modelling to assess the recovery and harvest potential of the Hawaiian green sea turtle stock. *Ecological modelling*. **205**. pp93-109.
- Chandler, C. R., Gromko, M.H. 1989. On the Relationship Between Species Concepts and Speciation Processes. *Systematic Zoology*, Vol. **38**(2). pp. 116-125.
- Chassin Noria, O., Piñero, D. D., Dutton, P., Alvarado, J., Abreu Grobois, F. A. 1998. Genetics of Mexican Black turtle rookeries based on mtDNA D-Loop sequences – preliminary results. Proceedings of the Eighteenth International Sea Turtle Symposium, 3-7 March 1998, México. NOAA Technical Memorandum MFS-SEFSC-436. pp154-155.
- Chassin-Noria, O., Abreu-Grobois, A. F., Dutton, P. H. & Oyama, K. 2004. Conservation genetics of the east Pacific green turtle (*Chelonia mydas*) in Michoacan, Mexico. *Genetica*, **121**, 195-206.
- Cheng, I. J. 2000. Post-nesting migrations of green turtles (*Chelonia mydas*) at Wan-An Island, Penghu Archipelago, Taiwan. *Marine Biology*, **137**, 747-754.
- Chevalier, J., Gheerbrant, A. 1997. Dictionnaire des symboles, mythes, rêves, coutumes, gestes, formes, figures, couleurs, nombres. Editions Robert Laffont, collection Bouquins 1100p.
- Ciccione, S. 2001. Autopsie de tortues marines *Chelonia mydas*, retrouvées mortes à la Réunion. *Bulletin Phaeton*, **13**, 14-15.
- Ciccione, S. & Bourjea, J. 2006. Nesting of Green Turtles in Saint Leu, Reunion Island. *Marine Turtle Newsletter* [Mar. Turtle Newsl.]. no. 112, pp. 1-3.
- Ciccione, S., Taquet, M., Roos, D., Barde, J. 2002. Assistance à la DAF de Mayotte pour la mise en place d'une étude sur les tortues marines. Rapport final de convention DAF/CEDTM/IFREMER, 34p.

- Ciccione, S., Rolland, R. 2005. Assistance à la DAF de Mayotte pour l'encadrement scientifique et la formation des agents sur les programmes d'étude et de conservation des tortues marines et de leurs habitats à Mayotte. Rapport de convention DAF/CEDTM/IFREMER, 35p.
- Ciccione, S., Taquet, M., Roos, D., Taquet, C., Ballorain, C., 2003. Assistance à la DAF de Mayotte pour l'encadrement scientifique et la formation des agents sur les programmes d'étude et de conservation des tortues marines et de leurs habitats à Mayotte. Rapport de convention DAF/CEDTM/IFREMER, 45p.
- Costa, A., Motta, H., Pereira, M. A. M., Videira, E. J. S., Louro C. M. M. , Joã, J. 2007. Marine Turtles in Mozambique: Towards an Effective Conservation and Management Program, *Marine Turtle Newsletter*, 117, 1-3
- Courtney, A. J., Tonks, M. L., Campbell, M. J., Roy, D. P., Gaddes, S. W., Kyne, P. M., O'Neill, M. F. 2006. Quantifying the effects of bycatch reduction devices in Queensland's (Australia) shallow water eastern king prawn (*Penaeus plebejus*) trawl fishery. *Fisheries Research*. **80**(2-3). pp136-147.
- Dakin, E. E. & Avise, J. C. 2004. Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity*, **93**, 504–509.
- D'Aloia, M. A. & Al-Ghais, S. M. 2000. Preliminary genetic analysis of the Green Turtle, *Chelonia mydas*, in the Arabian Gulf using mitochondrial DNA. *Zoology in the Middle East*, **21**, 47-54.
- De Vienne, D. 1998. Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales. INRA Editions, Paris.
- Derand, D. 1996. The status of sea turtle conservation in French territories of Indian Ocean: la Réunion. In: *Status of Sea Turtle Conservation in the Western Indian Ocean*. (Ed. by Humphrey, S. L. & Salm R. V.). Regional Seas Reports and Studies. IUCN/UNEP.
- Dethmers, K. E. M., Broderick, D., Moritz, C., Fitzsimmons, N. N., Limpus, C. J., Lavery, S., Whiting, S., Guinea, M., Prince, R. I. T. & Kennett, R. 2006. The genetic structure of Australasian green turtles (*Chelonia mydas*): exploring the geographical scale of genetic exchange. *Molecular Ecology*, **15**, 3931-3946.
- Dizon, A. E. B., Balazs, G.H. 1982. Radio telemetry of Hawaiian green turtles at their breeding colony. *MAR. FISH. REV.* , **vol. 44** pp. 13-20
- Dutton, P. H. 1996. Methods for collection and preservation of samples for sea turtle genetic studies. In: *Symposium on Sea Turtle Conservation Genetics* (Ed. by Bowen, B. W. & Witzell, W. N.), pp. 17-24. Miami, FL (USA): NOAA Natl. Mar. Fish. Serv.
- Dutton, P. H., Davis, S. K., Guerra, T. & Owens, D. 1996. Molecular Phylogeny for Marine Turtles Based on Sequences of the ND4-Leucine tRNA and Control Regions of Mitochondrial DNA. *Molecular phylogenetics and evolution*, **5**, 511–521.
- Encalada, S. E., Lahanas, P. N., Bjorndal, K. A., Bolten, A. B., Miyamoto, M. M. & Bowen, B. W. 1996. Phylogeography and population structure of the Atlantic and Mediterranean green turtle *Chelonia mydas*: a mitochondrial DNA control region sequence assessment. *Molecular Ecology*, **5**, 473-483.
- Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S. 1998-2007. Arlequin 3.1, An integrated software package for population genetics data analysis. Laboratoire de génétique et biométrie (Département d'anthropologie et d'écologie), Université de Genève.  
<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3/>

- FitzSimmons, N. N. 1996. Use of microsatellite loci to investigate multiple paternity in marine turtles. In: *Symposium on Sea Turtle Conservation Genetics* (Ed. by Bowen, B. W. & Witzell, W. N.), pp. 69-78. Miami, FL (USA): NOAA Natl. Mar. Fish. Serv.
- Fitzsimmons, N. N. 1998. Single paternity of clutches and sperm storage in the promiscuous green turtle (*Chelonia mydas*). *Molecular Ecology*, **7**, 575-584.
- Fitzsimmons, N. N., Moritz, C., Limpus, C. J., Miller, J. D., Parmenter, C. J., Prince, R. 1996. Comparative genetic structure of green, loggerhead, and flatback populations in Australia based on variable mtDNA and nDNA regions. In: *Symposium on Sea Turtle Conservation Genetics* (Ed. by Bowen, B. W. & Witzell, W. N.), pp. 25-32. Miami, FL (USA): NOAA Natl. Mar. Fish. Serv.
- FitzSimmons, N. N., Moritz, C., Limpus, C. J., Pope, L. & Prince, R. 1997. Geographic structure of mitochondrial and nuclear gene polymorphisms in Australian green turtle populations and male-biased gene flow. *Genetics*, **147**, 1843-1854.
- Fitzsimmons, N. N., Moritz, C., Moore, S. S. 1995. Conservation and Dynamics of Microsatellite Loci over 300-Million Years of Marine Turtle Evolution. *Molecular Biology and Evolution*, **12**, 432-440.
- FitzSimmons, N. N. L., Norman, J.A., Goldizen, A.R., Miller, J.D., Moritz, C. 1997. Philopatry of male marine turtles inferred from mitochondrial DNA markers. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* vol. **94** pp. 8912-8917
- Fitzsimmons, N. N., Tucker A. D., Limpus C. J. 1995. Long-term breeding histories of male green turtles and fidelity to a breeding ground. *Marine Turtle Newsletter* **68**, 2-4.
- Formia, A. 2002. Population and genetic structure of the green turtle (*Chelonia mydas*) in west and central Africa: implications for management and conservation. PhD Thesis of Cardiff University, U.K.
- Frappier, J. 2006. Suivi et tendances à long terme de la population de tortue verte marine (*Chelonia mydas*) nidifiant à Mayotte (Océan Indien). Ifremer/Kélonia, Master Statistiques, Université de Franche-Comté, 57pp.
- Frazer, N. B. & Ladner, R. C. 1986. A Growth Curve for Green Sea-Turtles, *Chelonia-Mydas*, in the United-States Virgin-Islands, 1913-14. *Copeia*, 798-802.
- Frazer, N. B. E., L.M. . 1985. Preliminary growth models for green, *Chelonia mydas* , and loggerhead, *Caretta caretta* , turtles in the wild. *COPEIA* . , pp. 73-79
- Fretey, J., Fourmy, J. 1996. The status of sea turtle conservation in French territories of Indian Ocean: Mayotte. In: *Status of Sea Turtle Conservation in the Western Indian Ocean*. (Ed. by Humphrey, S. L. & Salm R. V.). Regional Seas Reports and Studies. IUCN/UNEP.
- Galbraith, D. A. 1993. Review: Multiple Paternity and Sperm Storage in Turtles. *Herpetological Journal*, **3**, 117-123.
- Girard C. 2005. Etude du comportement d'orientation d'espèces pélagiques tropicales vis-à-vis d'attracteurs. Thèse de Doctorat de l'Université de La Réunion, 250 p.
- Girard, C., Sudre, J., Benhamou, S., Roos, D. & Luschi, P. 2006. Homing in green turtles *Chelonia mydas*: oceanic currents act as a constraint rather than as an information source. *Marine Ecology-Progress Series*, **322**, 281-289.

- Glen, F., Broderick, A. C., Godley, B. J., Hays, G. C. 2006. Thermal control of hatchling emergence patterns in marine turtles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **334**, 31-42.
- Godley, B. J., Broderick, A. C., Glen, F., Hays, G.C. 2002. Temperature-dependent sex determination of Ascension Island green turtles. *Marine Ecology Progress Series*. **226**, pp. 115-124.
- Goodman, S. J. 1997. Rst calc: a collection of computer programs for calculating estimates of genetic differentiation from microsatellite data and determining their significance. *Molecular Ecology*, **6**, 881-885.
- Gould, S. J. 1994. Ernst Mayr and the Centrality of Species. *Evolution*. Vol. **48**(1). pp 31-35.
- Guerniou, A., Nicet J. B. 2001. Inventaire des herbiers marins du récif frangeant de Mayotte (côte ouest). Collectivité Territoriale de Mayotte, Rapport DAF/SPEM, 47p.
- Hartl, D. L. 1994. Génétique des populations. Médecine-Sciences, éditions Flammarion. 305p.
- Hatase, H., Sato, K., Yamaguchi, M., Takahashi, K. & Tsukamoto, K. 2006. Individual variation in feeding habitat use by adult female green sea turtles (*Chelonia mydas*): are they obligately neritic herbivores? *Oecologia*, **149**, 52-64.
- Hays, G. C. 2004. Good news for sea turtles. *TRENDS in Ecology and Evolution*. Vol.**19**(7). pp349-351.
- Hays, G. C., Glen, F., Broderick, A. C., Godley, B. J. & Metcalfe, J. D. 2002. Behavioural plasticity in a large marine herbivore: contrasting patterns of depth utilisation between two green turtle (*Chelonia mydas*) populations. *Marine Biology*, **141**, 985-990.
- Heithaus, M. R., McLash, J. J., Frid, A., Dill, L. M. & Marshall, G. 2002. Novel insights into green sea turtle behaviour using animal-borne video cameras. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **82**, 1049-1050.
- Hewitt, G.M. 1988. Hybrid Zones - Natural laboratories for evolutionary studies. *Trends in Ecology and Evolution*. **7**. pp158-167
- Hewitt, G. M. 2001. Speciation, hybrid zones and phylogeography — or seeing genes in space and time. *Molecular Ecology* **10**, 537-549.
- Hirth, H. F. 1978. A model of the evolution of green turtle (*Chelonia mydas*) remigrations. *Herpetologica*, **34**, 141-147.
- Hirth, H. F. 1978. A model of the evolution of green turtle (*Chelonia mydas*) remigrations. *Herpetologica*. Vol. 34(2), pp141-147.
- Hughes, G.R., 1972. A proposed sea turtle research and conservation programme for the island nature reserves of Europa, Tromelin, Juan Do Nova, and Les Glorieuses. Oceanographic Research Institute of Durban.
- Ireland, J. S., Broderick, A. C., Glen, F., Godley, B. J., Hays, G. C., Lee, P. L. M. & Skibinski, D. O. F. 2003. Multiple paternity assessed using microsatellite markers, in green turtles *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) of Ascension Island, South Atlantic. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **291**, pp149-160.
- Jaquemet, S., Le Corre, M. & Quartly, G. D. 2007. Ocean control of the breeding regime of the sooty tern in the southwest Indian Ocean. *Deep Sea Research (Part I, Oceanographic Research Papers)*, **54**, 130-142.

- Jones, A. G., 2005. GERUD 2.0: a computer program for the reconstruction of parental genotypes from half-sib progeny arrays with known or unknown parents. *Molecular Ecology, Notes* **5**, 708–711. <http://www.bio.tamu.edu/USERS/ajones/JonesLab.htm>
- Karl, S. A. & Bowen, B. W. 1999. Evolutionary Significant Units versus Geopolitical Taxonomy: Molecular Systematics of an Endangered Sea Turtle (genus *Chelonia*). *Conservation Biology*, **13**, 990-999.
- Karl, S. A., Bowen, B. W. & Avise, J. C. 1992. Global Population Genetic-Structure and Male-Mediated Gene Flow in the Green Turtle (*Chelonia-Mydas*) - Rflp Analyses of Anonymous Nuclear Loci. *Genetics*, **131**, 163-173.
- Kerstetter, D. W., Graves, J. E. 2006. Effects of circle versus J-style hooks on target and non-target species in a pelagic longline fishery. *Fisheries Research*. **80**(2-3). pp239-250
- Koch, V., Nichols, W. J., Peckham, H., de la Toba, V. 2005. Estimates of sea turtle mortality from poaching and bycatch in Bahía Magdalena, Baja California Sur, Mexico. *Biological Conservation*. **128**(3). pp327-334
- Lahanas, P. N., Bjorndal, K. A., Bolten, A. B., Encalada, S. E., Miyamoto, M. M., Valverde, R. A. & Bowen, B. W. 1998. Genetic composition of a green turtle (*Chelonia mydas*) feeding ground population: Evidence for multiple origins. *Marine Biology*, **130**, 345-352.
- Laurent, V., Voisin, M., Planes, S. 2006. Genetic Clines in the Bay of Biscay Provide Estimates of Migration for *Sardina pilchardus*. *Journal of Heredity*. **97**(1):81–88.
- Lauret-Stepler, M., Bourjea, J., Roos, D., Pelletier, D., Ryan, P. G., Ciccione, S. & Grizel, H. 2007. Reproductive seasonality and trend of *Chelonia mydas* in the SW Indian Ocean: a 20 yr study based on track counts. *Endangered Species Research [Endangered Species Res.]*. Vol. 3, no. 2.
- Le Gall, J.-Y. 1985. Elevage de la tortue verte marine à l'île de La Réunion. In: *La Pêche Maritime*, pp. 434-440.
- Le Gall, J.-Y. 1989. Tectonique des plaques, biogéographie et migrations: Exemple de la tortue verte marine *Chelonia mydas*. *Océanis*, **15**, 143-160.
- Le Gall, J. Y., Taquet, M., Cluet, D. & Biais, G. 1988. Topographic and thermic characteristics of a major nesting site of the green turtle *Chelonia mydas* in the South West Indian Ocean: Europa. *Mésogée*. vol.48, pp43-49.
- Le Gall, J.-Y., Bosc, P., Chateau, D. & Taquet, M. 1986. An estimation of the number of adult females of green turtles *Chelonia mydas* per nesting season at Tromelin and Europa (Indian Ocean) (1973-1985). *Oceanogr. Trop.*, vol. **21**, pp. 3-22.
- Le Gall, J.-Y., Chateau, D. & Bosc, P. 1985. Rythme de reproduction inter annuel des tortues vertes *Chelonia mydas* sur les sites de ponte Tromelin et Europa (océan Indien). *C.R. Acad. Sc. Paris*, tome **301**, 195-200.
- Le Gall, J.-Y. & Hughes, G. R. 1987. Migrations de la tortue verte *Chelonia mydas* dans l'Océan Indien Sud-Ouest observées à partir des marquages sur les sites de ponte Europa et Tromelin (1970-1985). *Amphibia-Reptilia*, **8**, 277-282.
- Le Gall, J.-Y., Lebeau, A. & Kopp, J. 1985. Estimation of green turtle *Chelonia mydas* hatching on breeding places of Europa and Tromelin (Indian Ocean). *Oceanogr. Trop.*, vol. **20**, pp. 117-133.

- Lee, P. L. M., Luschi, P. & Hays, G. C. 2007. Detecting female precise natal philopatry in green turtles using assignment methods. *Molecular Ecology*, **16**, 61-74.
- Lewison, R. L., Crowder, L. B. 2007. Putting Longline Bycatch of Sea Turtles into Perspective. *Conservation Biology*. **21**(1), 79–86
- Limpus, C. & Chaloupka, M. 1997. Nonparametric regression modelling of green sea turtle growth rates (southern Great Barrier Reef). *Marine Ecology-Progress Series*, **149**, 23-34.
- Limpus, C. J. & Limpus, D. J. 2000. Mangroves in the Diet of *Chelonia mydas* in Queensland, Australia. *Marine Turtle Newsletter*, **89**, 13-15.
- Limpus, C. J. & Walter, D. G. 1980. The Growth of Immature Green Turtles (*Chelonia-Mydas*) under Natural Conditions. *Herpetologica*, **36**, 162-165.
- Linné, C. 1758. *Systema naturæ per regna tria naturæ, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*. Laurentii Salvii (Salvius publ.). 10<sup>ème</sup> édition. 197pp.  
disponible en ligne : [http://dz1.gdz-cms.de/no\\_cache/dms/load/img/](http://dz1.gdz-cms.de/no_cache/dms/load/img/)
- Lohmann, K. J., Lohmann, C. M. F., Ehrhart, L. M., Bagley, D. A. & Swing, T. 2004. Geomagnetic map used in sea-turtle navigation. These migratory animals have their own equivalent of a global positioning system. *Nature*, **428**.
- Luke, K., Horrocks, J. A., LeRoux, R. A. & Dutton, P. H. 2004. Origins of green turtle (*Chelonia mydas*) feeding aggregations around Barbados, West Indies. *Marine Biology*, **144**, 799–805.
- Luschi, P., Benhamou, S., Girard, C., Ciccione, S., Roos, D., Sudre, J. & Benvenuti, S. 2007. Marine turtles use geomagnetic cues during open-sea homing. *Current Biology*, **17**, 126-133.
- Luschi, P., Hays, G. C., Del Seppia, C., Marsh, R. & Papi, F. 1998. The navigational feats of green sea turtles migrating from Ascension Island investigated by satellite telemetry. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, **265**, 2279-2284.
- Lutjeharms, J. R. E. & Machu, E. 2000. An Upwelling Cell Inshore of the East Madagascar Current. *Deep-Sea Research*, **47**, 2405-2411.
- Marquez, M. R. 1990. *FAO species catalogue. Sea turtles of the world. An annotated and illustrated catalogue of the sea turtle species known to date*. Rome: FAO.
- Mendonca, M. T. 1981. Comparative Growth-Rates of Wild Immature *Chelonia-Mydas* and *Caretta-Caretta* in Florida. *Journal of Herpetology*, **15**, 447-451.
- Mendonca, M. T. 1983. Movements and Feeding Ecology of Immature Green Turtles (*Chelonia-Mydas*) in a Florida Lagoon. *Copeia*, 1013-1023.
- Meylan, A. B., Bowen, B. W. & Avise, J. C. 1990: A genetic test of the natal homing versus social facilitation models for green turtle migration. *Science* **248**, 724-727.
- Miller, J. D. 1997. Reproduction in Sea Turtles. In: *The biology of sea turtles. Volume I* (Ed. by Lutz, P. L. & Musick, J. A.), pp. 51-82. Boca Raton: CRC Press.
- Mohadji, F. B., Paris, B. (Coord.). 2000. *Plan d'Action pour la Conservation des Tortues Marines en République Fédérale Islamique des Comores*. Direction Générale de l'Environnement, Projet Biodiversité (PNUD/FEM/DGE).

- Mohadjji F. B., Zarcach, H. E., Mbindo, C. 1996. The status of sea turtle conservation in the Comoros. In: *Status of Sea Turtle Conservation in the Western Indian Ocean*. (Ed. by Humphrey, S. L. & Salm R. V.). Regional Seas Reports and Studies. IUCN/UNEP.
- Moore, M. K. & Ball, R. M. 2002. Multiple paternity in loggerhead turtle (*Caretta caretta*) nests on Melbourne Beach, Florida: a microsatellite analysis. *Molecular Ecology*, **11**, 281-288.
- Mora, C., Andréfouët, S., Costello, M.J., Kranenburg, C., Rollo, A., Veron, J., Gaston, K. J., Myers, R. A. 2006. Coral Reefs and the Global Network of Marine Protected Areas. *Science*. **312**. pp1750-1751.
- Moritz, C., Broderick, D., Dethmers, K., FitzSimmons, N. & Limpus, C. 2002. Population genetics of Southeast Asian and Western Pacific green turtles, *Chelonia mydas*. pp. 43. Queensland, Australia: Final Report to UNEP/CMS.
- Moritz, C., Lavery, S. & Slade, R. 1995. Using allele frequency and phylogeny to define units for conservation and management. In: *Symposium on Evolution and the Aquatic Ecosystem: Defining Unique Units in Population Conservation*. Monterey, CA (USA).
- Mortimer, J.A., 1982. Factors influencing beach selection by nesting sea turtles, p 45-51. In: *Biology and Conservation of sea turtles*, K. A. Bjorndal (ed.), *Smithsonian Institution Press*, Washington D. C.
- Mortimer, J.A. 2004. Seychelles Marine Ecosystem Management Project (SEYMEMP): Turtle Component. Final Report. Vol 1: Text, 243pp. Volume 2: Appendix 1-11, 158pp.
- Mortimer, J. A., Broderick, D. 1999. Population genetic structure and developmental migrations of sea turtles in the Chagos Archipelago and adjacent regions inferred from mtDNA sequence variation. In Sheppard, CRC and Seaward, MRD (eds). *Ecology of the Chagos Archipelago*. Linnean Society Occasional Publications 2, 185-194.
- Muths, D. 2006. Structures génétique et démographique des populations de deux espèces d'ophiures aux caractéristiques biologiques contrastées, *Acrocnida brachiata* et *Ophiothrix fragilis*, en Atlantique Nord-Est. Thèse de doctorat de l'université Paris VI. 184p.
- Naro-Maciel, E., Becker, J. H., Lima, E., Marcovaldi, M. A. & DeSalle, R. 2007. Testing dispersal hypotheses in foraging green sea turtles (*Chelonia mydas*) of Brazil. *Journal of Heredity*, **98**, 29-39.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, Vol. **106**, No. 949, 283-292.
- Ogden, J. C., Robinson, L., Whitlock, K., Daganhardt, H. & Cebula, R. 1983. Diel Foraging Patterns in Juvenile Green Turtles (*Chelonia-Mydas* L) in St-Croix United-States Virgin-Islands. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **66**, 199-205.
- Olmo, E. 2005. Rate of chromosome changes and speciation in reptiles. *Genetica*. Vol. 125, pp185-203.
- Papi, F. & Luschi, P. 1996. Pinpointing 'Isla Meta': the case of sea turtles and albatrosses. *The Journal of Experimental Biology*, **199**, 65-71.
- Parker, P. G., Waite, T. A. & Peare, T. 1996. Paternity studies in animal populations. In: *Molecular Genetic Approaches in Conservation* (Ed. by Smith, T. B. & Wayne, R. K.), pp. 413-423. New York: Oxford University Press.

- Pearce, T. & Parker, P. G. 1996. Local genetic structure within two rookeries of *Chelonia mydas* (the green turtle). *Heredity*, **77**, 619-628.
- Pearce, T. & Parker, P. G. 1996. The use of multilocus minisatellite DNA fingerprinting to examine local genetic structure within green turtle rookeries. In: *Symposium on Sea Turtle Conservation Genetics* (Ed. by Bowen, B. W. & Witzell, W. N.), pp. 87-94. Miami, FL (USA): NOAA Natl. Mar. Fish. Serv.
- Pearce, T., Parker, P. G. & Waite, T. A. 1994. Multiple Paternity in Green Turtles (*Chelonia mydas*): Conservation Implications. In: *NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-351*, pp. 115-118.
- Pearse, D. E. & Avise, J. C. 2001. Turtle Mating Systems: Behavior, Sperm Storage, and Genetic Paternity. *The Journal of Heredity*, **92**, 206-211.
- Peeters, F. J. C., Acheson, R., Brummer, G.-J. A., de Ruijter, W. P. M., Schneider, R. R., Ganssen, G. M., Ufkes, E. & Kroon, D. 2004. Vigorous exchange between the Indian and Atlantic oceans at the end of the past five glacial periods. *Nature*, **430**, 661-665.
- Pelletier, D., Roos, D. & Ciccione, S. 2003. Oceanic survival and movements of wild and captive-reared immature green turtles (*Chelonia mydas*) in the Indian Ocean. *Aquatic Living Resources*, **16**, 35-41.
- Petit, R. J., El Mousadik, A., Pons, O. 1998. Identifying populations for conservation on the basis of genetics makers. *Conservation Biology*. **12**(4). pp844-855.
- Pike, D. A., Stiner, J. C. 2007. Sea turtle species vary in their susceptibility to tropical cyclones. *Oecologia*. **153**:471-478
- Pradhan, N. C., Leung, P.S. 2006. Incorporating sea turtle interactions in a multi-objective programming model for Hawaii's longline fishery. *Ecological Economics*. **60**(1). pp216-227
- Planes, S., Fauvelot, C. 2002. Isolation by distance and vicariance drive genetic structure of a coral reef fish in the Pacific Ocean. *Evolution*. **56**(2). pp. 378-399
- Rakotonirina, B. P., Cooke, A. 1994. Sea turtles of Madagascar - their status, exploitation and conservation. *Oryx*, **28** (1), 51-61.
- Raufaste N., Bonhomme F, 2000. Properties of bias and variance of two multiallelic estimators of Fst. *Theoretical Population Biology*. **57**(3). pp285-296.
- Remie, S., Mortimer, J. A. 2007. First Records of Olive Ridley Turtles (*Lepidochelys olivacea*) in Seychelles. *Marine Turtle Newsletter*, 117, 9.
- René, F., Roos, D. 1996. The status of sea turtle conservation in French territories of Indian Ocean: Isles Eparses. In: *Status of Sea Turtle Conservation in the Western Indian Ocean*. (Ed. by Humphrey, S. L. & Salm R. V.). Regional Seas Reports and Studies. IUCN/UNEP.
- Renolds, J., Weir, B. S., Cockerham, C. C. 1983. Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics*, 105, 767-779.
- Revelles, M., Isern-Fontanet, J., Cardona, L., Félix, M. S., Carreras, C., Aguilar, A. 2007. Mesoscale eddies, surface circulation and the scale of habitat selection by immature loggerhead sea turtles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **347**. pp41-57.

- Rivalan, P. 2004. La dynamique des populations de tortues luths de Guyane française : recherche des facteurs impliqués et application à la mise en place de stratégies de conservation. Thèse de doctorat de l'université Paris XI. 249p.
- Robert, M. 2005. TFE : Plan de conservation des tortues marines à la Réunion. Stage réalisé au CEDTM. Université de Liège.
- Roberts, M. A., Schwartz, T. S. & Karl, S. A. 2004. Global Population Genetic Structure and Male-Mediated Gene Flow in the Green Sea Turtle (*Chelonia mydas*): Analysis of Microsatellite Loci. *Genetics*, **166**, 1857–1870.
- Robertson A, Hill WG, 1984. Deviations from Hardy-Weinberg proportions: sampling variances and use in estimation of inbreeding coefficients. *Genetics* **107**: 703-718.
- Roos, D., Pelletier, D., Ciccione, S., Taquet, M. & Hughes, G. 2005. Aerial and snorkelling census techniques for estimating green turtle abundance on foraging areas: A pilot study in Mayotte Island (Indian Ocean). *Aquatic Living Resources*, **18**, 193-198.
- Ruijter, W. P. M., Ridderinkhof, H., Lutjeharms, J. R. E., Schouten, M. W. & Veth, C. 2002. Observations of the flow in the Mozambique Channel. *Geophysical Research Letters*, **29**, 140-143.
- Sasso, C. R., Epperly, S. P. 2006. Seasonal sea turtle mortality risk from forced submergence in bottom trawls. *Fisheries Research*. **81**(1). pp86-88.
- Seminoff, J. A. 2004. *Chelonia mydas*. In: *2004 IUCN Red List of Threatened Species*, pp. <<http://www.iucnredlist.org>> Downloaded on 13 April 2005.: IUCN.
- Seminoff, J. A., Resendiz, A. & Nichols, W. J. 2002. Home range of green turtles *Chelonia mydas* at a coastal foraging area in the Gulf of California, Mexico. *Marine Ecology-Progress Series*, **242**, 253-265.
- Servan, J. 1976. Écologie de la tortue verte à l'île Europa, Canal du Mozambique. *La Terre et la Vie*, **30** (3), 421-464.
- Spotila, J. R. 2004. *Sea turtles: a complete guide of their biology, behavior, and conservation*. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press.
- Taquet, C. 2003. Les rythmes de fréquentation par les tortues marines (*Chelonia mydas*) des herbiers de N'Gouja sur l'île de Mayotte. Mémoire de stage en entreprise de 2<sup>ème</sup> année de l'INA P-G pour l'obtention du DAG, La Réunion, août 2003, 58 p.
- Taquet, C., Taquet, M., Dempster, T., Soria, M., Ciccione, S., Roos, D. & Dagorn, L. 2006. Foraging of the green sea turtle *Chelonia mydas* on seagrass beds at Mayotte Island (Indian Ocean), determined by acoustic transmitters. *Marine Ecology Progress Series* [Mar. Ecol. Prog. Ser.]. Vol. **306**, pp. 295-302.
- Troëng, S., Rankin, E. 2005. Long-term conservation efforts contribute to positive green turtle *Chelonia mydas* nesting trend at Tortuguero, Costa Rica. *Biological Conservation*. **121**. pp111–116
- Van Valen, L. 1976. Ecological Species, Multispecies, and Oaks. *Taxon*. Vol. **25**(2/3). pp 233-239.
- Vergonzanne, G. S., Batori, G. . 1976. Biologie de la tortue verte sur les Iles: Glorieuses, Europa et Tromelin. *Reunion*.

- Wamukoya, G. M., Kaloki, F., Mbindo, C. 1996. The status of sea turtle conservation in Kenya. In: *Status of Sea Turtle Conservation in the Western Indian Ocean*. (Ed. by Humphrey, S. L. & Salm R. V.). Regional Seas Reports and Studies. IUCN/UNEP.
- Weimerskirch, H., Le Corre, M., Jaquemet, S. & Marsac, F. 2005. Foraging strategy of a tropical seabird, the red-footed booby, in a dynamic marine environment. *Marine Ecology Progress Series*, **288**, 251-261.
- Weimerskirch, H., Le Corre, M., Jaquemet, S., Potier, M. & Marsac, F. 2004. Foraging strategy of a top predator in tropical waters: Great frigatebirds in the Mozambique Channel. *Marine ecology progress series*, **275**, 297-308.
- Weir, B. S., Cockerham, C. C., 1984. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution*, Vol. **38**, No. 6, 1358-1370.
- Whiting, S. D. & Miller, J. D. 1998. Short term foraging ranges of adult green turtles (*Chelonia mydas*). *Journal of Herpetology*, **32**, 330-337.
- Zug, G. R., Balazs, G. H., Wetherall, J. A., Parker, D. M. & Murakawa, S. K. K. 2002. Age and growth of Hawaiian green seaturtles (*Chelonia mydas*): an analysis based on skeletochronology. *Fishery Bulletin*, **100**, 117-127.

# Liste des illustrations

## Liste des figures

**Figure 1-1** : Photos d'une tortue **a)** luth (©Doug Perrine/seapics.com) ; **b)** olivâtre (©Kélonia); **c)** de Kemp (©Doug Perrine/seapics.com) ; **d)** caouanne (C. Taquet) ; **e)** Imbriqué (M. Taquet) ; **f)** à dos plat (©Doug Perrine/seapics.com); **g)** verte (R. Botreau) et **h)** son variant phénotypique agassizii (un pêcheur).

**Figure 1-2** : Caractéristiques morphologiques de la tortue verte.

**Figure 1-3** : Photos **a)** d'une tortue verte adulte (A. Diringer) ; **b)** en gros plan de la tête (A. Diringer) ; **c)** d'une femelle albinos (R. Botreau) ; **d)** d'un mâle (M. Taquet) ; **e)** d'une femelle après la ponte (C. Taquet) ; **f)** d'une émergente (C. Taquet) ; **g)** d'un juvénile (C. Taquet) ; et enfin **h)** d'une Immature (A. Diringer).

**Figure 1-4** : Carte de répartition de la tortue verte (d'après **Marquez, 1990** ; **Seminoff, 2004**).

**Figure 1-5** : Schéma des 3 types de cycle de vie existant chez les tortues marines (d'après **Bolten, 2003**).  : Type I ;  : Type II ;  : Type III.

**Figure 1-6** : Résumé du cycle de vie de la tortue verte (*Chelonia mydas*).

**Figure 1-7**: D'après **Dutton et al. (1996)** : arbre obtenu en combinant les résultats des études sur le gène ND4-leucine (ARNt) et sur le gène du cytochrome b, en incluant (valeurs des bootstraps de droite) ou non (valeurs de gauche) les données provenant de la région contrôle de l'ADNmt.

**Figure 1-8** : Arbres de la phylogéographie globale de la tortue verte obtenus à partir de 4 loci microsatellite (**Roberts et al., 2004**):

(A) à partir de l'indice  $\delta\mu^2$  de distance génétique, basé sur le modèle SMM

(B) à partir de l'indice standard D de distance génétique, basé sur le modèle IAM

**Figure 2-1** : Carte présentant la zone d'étude, le sud-ouest de l'océan Indien, ces limites étant symbolisées par un triangle rouge.

**Figure 2-2** : Carte de localisation des 1019 échantillons (hors étude de la paternité) collectés entre 2004 et 2007. Le triangle représente notre zone d'étude.

**Figure 2-3** : Carte de localisation des 544 échantillons d'émergentes collectés entre 2004 et 2007 dans le cadre de l'étude de la paternité.

**Figure 3-1**: Réseau ("minimum spanning network") représentant les différences existant entre les séquences des 33 haplotypes (région contrôle de l'ADNmt de tortues vertes) présents dans le sud-ouest de l'océan Indien et sur le site témoin en Polynésie française.

**Figure 3-2 :** Distribution, selon leur taille, des allèles présents dans l'ensemble des échantillons analysés (sud-ouest de l'océan Indien) pour chaque locus microsatellite étudié : a) Cm3 ; b) Cm58 ; c) Cm72 ; d) Cm84 ; e) Cc117 ; f) Cc7.

**Figure 3-3 : Etude empirique de la richesse haplotypique des groupes étudiés.**

**a) Pour chaque groupe étudié :** effectif (courbe) et nombre d'haplotypes présents (histogramme).

**b)** En abscisse l'**effectif du groupe** et en ordonné le **nombre d'haplotype présents**.

Plusieurs modèles de corrélation (courbes de tendance) sont testés.

**c)** En abscisse l'**effectif du groupe** et en ordonné le **nombre d'haplotype présents**. Les groupes sont regroupés en 4 nuages **selon l'activité** des individus qui le composent (ponte, alimentation). Une courbe de tendance (ayant le meilleur coefficient de détermination) est appliquée à chaque nuage.

**Figure 3-4 :** Carte présentant la composition haplotypique des 23 groupes étudiés.

**Figure 3-5 :** effectif (courbe) et nombre d'allèles par locus (histogramme) pour chaque groupe étudié.

**Figure 3-6 : Etude empirique de la richesse allélique des groupes étudiés.**

**a)** En abscisse l'effectif et en ordonné le **nombre total d'allèles** (les 4 loci confondus) **pour chaque groupe**. Plusieurs modèles de corrélation (courbes de tendance) sont testés.

**b)** En abscisse l'effectif du groupe et en ordonné les **nombre d'allèles** présents dans le groupe **pour chaque locus** choisi. Sur chaque nuage de points est appliquée une courbe de tendance (type 'puissance').

**c)** En abscisse l'effectif et en ordonné le **nombre total d'allèles** (les 4 loci confondus) pour chaque groupe. Les groupes sont regroupés en 4 nuages **selon l'activité** des individus qui le composent (ponte, alimentation). Une courbe de tendance (type 'puissance') est appliquée à chaque nuage.

**Figure 3-7 :** Estimation de la richesse allélique d'un groupe pour chaque locus étudié (courbes) corrigée en raison des différences d'effectifs (histogramme). Calculée grâce au logiciel Fstat.

**Figure 3-8 :** Répartition par taille des allèles selon le clade auquel appartient l'haplotype (ADNmt) dont est porteur l'individu, pour chacun des loci microsatellites :

**a)** Cm3 ; **b)** Cm58 ; et **c)** Cc7.

**Figure 3-9 :** Résultats d'une ACP centrée non normée de l'objet genind réalisée à l'aide du logiciel R.

**Figure 3-10 :** Carte présentant la composition en 4 groupes d'haplotypes des 22 groupes de tortues vertes de la zone d'étude.

**Figure 3-11 :** Fréquences observées de chaque haplotype du SWIO en fonction de la distance géographique séparant le site d'échantillonnage du site d'Afrique du Sud.

Les distances (en miles nautiques) ont été obtenues par calcul à partir des coordonnées GPS (obtenues à l'aide de GoogleEarth) des différents sites d'échantillonnage, excepté pour les sites hors canal du Mozambique où les distances ont été mesurées à l'aide de GoogleEarth afin que les 'trajets' entre deux sites ne passent pas au-dessus de Madagascar.

**Figure 3-12 :** Carte bilan de la différenciation dans la zone d'étude de 7 ensembles de tortues à partir des données mitochondriales.

**Figure 3-13** : Carte synthétisant les résultats des tests sur  $F_{st}$  et des ensembles de groupes de tortues vertes mis en évidence à partir des données microsatellites.

**Figure 3-14** : Arbres phylogénétiques consensus obtenus à l'aide du logiciel Phylip (1000 bootstraps) à partir de trois estimateurs de la distance génétique.

**Figure 4-1** : Compositions haplotypiques des mâles (**à droite**) et des femelles (**à gauche**) en alimentation à Mayotte (**en haut**) et dans l'ouest de Madagascar (**en bas**).

**Figure 4-2** : Carte présentant les ensembles d'immatures mis en évidence par les tests sur l'indice  $F_{st}$  à partir des données mitochondriales (WC1000, en bleu) et des données microsatellites (RH1000, en rouge).

**Figure 4-3** : Richesse haplotypique moyenne (nombre d'haplotypes présents divisé par l'effectif du groupe) des différentes catégories d'individus étudiés.

**Figure 4-4** : Richesse allélique moyenne (calculées à l'aide du logiciel Fstat) pour chaque locus des différentes catégories d'individus étudiés.

**Figure 4-5** : Compositions haplotypiques des groupes de femelles en ponte à Tromelin : en 1997 (en bas, **Bourjea et al., 2007**) et en 2005-2006 (**en haut**) ; en été austral (**à droite**) et en hiver austral (**à gauche**).

**Figure 4-6** : Compositions haplotypiques des femelles en ponte à Mohéli (**en haut**) et à Mayotte (**en bas**) pour plusieurs années consécutives.

**Figure 4-7** : Composition haplotypique des tortues en ponte à Tromelin en 1988-1992 (**à gauche**), en 1996 (**au milieu**), et en 2005-2006 (**à droite**).

**Figure 4-8** : Graphique montrant l'intensité de la différenciation génétique (valeurs de l'indice  $F_{st}$  des tests) des paires Afrique du Sud/X, en fonction de la distance géographique en milles nautiques entre les 2 sites.

**Figure 4-9** : Principales orientations des courants océaniques dans la région de l'océan Indien.

**Figure 4-10** : Compositions haplotypiques des tortues réunionnaises échantillonnées (**en haut, à gauche**), regroupées par activité (**au centre**) ou par année (**en bas**) ; ainsi que la composition haplotypique des tortues élevées à Kélonia et nées à Tromelin en 1988-1992 (**en haut, au milieu**) et celle des femelles en ponte à Tromelin en 2005-2006 (**en haut, à droite**).

## Liste des tableaux

**Tableau 1-1** : Liste des principaux synonymes de l'espèce *Chelonia mydas* (d'après **Márquez, 1990**). \* la première description scientifique de l'espèce ; \*\* le nom scientifique actuellement admis ; + synonymes faisant référence au variant phénotypique du Pacifique Est.

**Tableau 1-2** : principaux noms vernaculaires de la tortue verte (d'après **Márquez, 1990**).

**Tableau 2.1** : Caractéristiques climatiques générales des pays du sud-ouest de l'océan Indien (SWIO), données provenant de **Météo France**.

Les valeurs extrêmes sont en **gras** ou en **couleur**.

**Tableau 2-2** : Liste des adhésions des pays de la zone d'étude aux principales conventions pour la protection de l'environnement qui concernent les tortues marines.

Nairobi = Convention de Nairobi pour la protection, la gestion et le développement de l'environnement marin et côtier de l'Afrique Orientale ; CBD = Convention pour la Diversité Biologique ; Convention de Bonn pour la conservation des espèces sauvages migratrices ('Mémo' = signature du mémorandum sur les tortues marines) ; MARPOL = convention pour la prévention de la POLLution MARine par les bateaux.

**Tableau 2-3** : Missions scientifiques effectuées sur Mayotte entre 2004 et 2006, et ayant donné lieu à des prélèvements génétiques.

**Tableau 2-4** : Bilan des échantillons collectés en 2004-2007. 'F' = femelles, 'M' = mâles, 'I' = immatures, '**Emergentes mito**' et '**Emergences paternité**' = cf. paragraphe ci-dessus. Les échantillons complémentaires (713 individus) ne sont pas reportés ici.

**Tableau 2-5** : Bilan des tailles moyennes (CCL, en cm) des 997 échantillons collectés entre 2004 et 2007 pour lesquels une mesure de la taille de la carapace a été effectuée.

**Tableau 2-6** : Couple d'amorces utilisé pour l'amplification de la région contrôle de l'ADNmt et la température d'hybridation choisie.

**Tableau 2-7** : Tableau récapitulatif des analyses de séquençage de la région contrôle de l'ADNmt réalisées entre février 2005 et juillet 2007.

**Tableau 2-8** : Couples d'amorces utilisés pour l'amplification des 6 loci microsatellites choisis et les températures d'hybridation choisies.

**Tableau 2-9** : Tableau récapitulatif des analyses des loci microsatellites réalisées entre juin 2005 et avril 2007.

Trois types d'analyses sont reportées : celles réalisées avant mars 2006 où Cc7 n'a pas été analysé, noté 'sans Cc7' (en rouge, italique et aligné à gauche) ; celles réalisées entre mars 2006 et décembre 2006 avec les 6 loci ; celles réalisées en 2007 avec le nouveau système de polymère, colonnes '2007' des émergentes de l'étude de la paternité.

**Tableau 3-1** : Liste et taille des séquences de la région contrôle de l'ADNmt mises en évidence par séquençage et références des haplotypes correspondant dans GenBank.

**Tableau 3-2 :** Bilan de la répartition par taille des allèles pour chaque locus microsatellite.

Un allèle “majoritaire” est défini comme l’allèle le plus couramment rencontré pour l’ensemble de ce locus ou dans un mode. Le pourcentage qui lui est associé représente le nombre de fois que l’on rencontrerait cet allèle dans un lot de 100 individus hétérozygotes. Le taux de réussite est le pourcentage d’individus pour lesquels, la taille des allèles a pu être déterminée avec succès.

**Tableau 3-3 :** Composition haplotypique des différents sites étudiés. Une distinction a été faite entre les différentes catégories d’individus : femelles en phase de ponte (noté ‘en ponte’), individus en alimentation, immatures sur zone de ponte (noté ‘immatures’), et divers autres types d’échantillons.

Le ou les haplotypes dominants de chaque groupe ont été surlignés. L’effectif de chaque groupe est reporté dans la première colonne.

**Tableau 3-4 :** Hétérozygotie moyenne attendue (équilibre d’Hardy-Weinberg), hétérozygotie attendue corrigée pour le biais d’échantillonnage, et hétérozygotie réellement observée dans la population. L’écart-type de chaque estimation est reporté sur la ligne au-dessous.

**Tableau 3-5 :** Liste des ‘populations’ composant l’objet genind qui constitue le fichier entrant de l’ACP effectuée (à l’aide du logiciel R).

**Tableau 3-6 :** Valeurs calculées de l’estimateur de **Weir & Cockerham (1984)** de l’indice de fixation  $F_{st}$ . Tests par paire sur permutations (1000 répétitions) réalisés à l’aide du logiciel Genetix pour les 23 groupes étudiés. Les valeurs surlignées en bleu correspondent aux tests significatifs (pourcentage de répétitions présentant une valeur de  $F_{st}$  inférieure à celle observée > 95%).

**Tableau 3-7 :** Liste des 10 ensembles constitués à partir des données mitochondriales.

**Tableau 3-8 :** Valeurs calculées de l’estimateur de **Weir & Cockerham (1984)** de l’indice de fixation  $F_{st}$ . Tests par paire sur permutations (1000 répétitions) réalisés pour les 10 ensembles testés. Les valeurs surlignées en rose correspondent aux tests non significatifs.

**Tableau 3-9 :** Bilan des valeurs de  $F_{st}$  calculées lors des tests effectués sur les 10 ensembles. Les critères utilisés sont ceux de **Hartl (1994)**.

**Tableau 3-10 :** Liste des 11 ensembles constitués à partir des analyses AMOVA.

**Tableau 3-11 :** Valeurs calculées de l’estimateur de **Robertson & Hill (1984)** de l’indice de fixation  $F_{st}$ . Tests par paire sur permutations (1000 répétitions) réalisés pour les 13 groupes étudiés. Les valeurs surlignées en bleu correspondent aux tests significatifs.

**Tableau 3-12 :** Liste des 8 ensembles génétiquement différenciés mis en évidence dans le sud-ouest de l’océan Indien, à partir des données mitochondriales et microsatellites. Les groupes en **gras** ont fait l’objet à la fois d’une analyse mitochondriale et microsatellite, et les groupes en *italique* sont communs à plusieurs ensembles.

**Tableau 4-1 :** Valeurs de l'indice *Fst* obtenues lors de tests par paire (1000 permutations) et effectifs des groupes analysés.

Valeurs supérieures = à partir des données mitochondriales (estimateur de **Weir & Cockerham, 1984**).

Valeurs inférieures = à partir des données microsatellites (estimateur de **Robertson & Hill, 1984**).

Les valeurs surlignées correspondent aux tests significatifs.

**Tableau 4-2 :** Résultats des tests sur *Fst* pour les paires Femelles/Mâles des groupes de tortues en alimentation. Colonne de gauche : à partir des données mitochondriales (estimateur de **Weir & Cockerham, 1984**) ; colonne de droite : à partir des données microsatellites (estimateur de **Robertson & Hill, 1984**).

**Tableau 4-3 :** Résultats des tests sur *Fst* pour les paires de groupes Immatures/X.

Colonne de gauche : à partir des données mitochondriales (estimateur de **Weir & Cockerham, 1984**) ;

colonne de droite : à partir des données microsatellites (estimateur de **Robertson & Hill, 1984**).

**Tableau 4-4 :** Valeurs de l'indice *Fst* obtenues lors de tests par paire (1000 permutations) et effectifs des groupes analysés.

Valeurs supérieures = à partir des données mitochondriales (estimateur de **Weir & Cockerham, 1984**).

Valeurs inférieures = à partir des données microsatellites (estimateur de **Robertson & Hill, 1984**).

Les valeurs surlignées correspondent aux tests significatifs.

**Tableau 4-5 :** Résultats des tests sur *Fst* pour les paires de groupes de femelles en ponte en été/hiver austral.

Colonne de gauche : à partir des données mitochondriales (estimateur de **Weir & Cockerham, 1984**) ;

colonne de droite : à partir des données microsatellites (estimateur de **Robertson & Hill, 1984**).

**Tableau 4-6 :** Valeurs de l'indice *Fst* obtenues lors des tests par paire (1000 permutations) à partir des données mitochondriales (estimateur de **Weir & Cockerham, 1984**) et microsatellites (estimateur de **Robertson & Hill, 1984**) sur les groupes de tortues de Mayotte et effectifs des groupes analysés. Les valeurs surlignées correspondent aux tests significatifs.

**Tableau 4-7 :** Valeurs de l'indice *Fst* obtenues lors des tests par paire (1000 permutations) à partir des données microsatellites (estimateur de **Robertson & Hill, 1984**) sur les tortues en ponte sur les 3 plages de Mayotte et effectifs des groupes analysés. Les valeurs surlignées correspondent aux tests significatifs.

# *Annexes*

## **Liste des Annexes :**

**Annexe 1 :** Liste des partenaires étrangers.

**Annexe 2 :** Alignement des séquences des 33 haplotypes de la région contrôle de l'ADNmt mis en évidence dans cette étude.

**Annexe 3 :** Liste des échantillons analysés comportant pour chaque individu l'haplotype et les tailles des allèles des 6 loci microsatellites mis en évidence par les analyses.

**Annexe 4 :** Références et résumé des articles publiés dans des revues à comité de lecture

*Annexe 1 :*  
*Liste des partenaires*  
*étrangers*

- Dr Nancy Fitzsimmons (*University of Canberra, Australie*).
- Dr Angela Formia (*Cardiff University, Royaume Uni*).
- Dr Eugenia Naro-Maciel, (*American Museum of Natural History, Etats Unis*).
- Dr Julius Francis (WIOMSA).

#### **Afrique du sud :**

- Dr Ronel Nel (*Nelson Mandela Metropolitan University et précédemment Ezemvelo KwaZulu Natal Wildlife*).
- Mr Santosh Bachoo (*Ezemvelo KwaZulu Natal Wildlife*).
- Dr Jennifer Olbers (*Ezemvelo KwaZulu Natal Wildlife*).
- Mr Heidi Kempen (*uShaka Marine World*).

#### **Kenya**

- Dr Gladys Okemwa (*Kenya Sea Turtle Conservation Committee*).
- Dr Steve Trott (*Watamu Turtle Watch ONG*).
- Mr Andrew Wamukota (*Kenya Sea Turtle Conservation Committee*).

#### **Madagascar**

- Dr Gérard Leroux (*Muséum d'Histoire Naturelle de Genève*).
- Dr Valérie Lilette (*Université de la Réunion*).

#### **Mayotte**

- Mr Robin Rolland (DDAF-SEF de Mayotte).
- Mireille Quillard (Brigade Tortue).
- Ali Mari (Brigade Tortue).
- Hendrick Sauvignet.
- Les membres de l'Association *Oulanga Na Nyamba*.
- Les étudiants, stagiaires Kélonia : Katia Ballorain, Aline Loricourt, Christophe Chatelet.

#### **Mohéli**

- Mr François Beudard (stagiaire Kélonia).

#### **Mozambique**

- Dr Isabel Marques da Silva (*Oceanario de Lisboa*).
- Mlle Alice costa (WWF Mozambique).
- M Cristina M.M. Louro (Centro Terra Viva).

#### **Seychelles**

- Dr Lindsay ChongSeng (*Seychelles Islands Foundation*).
- Dr Mary Stravens (*Seychelles Centre for Marine Research and Technology and Marine Parks Authority, SCMRT-MPA*).
- Mr Jude Bijoux (SCMRT-MPA).
- Dr Steven Lagrenade (SCMRT-MPA).
- Dr Jeanne Mortimer (*Island Conservation Society et Department of Zoology, University of Florida*).

#### **Tanzanie**

- Dr Catharine Muir (*Sea Sence*).
- Dr Freya St John (*Sea Sence*).

#### **Polynésie française**

- Pr René Galzin (EPHE de Perpignan).
- Dr Serge Planes (CRIOBE).
- Dr Cécile Gaspar (“te mana o te moana”).

*Annexe 2 :*  
*Alignement des séquences*  
*des 33 haplotypes de la*  
*région contrôle de l'ADNmt*  
*mis en évidence dans cette*  
*étude*

C3 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 A1 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AG  
 A2 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 C1 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 C14 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 C4 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 C5 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 CM42 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACAT AAAAA ATCATTG - AA  
 CM46 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACAT AAAAA ATCATTG - AA  
 CM8 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACAT AAAAA ATCATTG - AA  
 CmI1 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACAT AAAAA ATCATTG - AA  
 CmI10 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 CmI11 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACAT AAAAA ATCATTG - AA  
 CmI2 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AG  
 CmI3 TAGCATATGATCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 CmI4 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 CmI5 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACAT AAAAA ATCATTG - AA  
 CmI6 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACAT AAAAA ATCATTG - AA  
 CmI7 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AG  
 CmI8 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 CmI9 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 CMP19 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 CMP22 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AG  
 CmPo1 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AG  
 CmPo2 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACAT AAAAA - TTATTG - AA  
 CmPo3 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - GAG  
 D2 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 Glo33 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 IND3 TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 UA2d TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 UC3h TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 UD2a TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 UIND3a TAGCATATGACCAGTAATGTTAACAGTTGATTTGGCCCTAAACATGAAAA - TTATTG - AA  
 \* \* \* \* \*

C3 TCCACATAAATATTTTAAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 A1 TTTACATAAA CATTTTAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 A2 TTTG CATAAA CATTTTAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 C1 TCCACATAAATATTTTAAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 C14 TCCACATAAATATTTTAAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 C4 TCCACATAAATATTTTAA CAAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 C5 TTTACATAAATATTTTAAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 CM42 TTTACATAAATATTTTAA CAAACATGAATATTAAGCAGAG GATTAAAAGTGAAATGACATA  
 CM46 TTTACATAAATATTTTAA CAAACATGAATATTAAGCAGAG GATTAAAAGTGAAATGACATA  
 CM8 TTTACATAAATATTTTAA CAAACATGAATATTAAGCAGAG GATTAAAAGTGAAATGACATA  
 CmI1 TTTACATAAATATTTTAA CAAACATGAATATTAAGCAGAG GATTAAAAGTGAAATGACATA  
 CmI10 TTTG CATAAA CATTTTAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 CmI11 TTTACATAAATATTTTAA CAAACATGAATATTAAGCAGAG GATTAAAAGTGAAATGACATA  
 CmI2 TTTACATAAA CATTTTAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 CmI3 TCCACATAAATATTTTAAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 CmI4 TCCACATAAATATTTTAAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 CmI5 TTTACATAAATATTTTAA CAAACATG GATTATTAAGCAGAG GATTAAAAGTGAAATGACATA  
 CmI6 TTTACATAAATATTTTAA CAAACATGAATATTAAGCAGAG GATTAAAAGTGAAATGACATA  
 CmI7 TTTACATAAA CATTTCATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 CmI8 TCCACATAAATATTTTAA CAAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 CmI9 TTTG CATAAA CATTTTAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 CMP19 TCCACATAAATATTTTAAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 CMP22 TTTG CATAAA CATTTTAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 CmPo1 TTTACATAAA CATTTTAATAACATG GATTATTAAGCAGAG GATTAAAAGTGAAATGATATA  
 CmPo2 TTTACATAAATATTTCAAT GG CATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 CmPo3 TTTG CATAAA CATTTTAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 D2 TCCACATAAATATTTTAA G TAAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 Glo33 TCCACATAAATATTTTAAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 IND3 TCCACATAAATATTTTAAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 UA2d TTTG CATAAA CATTTTAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 UC3h TCCACATAAATATTTTAAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 UD2a TCCACATAAATATTTTAA G TAAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 UIND3a TCCACATAAATATTTTAAATAACATGAATATTAAGCAGAGAATTAAAAGTGAAATGATATA  
 \* \* \* \* \*





```

C3  A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
A1  A A T G A - T T C T A T A C A T T A G A T T T A T A A C C T
A2  A A T G A G T T C T A T A C A T T A G A T T T A T A A C C T
C1  A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
C14 A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
C4  A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
C5  A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
CM42 A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
CM46 A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
CM8  A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
CmI1 A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
CmI10 A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
CmI11 A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
CmI12 A A T G A G T T C T A T A C A T T A G A T T T A T A A C C T
CmI13 A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
CmI14 A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
CmI15 A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
CmI16 A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
CmI17 A A T G A G T T C T A T A C A T T A G A T T T A T A A C C T
CmI18 A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
CmI19 A A T G A G T T C T A T A C A T T A G A T T T A T A A C C T
CMP19 A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
CMP22 A A T G A G T T C T A T A C A T T A G A T T T A T A A C C T
CmPo1 A A T G A G T T C T A T A C A T T A G A T T T A T A A C C T
CmPo2 A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
CmPo3 A A T G A G T T C T A T A C A T T A G A T T T A T A A C C T
D2  A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
Glo33 A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
IND3 A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
UA2d A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
UC3h A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
UD2a A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C C
UIND3a A A T G A G T T C T A T A C A T T A A A T T T A T A A C C T
* * * * *

```

**Légende :**

**C3** = séquence de référence.

**A** = substitution A au lieu de N.

**T** = substitution T au lieu de N.

**C** = substitution C au lieu de N.

**G** = substitution G au lieu de N.

**N** = insertion.

**-** = délétion.

\* = locus invariant pour notre jeu de données.

= locus polymorphe pour notre jeu de données.

*Annexe 3 :*  
*Liste des échantillons analysés*  
*comportant pour chaque*  
*individu l'haplotype et les tailles*  
*des allèles des 6 loci*  
*microsatellites mis en évidence*  
*par les analyses.*

Echantillon	ADNmt	Cm3		Cm58		Cm72		Cm84		Cc117		Cc7		Nom population
RUN1	C4													RUN-Sauvage
RUNf2b2	C4	155	168	134	141	246	261	329	334	237	237	159	172	RUN-Sauvage
RUN3	C4	161	174	141	141	246	246					186	188	RUN-Sauvage
RUN4	CM8	161	166	126	130	236	259					179	186	RUN-Sauvage
RUN7	Cm18	168	180	132	135							179	190	RUN-Sauvage
RUN8	A2													RUN-Sauvage
RUN30	CM8													RUN-Sauvage
RUN65	C3													RUN-Sauvage
RUN66	C3													RUN-Sauvage
RUN67	C3													RUN-Sauvage
RUN68	Glo33													RUN-Sauvage
RUN69	CM8													RUN-Sauvage
RUNN5b1	C3													RUN-Sauvage
RUN9	C3													Kélonia
RUN10	A2	166	183	126	133	247	279	339	345	235	245			Kélonia
RUN11	C3	157	164	128	141	241	251	345	345	239	241			Kélonia
RUN12	C3													Kélonia
RUN13	A2													Kélonia
RUN14	C3	184	184	128	135	251	295	336	345	239	250			Kélonia
RUN18	C3													Kélonia
RUN19	C3													Kélonia
RUN26	C3													Kélonia
RUN27	A2													Kélonia
RUN28	CM8													Kélonia
RUN29	C3													Kélonia
RUN31	C3													Kélonia
RUN32	C3	161	180	128	128	240	251	329	348	237	238	167	187	Kélonia
RUN33		168	170	133	135	251	269	327	336	238	240	169	173	Kélonia
RUN35		168	174	122	133	272	278	336	336	234	242	175	183	Kélonia
RUN37	CMP19	180	184	133	135	253	276	327	345	234	240	175	179	Kélonia
RUN40	C3	168	170	133	137	278	301	335	335	244	248	175	179	Kélonia
RUN41	C3	162	166	135	137	286	286	342	348	246	248	177	183	Kélonia
RUN43	CM8	182	184	126	132	242	296	340	335	238	244	173	179	Kélonia
RUN45	A2	168	170	126	133	239	251	336	339	238	240	169	173	Kélonia
RUN46	C3	164	182	135	141	280	286	344	357	238	244	179	181	Kélonia
RUN49	C3	162	170	132	135	265	280	327	336	240	250	179	181	Kélonia
RUN53	C3	154	168	128	135	269	276	335	348	234	248	173	182	Kélonia
RUN54	C3													Kélonia
RUN60	CM8	168	188	135	137	269	290	335	340	234	248	179	179	Kélonia
RUN62	CM8	168	180	135	141	244	275	342	345	238	254	175	190	Kélonia
RUN15	A1	181	185	128	128	274	274			241	241			TRO 88-92
RUN16	A2													TRO 88-92
RUN17	C3													TRO 88-92
RUN20	C3													TRO 88-92
RUN21	C3													TRO 88-92
RUN22	C3													TRO 88-92
RUN23	A2													TRO 88-92
RUN24	C3													TRO 88-92
RUN25	C3													TRO 88-92
RUN34	C3	152	166	135	137	169	274	335	343	233	234	173	205	TRO 88-92
RUN36	C3	166	182	126	137	265	265	336	342	236	242	169	175	TRO 88-92
RUN38	A2	157	159	128	141	265	272	332	349	234	246	181	198	TRO 88-92
RUN39	C3	164	176	130	133	274	274	334	346	242	250	169	206	TRO 88-92
RUN42	C3	166	170	135	141	249	262	334	334	234	238	169	232	TRO 88-92
RUN44	C3	172	176	135	135	271	285	327	350	248	248	196	196	TRO 88-92
RUN47	C3	148	150	132	132	222	240	340	340			165	178	TRO 88-92
RUN48	C3	182	192	130	132	240	278	335	342	237	238	173	192	TRO 88-92
RUN50	C3	182	192	132	135	278	293	335	340	238	240	173	240	TRO 88-92
RUN51	A2	166	180	128	130	265	278	327	333	236	236	169	204	TRO 88-92
RUN52	C3	178	188	130	135	265	279	334	334	236	238	169	169	TRO 88-92
RUN55	C3	148	161	130	135	265	276	335	343	236	238	181	188	TRO 88-92
RUN56	C3	174	182	135	141	280	298	327	335	238	250	200	215	TRO 88-92
RUN57	C3	168	192	135	135	240	265	348	349			173	179	TRO 88-92
RUN58	A2	180	182	135	137	275	290	334	335	238	240	175	179	TRO 88-92
RUN59	C3	176	182	132	135	251	253	337	343	238	250	173	202	TRO 88-92
RUN61	C3	151	163	128	132	257	292	334	341	238	248	179	186	TRO 88-92
RUN63	C3	164	180	128	135	232	245	338	343	238	238	179	187	TRO 88-92
RUN64	A2	167	180	128	132	269	284	342	342	237	238	167	198	TRO 88-92
TRO45	C3	170	180	126	141	269	279	336	339	238	248	165	179	TRO-Ponte-hiver
TRO46	A2	161	170	119	128	246	290	341	341	250	250	169	179	TRO-Ponte-hiver

Echantillon	ADNmt	Cm3		Cm58		Cm72		Cm84		Cc117		Cc7		Nom population
TRO47	C3	163	168	130	141	273	277	334	334			173	173	TRO-Ponte-hiver
TRO48	C3	164	182	128	135	242	265	344	344			173	181	TRO-Ponte-hiver
TRO49	Cml7	168	168	132	132	234	271	335	340	246	246	181	200	TRO-Ponte-hiver
TRO50	A2	149	168	126	132	234	265	334	342			171	181	TRO-Ponte-hiver
TRO51	C3	166	182	132	137	275	288	335	339	230	250	173	175	TRO-Ponte-hiver
TRO52	C3			130	130	265	286							TRO-Ponte-hiver
TRO53	C3	161	170	132	135	246	271	323	340	236	248	179	203	TRO-Ponte-hiver
TRO54	C3	157	182	137	141	247	265	335	343	243	244	169	179	TRO-Ponte-hiver
TRO55	C3	155	176	128	130	242	271	334	349	234	255	169	177	TRO-Ponte-hiver
TRO56	C3	157	170	130	132	255	257	331	337	234	240	179	188	TRO-Ponte-hiver
TRO57	C3	180	184	130	141	238	244	327	334	236	240	175	185	TRO-Ponte-hiver
TRO58	C3	157	166	126	128	240	288	332	343	240	248	162	175	TRO-Ponte-hiver
TRO59	C3	161	182	135	146	232	294	336	346	244	250	169	173	TRO-Ponte-hiver
TRO60	Cml2	170	182	130	141	255	288	341	341	236	248	173	179	TRO-Ponte-hiver
TRO61	C3	149	161	128	146	257	272	336	338	236	238	167	181	TRO-Ponte-hiver
TRO62	C3	155	168	128	132	275	307	341	341	235	237	156	169	TRO-Ponte-hiver
TRO63	C3	169	182	126	132	233	242	329	345	235	238	154	167	TRO-Ponte-hiver
TRO64	C3	161	182	130	146	277	290	334	341	238	250	179	207	TRO-Ponte-hiver
TRO65	C3	154	168	128	132	274	307	341	341	236	238	156	169	TRO-Ponte-hiver
TRO66	A2	162	168	126	135	240	278	322	335	248	248	159	173	TRO-Ponte-hiver
TRO67	A2	151	155	132	135	250	264	348	348	240	240	169	173	TRO-Ponte-hiver
TRO68	C3	150	163	128	130	261	277	335	346	234	240	169	181	TRO-Ponte-hiver
TRO69	A2	161	170	123	132	242	279	335	342	238	246	169	185	TRO-Ponte-hiver
TRO70	C3	176	192	126	137	263	265	331	345	237	238	173	179	TRO-Ponte-hiver
TRO71	C3	159	168	141	146	275	275	335	335	236	248	167	181	TRO-Ponte-hiver
TRO72	C3	149	161	134	134	238	275	335	344	236	257	181	186	TRO-Ponte-hiver
TRO73	C3	170	180	130	132	246	277	334	345	236	246	179	192	TRO-Ponte-hiver
TRO74	C3	182	184	128	130	234	265	334	348	238	246	179	179	TRO-Ponte-hiver
TRO75	A2	157	163	126	130	240	275	326	328	240	246	179	181	TRO-Ponte-hiver
TRO76	C3	157	157	133	133	273	286	335	335	236	238	179	188	TRO-Ponte-hiver
TRO77	A2	158	172	128	132	275	286	347	347	240	242	165	177	TRO-Ponte-hiver
TRO78	C3	161	166	134	139	265	273	327	331			156	169	TRO-Ponte-été
TRO79	C3	155	165	126	130	271	278					171	185	TRO-Ponte-été
TRO80	C3	168	182	130	134	227	251	343	343	238	238	173	179	TRO-Ponte-été
TRO81	C3	150	163	128	137	256	273					161	171	TRO-Ponte-été
TRO82	C3	167	180	128	139	254	287	326	326	242	255	166	179	TRO-Ponte-été
TRO83	C3	161	176	130	132	246	281	335	335	232	240	183	194	TRO-Ponte-été
TRO84	A2	170	170	132	135	259	277	327	327	236	236	167	196	TRO-Ponte-été
TRO85	C3	161	182	130	134	265	265	334	346	236	238	177	181	TRO-Ponte-été
TRO86	C3	176	182	130	135	276	288	328	348	232	232	165	179	TRO-Ponte-été
TRO87	C3	159	170	117	126	232	243					167	179	TRO-Ponte-été
TRO88	C3	182	182	128	134	244	273	322	322	238	248	161	175	TRO-Ponte-été
TRO89	C3	172	182	126	134	255	283			236	238	171	196	TRO-Ponte-été
TRO90	C3	166	170	126	137	246	269	334	334	240	240	186	198	TRO-Ponte-été
TRO91	C3	155	180	126	130	267	279	339	343	236	242	181	185	TRO-Ponte-été
TRO92	C3	176	182	132	135	265	280	335	335	240	244	177	183	TRO-Ponte-été
TRO93	C3	170	172	129	129	244	248	335	342	234	240	177	181	TRO-Ponte-été
TRO94	C3	156	170	126	135	265	273	331	342	234	248	167	181	TRO-Ponte-été
TRO95	C3	157	157	132	134	286	296	333	339	244	244	175	180	TRO-Ponte-été
TRO96	C3	168	176	132	135	279	292	326	335	235	244	168	183	TRO-Ponte-été
TRO97	C3	154	168	126	135	240	288	333	339	236	240	179	183	TRO-Ponte-été
TRO98	C3	150	166	126	132	265	294	334	348	242	242	181	188	TRO-Ponte-été
TRO99	C3	170	180	128	130	265	279	342	342	238	242	169	194	TRO-Ponte-été
TRO100	C3	184	188	128	141	232	259	345	356	248	255	179	194	TRO-Ponte-été
TRO101	C3	165	184	126	126	253	269	323	343	240	240	177	186	TRO-Ponte-été
TRO102	C3	167	180	131	141	265	281					160	173	TRO-Ponte-été
TRO103	C3	157	168	130	141	236	269	328	336	240	240	157	169	TRO-Ponte-été
TRO104	C3	170	182	128	135	253	265	335	342	240	240	165	179	TRO-Ponte-été
TRO105	C3	168	176	125	134	238	273					171	185	TRO-Ponte-été
TRO106	C3	166	172	130	132	244	270					154	167	TRO-Ponte-été
TRO107	Cml2	161	161	128	128	257	273	309	334	238	238	185	195	TRO-Ponte-été
TRO108	C3	170	183	128	130	250	267	331	344	231	250	156	169	TRO-Ponte-été
TRO109	A2	162	162	137	137	276	276					181	181	TRO-Ponte-été
TRO110	C3	180	182	130	133	249	275					179	206	TRO-Ponte-été
TRO111	C3	154	168	126	130	246	277					177	188	TRO-Ponte-été
TRO112	C3	182	184	128	133	265	284					169	169	TRO-Ponte-été
TRO113	C3	168	180	128	130	238	238					175	183	TRO-Ponte-été
TRO114	C3	164	164	126	137	265	265					179	198	TRO-Ponte-été
TRO115	CMP19	166	166	132	135	215	234					173	173	TRO-Ponte-été
TRO116	C3	155	195	128	133	251	282	343	343			165	185	TRO-Ponte-été

Echantillon	ADNmt	Cm3		Cm58		Cm72		Cm84		Cc117		Cc7		Nom population
TRO117	C3	172	174	128	137	240	271					177	179	TRO-Ponte-été
TRO118	CMP19	162	176	128	135	265	278					198	215	TRO-Ponte-été
TRO119	Cmi2	160	184	130	146	248	277					181	181	TRO-Ponte-été
TRO120	A2	180	201	126	126	238	269					183	183	TRO-Ponte-été
TRO158	C3	168	182	132	138	250	264					169	179	TRO-Ponte-été
TRO159	C3	168	168	128	128	246	251					175	181	TRO-Ponte-été
TRO160	C3	182	205	135	135	255	270					173	173	TRO-Ponte-été
TRO185	A2	172	193	128	135	280	286	335	335	238	242	179	179	TRO-Ponte-été
TRO186	C3	168	182	133	135	234	271	340	343	246	246	169	183	TRO-Ponte-été
TRO187	C3	161	166	132	141	244	257					173	185	TRO-Ponte-été
TRO188	C3	168	176	132	135	271	286					173	173	TRO-Ponte-été
TRO189	C3	170	182	128	133	265	279					183	202	TRO-Ponte-été
TRO190	C3	168	184	128	133	276	288					185	185	TRO-Ponte-été
TRO191	C3	168	180	130	132	259	259					173	211	TRO-Ponte-été
TRO192	C3	168	180	126	128	282	282	336	336	238	238	181	188	TRO-Ponte-été
TRO193	A2	170	182	128	135	251	265	338	342	234	255	183	187	TRO-Ponte-été
TRO194	C3	159	172	130	132							167	183	TRO-Ponte-été
TAN4	C3	170	182	128	128	265	278					175	175	TAN-ponte
TAN5	C3													TAN-ponte
TAN6	C3													TAN-ponte
TAN9	C3	170	182	128	128	265	278					175	175	TAN-ponte
TAN10	IND3													TAN-ponte
TAN11	C3	157	170	126	128	245	280					167	167	TAN-ponte
TAN12	C3													TAN-ponte
TAN13	C3													TAN-ponte
TAN14	C3													TAN-ponte
TAN17	C3													TAN-ponte
TAN18	C3													TAN-ponte
TAN19	C3	168	182	128	137	244	284	330	330			169	181	TAN-ponte
TAN2	C3													TAN-ponte
TAN25	C3	153	182	126	135	228	257					171	186	TAN-ponte
TAN27	C3													TAN-ponte
TAN29	C3													TAN-ponte
TAN31	IND3	168	188	126	130	263	278					181	181	TAN-ponte
TAN33	C3	166	180	126	130	238	269					177	179	TAN-ponte
TAN34	C5	163	166	132	135	278	292					177	190	TAN-ponte
TAN35	C5	163	166	132	134	232	273					188	190	TAN-ponte
TAN36	C3	161	168	126	135	249	265					179	179	TAN-ponte
TAN37	C3	161	166	126	132	249	269					179	179	TAN-ponte
TAN38	C3													TAN-ponte
TAN39	C3	180	184	135	137	232	249					183	192	TAN-ponte
TAN21	C3													TAN-Alim-F
TAN40	C3	174	182	128	132	227	246					175	185	TAN-Alim-F
TAN26	A2	161	168	135	135	242	251					171	186	TAN-Alim-I
TAN3	C3	168	190	130	141	284	292					185	190	TAN-Alim-I
TAN22	C3													TAN-Alim-I
TAN28	C3	161	184	141	146	244	276					179	179	TAN-Alim-I
TAN8	C3	162	164	130	135	257	269					179	179	TAN-Alim-I
TAN1	D2	178	182	136	140	267	269					183	198	TAN-Alim-I
TAN7	C3													TAN-Alim-M
TAN23	C3													TAN-Alim-M
TAN20	C3													TAN-Autre
TAN24	C3	154	182	130	130	242	245							TAN-Autre
TAN32	C3	168	168	126	141	240	303					169	188	TAN-Autre
TAN30	C3													TAN-Autre
COS1	A2	164	192	130	133	278	284	336	340	233	237	165	179	COS-Ponte
COS2	C3	161	164	126	135	269	284	343	345	236	242	179	181	COS-Ponte
COS3	CM8	170	170	126	135	227	265	336	356	247	247	157	171	COS-Ponte
COS4	A2	168	174	128	128	271	286	339	346	235	237	179	200	COS-Ponte
COS5	C3	180	184	118	128	232	232	340	341	237	247	179	198	COS-Ponte
COS6	IND3	174	180	130	133	249	265	341	343	233	233	165	179	COS-Ponte
COS7	Cmi3	168	170	128	128	234	240			232	238	169	179	COS-Ponte
COS8	C3	172	182	122	133	265	294	335	350	233	233	179	183	COS-Ponte
COS9	C3	170	184	124	135	273	288	338	349	247	249	188	213	COS-Ponte
COS10	A2	166	182	126	141	240	286	329	336	237	238	173	200	COS-Ponte
COS11	CM8	170	192	128	144	232	265	327	348	235	247	181	183	COS-Ponte
COS12	C3	157	192	133	141	247	275	334	345	233	235	163	179	COS-Ponte
COS13	A2	159	164	132	137	232	292	334	343	237	241	169	181	COS-Ponte
COS14	C3	166	194	126	126	269	284	329	343	233	234	181	219	COS-Ponte
COS15	C3	170	172	130	144	269	280	327	343	233	246	181	183	COS-Ponte

Echantillon	ADNmt	Cm3		Cm58		Cm72		Cm84		Cc117		Cc7		Nom population
COS16	A2	164	182	128	130	251	265	330	336	235	243	165	179	COS-Ponte
COS17	C3	162	168	126	128	232	279	332	358	237	247	179	185	COS-Ponte
COS18	A2	176	182	122	132	246	286	334	348	235	237	167	185	COS-Ponte
COS19	C3	165	184	124	135	263	275	335	339	237	239	201	203	COS-Ponte
COS20	C3	161	168	130	135	261	279	326	336	239	243	169	175	COS-Ponte
COS21	CmI4	157	161	130	132	261	265	335	336	237	247	171	175	COS-Ponte
COS22	C3	182	184	126	141	265	286	334	342	236	242	169	184	COS-Ponte
COS23	C3	168	182	128	132	265	284	343	347	237	247	175	183	COS-Ponte
COS24	C3	161	190	128	135	265	273	340	341	235	235	179	194	COS-Ponte
COS25	C3	157	182	126	128	232	232					179	198	COS-Ponte
COS26	C3	154	166	128	132	284	296			232	236	179	196	COS-Ponte
COS27	C3	161	182	128	132	248	275	343	351	235	239	179	184	COS-Ponte
COS28	A2	157	184	130	139	269	288	331	346	237	249	185	198	COS-Ponte
COS29	CmI2	157	188	128	135	253	288	334	334	233	237	192	203	COS-Ponte
COS30	A2			135	141	253	280	323	334	237	237	165	185	COS-Ponte
COS31		174	182	126	135	246	270	337	341	233	233	169	198	COS-Ponte
COS32		180	182	128	139	249	273	356	359	235	235	173	177	COS-Ponte
ALD1	C3													ALD-Ponte
ALD2	A2													ALD-Ponte
ALD3	CM8													ALD-Ponte
ALD4	C3													ALD-Ponte
ALD5	C3													ALD-Ponte
ALD6	CM8													ALD-Ponte
ALD7	A2													ALD-Ponte
ALD9	C3													ALD-Ponte
ALD10	A2													ALD-Ponte
ALD11	C3													ALD-Ponte
ALD12	C3													ALD-Ponte
ALD13	C3													ALD-Ponte
ALD14	C3													ALD-Ponte
ALD15	C3													ALD-Ponte
ALD18	C3													ALD-Ponte
ALD19	A2													ALD-Ponte
ALD20	A2													ALD-Ponte
ALD21	IND3													ALD-Ponte
ALD22	C3													ALD-Ponte
ALD23	C3													ALD-Ponte
ALD24	A2													ALD-Ponte
ALD25	C3													ALD-Ponte
ALD26	C3													ALD-Ponte
ALD27	C3													ALD-Ponte
ALD28	C3													ALD-Ponte
ALD29	A2													ALD-Ponte
ALD30	C3													ALD-Ponte
ALD32	C3													ALD-ImP
ALD33	C3													ALD-ImP
ALD34	A2													ALD-ImP
ALD35	C3													ALD-ImP
ALD36	C3													ALD-ImP
ALD37	C3													ALD-ImP
ALD38	C3													ALD-ImP
ALD39	CmI10													ALD-ImP
ALD40	C3													ALD-ImP
ALD41	C3													ALD-ImP
ALD42	C3													ALD-ImP
ALD43	C3													ALD-ImP
ALD44	A2													ALD-ImP
ALD45	C3													ALD-ImP
ALD46	C3													ALD-ImP
ALD47	C3													ALD-ImP
ALD48	C3													ALD-ImP
ALD49	C3													ALD-ImP
ALD50	CmI9													ALD-ImP
ALD51	C3													ALD-ImP
ALD52	C3													ALD-ImP
ALD53	C3													ALD-ImP
ALD54	A2													ALD-ImP
ALD55	C3													ALD-ImP
ALD56	C3													ALD-ImP
ALD57	C3													ALD-ImP

Echantillon	ADNmt	Cm3		Cm58		Cm72		Cm84		Cc117		Cc7		Nom population
ALD58	C3													ALD-ImP
ALD59	C3													ALD-ImP
ALD60	C3													ALD-ImP
ALD61	C3													ALD-ImP
ALD62	C3													ALD-ImP
ALD63	C3													ALD-ImP
ALD65	C3													ALD-ImP
ALD67	C3													ALD-ImP
ALD68	A2													ALD-ImP
ALD69	C3													ALD-ImP
ALD70	C3													ALD-ImP
ALD71	UA2d													ALD-ImP
ALD72	IND3													ALD-ImP
ALD73	C3													ALD-ImP
ALD74	C3													ALD-ImP
ALD75	C3													ALD-ImP
ALD76	C3													ALD-ImP
ALD77	A2													ALD-ImP
ALD78	C3													ALD-ImP
ALD79	CmI10													ALD-ImP
ALD80	C3													ALD-ImP
ALD82	C3													ALD-ImP
MOH1	IND3	182	182	126	130	257	265					165	179	MOH-Ponte-hiver
MOH2	C3	170	174	126	141	232	286					171	183	MOH-Ponte-hiver
MOH4	A1	155	168	128	128	232	282					179	196	MOH-Ponte-hiver
MOH5	C3	172	184	139	139	240	286					181	188	MOH-Ponte-hiver
MOH6	C3	168	182	128	135	265	265					157	171	MOH-Ponte-hiver
MOH7	D2	170	182	132	132	246	248					175	177	MOH-Ponte-hiver
MOH8	C3	161	166	135	135									MOH-Ponte-hiver
MOH9	IND3	164	168	126	126	244	280					179	188	MOH-Ponte-hiver
MOH10	C3	168	182									179	179	MOH-Ponte-hiver
MOH13	C3	170	180	128	139	249	267					173	173	MOH-Ponte-hiver
MOH14	C3	154	168	133	141	280	292					179	179	MOH-Ponte-hiver
MOH15	C3	170	182			236	238					209	211	MOH-Ponte-hiver
MOH16	C3	168	188	139	143							181	185	MOH-Ponte-hiver
MOH17	C3	168	182	126	139	246	246					181	211	MOH-Ponte-hiver
MOH18	C3	168	170	128	137	238	271					179	181	MOH-Ponte-hiver
MOH19	C3	172	188	128	132	246	275					173	190	MOH-Ponte-hiver
MOH20	C3	168	170	126	132	273	277					187	198	MOH-Ponte-hiver
MOH21	C3	164	170	135	137	238	284					167	188	MOH-Ponte-hiver
MOH22	C3	161	186	118	128	232	244					171	202	MOH-Ponte-hiver
MOH23	C3	161	172	126	132	244	275					179	190	MOH-Ponte-hiver
MOH24	C3	161	168	126	132	249	269					179	183	MOH-Ponte-hiver
MOH25	C3	170	170	126	134	259	271					179	190	MOH-Ponte-hiver
MOH26	C3	168	170	126	135	232	253					196	196	MOH-Ponte-hiver
MOH27	C3	154	170	132	139	280	284					177	179	MOH-Ponte-hiver
MOH28	C3	180	182	130	139	282	288					186	196	MOH-Ponte-hiver
MOH29	C3	172	182	128	128	265	274			229	229	152	198	MOH-Ponte-hiver
MOH30	C3	182	194	132	134	267	286					198	198	MOH-Ponte-hiver
MOH31	C3	170	180	128	128	238	246					181	188	MOH-Ponte-hiver
MOH32	CM8	180	188	137	150	246	271					175	203	MOH-Ponte-hiver
MOH33	A2	170	174	134	146	242	279					182	202	MOH-Ponte-hiver
MOH34	C3	168	168	132	134	282	282					170	184	MOH-Ponte-hiver
MOH36	C3	162	180	130	137	247	284							MOH-Ponte-hiver
MOH37	C14													MOH-Ponte-hiver
MOH38	C3	168	182	132	135									MOH-Ponte-hiver
MOH39	C3	170	172	132	135	247	280							MOH-Ponte-hiver
MOH40	A2													MOH-Ponte-hiver
MOH41	C3													MOH-Ponte-hiver
MOH42	C3													MOH-Ponte-hiver
MOH43	A2	166	168	135	141	243	280							MOH-Ponte-hiver
MOH44	C3	170	182	128	146	247	265	334	343	236	236			MOH-Ponte-hiver
MOH45	CM8													MOH-Ponte-hiver
MOH46	C3													MOH-Ponte-hiver
MOH47	C3													MOH-Ponte-hiver
MOH48	D2													MOH-Ponte-hiver
MOH49	IND3													MOH-Ponte-hiver
MOH50	C3													MOH-Ponte-hiver
MOH51	CmI2													MOH-Ponte-hiver
MOH52	C3	168	182	126	135	245	247	336	348					MOH-Ponte-hiver

Echantillon	ADNmt	Cm3		Cm58		Cm72		Cm84		Cc117		Cc7		Nom population
MOH53	C3	168	182	128	128									MOH-Ponte-hiver
MOH54	glo33	159	162	126	128	249	249							MOH-Ponte-hiver
MOH55	C3	168	188	126	130	286	290	338	338					MOH-Ponte-hiver
MOH56	C3	162	168	128	128			327	348					MOH-Ponte-hiver
MOH57	C3													MOH-Ponte-hiver
MOH58	C3	157	176	128	135	247	273	333	335					MOH-Ponte-hiver
MOH59	C3	168	180	130	135	247	274	336	357					MOH-Ponte-hiver
MOH60	C3	162	168	132	137	245	288	339	348	240	250			MOH-Ponte-hiver
MOH61	C3	168	188	126	129	259	280	342	342	236	238			MOH-Ponte-hiver
MOH62	Cml2	182	194	135	135	249	286							MOH-Ponte-hiver
MOH63	C3	162	176			265	289	325	336	244	248			MOH-Ponte-hiver
MOH64	C3	170	190	126	139	240	265	334	340	240	244			MOH-Ponte-hiver
MOH65	C3	169	184	128	132	273	273	335	343	229	242			MOH-Ponte-hiver
MOH66	C3	164	172	130	135	247	284							MOH-Ponte-hiver
MOH67	C3	168	170	126	132	247	280	334	356	238	248			MOH-Ponte-été
MOH68	C3	170	170	132	135	245	253					179	198	MOH-Ponte-été
MOH69	C3	168	180	132	134	277	292					181	186	MOH-Ponte-été
MOH70	C3	168	168									177	203	MOH-Ponte-été
MOH71	C3													MOH-Ponte-été
MOH72	C3	162	170									169	179	MOH-Ponte-été
MOH73	C3	168	168			234	234					166	181	MOH-Ponte-été
MOH74	CM8													MOH-Ponte-été
MOH75	C3	162	174	126	132							179	181	MOH-Ponte-été
MOH76	CM8													MOH-Ponte-été
MOH77	IND3													MOH-Ponte-été
MOH78	IND3													MOH-Ponte-été
MOH79	CM8													MOH-Ponte-été
MOH80	C3													MOH-Ponte-été
MOH81	CM8													MOH-Ponte-été
MOH82	C3													MOH-Ponte-été
MOH84	C3													MOH-Ponte-été
MOH85	C3													MOH-Ponte-été
MOH86	C3													MOH-Ponte-été
MOH87	C3													MOH-Ponte-été
MOH88	CM8													MOH-Ponte-été
MOH89	C3													MOH-Ponte-été
MOH90	C3													MOH-Ponte-été
MOH91	C3													MOH-Ponte-été
MOH92	C3													MOH-Ponte-été
MOH93	IND3													MOH-Ponte-été
MOH94	IND3													MOH-Ponte-été
MOH95	C3													MOH-Ponte-été
MOH96	C3	154	168	116	116	232	232					175	175	MOH-Ponte-été
MOH97	C3	182	182	126	141	242	247					169	169	MOH-Ponte-été
MOH98	C3	182	188									173	177	MOH-Ponte-été
MAY58	C3													MAY-Alim-F
MAY60	C3													MAY-Alim-F
MAY62	C3													MAY-Alim-F
MAY67	A2													MAY-Alim-F
MAY75	C3	162	164	132	139	232	272	335	335					MAY-Alim-F
MAY79	C3	151	176	135	137	249	251	324	330	236	238			MAY-Alim-F
MAY82	C3	182	182	128	139	234	251	324	324					MAY-Alim-F
MAY138	C3	168	185	128	135	232	241	331	349			169	169	MAY-Alim-F
MAY145	C3	170	174	126	126	247	269	343	356			175	200	MAY-Alim-F
MAY146	A2	170	195	126	128	249	274	336	341			169	181	MAY-Alim-F
MAY157	A2	151	170	126	135	259	290	336	355	235	244	156	169	MAY-Alim-F
MAY158	C3	151	151	125	134	251	265	334	336			169	180	MAY-Alim-F
MAY167	CM8	168	168	126	133	249	276	343	343			158	171	MAY-Alim-F
MAY168	C3	162	164	133	139	232	272	335	335			162	166	MAY-Alim-F
MAY196	C3	168	168	128	135	232	241			210	210	156	169	MAY-Alim-F
MAY204	IND3	159	180	135	137	246	265	336	336	248	248	157	171	MAY-Alim-F
MAY207	CM8													MAY-Alim-F
MAY209	C3	154	154									156	169	MAY-Alim-F
MAY211	C3	149	168	119	128	260	260	309	309	220	220	171	177	MAY-Alim-F
MAY239	A2	151	170	126	135	274	290					169	179	MAY-Alim-F
MAY241	C3	176	186	128	133	232	232					165	228	MAY-Alim-F
MAY242	C3	161	175	134	138	279	295					174	182	MAY-Alim-F
MAY244	C3													MAY-Alim-F
MAY246	C3													MAY-Alim-F
MAY247	C3													MAY-Alim-F

Echantillon	ADNmt	Cm3		Cm58		Cm72		Cm84		Cc117		Cc7		Nom population
MAY250	A2													MAY-Alim-F
MAY253	IND3													MAY-Alim-F
MAY254	C3													MAY-Alim-F
MAY256	C3													MAY-Alim-F
MAY257	C3													MAY-Alim-F
MAY258	C3													MAY-Alim-F
MAY259	C3													MAY-Alim-F
MAY260	UD2a													MAY-Alim-F
MAY261	C3													MAY-Alim-F
MAY263	CM8													MAY-Alim-F
MAY265	C3													MAY-Alim-F
MAY266	D2													MAY-Alim-F
MAY56	A2													MAY-Alim-I
MAY59	C3													MAY-Alim-I
MAY66	C3													MAY-Alim-I
MAY72	C3	168	182	128	137									MAY-Alim-I
MAY74	A2	170	188	130	132	280	290	340	343	246	248			MAY-Alim-I
MAY76	C3	154	184	128	128	274	276	349	351	246	258			MAY-Alim-I
MAY78	C3	168	180	135	135	276	280	335	344	240	248			MAY-Alim-I
MAY85	C3	164	166	132	135	278	286							MAY-Alim-I
MAY86	C3	162	182	139	141	247	292	341	341					MAY-Alim-I
MAY87	C3	155	174	139	141	267	288							MAY-Alim-I
MAY125	C3	174	183	128	135	247	289	337	351			162	169	MAY-Alim-I
MAY126	IND3	164	176	126	128	278	293	337	359			167	189	MAY-Alim-I
MAY131	C3	172	182	131	133	270	295	333	344			167	179	MAY-Alim-I
MAY133	C3	170	188	135	144	247	284	335	341			175	175	MAY-Alim-I
MAY134	C3	182	184	135	153	238	282	330	330			181	181	MAY-Alim-I
MAY140	A2	172	180	131	139	255	265	335	335			171	171	MAY-Alim-I
MAY142	C3	155	174	139	141	267	288	323	343			165	179	MAY-Alim-I
MAY147	C3	183	189	135	137	265	181	328	336			175	183	MAY-Alim-I
MAY148	CM8	164	170	128	139	232	241	337	346			171	179	MAY-Alim-I
MAY150	CM8	162	184	130	137	243	286	338	350			187	194	MAY-Alim-I
MAY151	A2	168	182	133	135	267	286	344	359			189	198	MAY-Alim-I
MAY152	C3	155	182	133	133	245	251	336	336			169	187	MAY-Alim-I
MAY154	C3	162	170	128	139	265	278	329	335			202	202	MAY-Alim-I
MAY156	C3	164	166	133	135	264	293	336	343			173	175	MAY-Alim-I
MAY159	CM8	168	184	137	141	232	249	332	348			180	194	MAY-Alim-I
MAY160	C3	162	162	128	139	240	257	338	338			185	192	MAY-Alim-I
MAY161	C3	174	174	138	143			323	323			171	173	MAY-Alim-I
MAY162	Cml2	166	181	128	132	266	297	335	349	237	237	160	164	MAY-Alim-I
MAY164	C3	166	170	126	135	246	261	342	346			158	169	MAY-Alim-I
MAY165	C3	172	184	133	137	239	276	335	356	234	242	169	179	MAY-Alim-I
MAY166	A2	164	176	130	139	280	295	334	334			173	177	MAY-Alim-I
MAY170	Cml2													MAY-Alim-I
MAY193	C3	162	170	128	139	265	284	328	335			187	189	MAY-Alim-I
MAY195	C3													MAY-Alim-I
MAY200	C3	184	193									159	173	MAY-Alim-I
MAY210	C3	174	182	139	144	260	274					173	185	MAY-Alim-I
MAY212	C3	153	169	134	134	232	248	338	338			161	175	MAY-Alim-I
MAY221	CM8	155	155	130	135	245	273					175	175	MAY-Alim-I
MAY234	C3	180	188	130	133	247	292					173	189	MAY-Alim-I
MAY235	CM8	170	184	128	135	257	287					168	183	MAY-Alim-I
MAY236	C3	174	182	139	144	274	289	323	323			173	185	MAY-Alim-I
MAY237	C3	162	180	128	135	267	286					188	192	MAY-Alim-I
MAY238	C3	168	169	135	135	238	298	330	330			167	181	MAY-Alim-I
MAY240	C3	170	180	130	130	265	280					173	173	MAY-Alim-I
MAY243	C3													MAY-Alim-I
MAY245	C3													MAY-Alim-I
MAY248	C3													MAY-Alim-I
MAY249	C3													MAY-Alim-I
MAY251	Cml2													MAY-Alim-I
MAY252	CM8													MAY-Alim-I
MAY255	IND3													MAY-Alim-I
MAY262	C3													MAY-Alim-I
MAY264	C3													MAY-Alim-I
MAY267	IND3													MAY-Alim-I
MAY47	CM8													MAY-Alim-M
MAY54	C3	168	180	128	133	278	299	336	360	234	248			MAY-Alim-M
MAY57	C3													MAY-Alim-M
MAY63	C3													MAY-Alim-M

Echantillon	ADNmt	Cm3		Cm58		Cm72		Cm84		Cc117		Cc7		Nom population
MAY64	C3													MAY-Alim-M
MAY65	A2													MAY-Alim-M
MAY68	C3													MAY-Alim-M
MAY69	C3	168	182	128	135	232	244	329	345					MAY-Alim-M
MAY70	A1	174	182	128	132	247	269	340	340	250	250			MAY-Alim-M
MAY71	CM8	154	168	128	135	234	274	341	346					MAY-Alim-M
MAY77	C3	164	172	126	137	234	286	331	346	236	236			MAY-Alim-M
MAY80	CM8	170	182	144	144	245	255	345	349	236	236			MAY-Alim-M
MAY81	C3	151	178	135	139	240	274	336	341	238	238			MAY-Alim-M
MAY83	CM8	184	184	144	146	227	261							MAY-Alim-M
MAY84	C3	154	188	126	144	278	286	328	328					MAY-Alim-M
MAY127	CM8	166	168	139	142	249	263	330	343			179	194	MAY-Alim-M
MAY128	D2	182	205	128	135	263	278					173	196	MAY-Alim-M
MAY129	C3	168	183	128	133	265	276	339	344			183	183	MAY-Alim-M
MAY130	C3	164	168	133	135	261	293	336	346			183	204	MAY-Alim-M
MAY135	C3	168	174	128	135	245	265	336	344			169	169	MAY-Alim-M
MAY136	IND3	168	188	126	141	256	272	343	347			165	179	MAY-Alim-M
MAY139	A2	180	182	128	135	232	276	348	348			179	214	MAY-Alim-M
MAY141	C3	182	189	128	135	249	284	323	338			173	187	MAY-Alim-M
MAY143	C3	168	168	128	135	257	271					188	202	MAY-Alim-M
MAY144	C3	166	190	126	133	281	281	333	343			171	183	MAY-Alim-M
MAY149	C3	168	180	128	128	247	269	324	343			181	187	MAY-Alim-M
MAY153	A2	173	184	130	151	265	280	330	336			204	211	MAY-Alim-M
MAY155	CM8	155	168	128	135	232	251	342	342			175	190	MAY-Alim-M
MAY163	CM8	170	170	143	143	244	255	345	349	236	236	167	177	MAY-Alim-M
MAY169	C3	168	184	131	133	234	241	336	344			171	171	MAY-Alim-M
MAY194	CM8													MAY-Alim-M
MAY197	C3	168	190	126	141							156	169	MAY-Alim-M
MAY198	IND3	168	188	126	141							165	179	MAY-Alim-M
MAY199	C3	168	168	130	132							171	188	MAY-Alim-M
MAY201	D2	168	170	135	142							169	183	MAY-Alim-M
MAY202	CM8													MAY-Alim-M
MAY203	C3	168	168	128	139	234	251	325	325			165	179	MAY-Alim-M
MAY205	D2													MAY-Alim-M
MAY206	C3	166	182	128	130	232	249					176	190	MAY-Alim-M
MAY208	IND3													MAY-Alim-M
MAY222	C3	154	162	128	144	251	284					183	183	MAY-Alim-M
MAY137	C3	151	151	126	139	249	265	335	342			179	179	MAY-Alim-X
MAY5	C3	168	188	132	137	269	278					185	189	MAY-Ponte-été
MAY7	C3	184	188			245	280					171	183	MAY-Ponte-été
MAY8	C3	172	172	130	141	253	282	345	345	236	238	175	179	MAY-Ponte-été
MAY9	C3	153	153	128	137	278	288					169	169	MAY-Ponte-été
MAY11	C3	164	182	128	128	240	265					167	167	MAY-Ponte-été
MAY12	C3	180	182	141	141	271	275					175	175	MAY-Ponte-été
MAY13	CM8	170	184	130	130	251	284	335	335	234	248	173	190	MAY-Ponte-été
MAY14	A2	162	166	130	135	238	273					167	196	MAY-Ponte-été
MAY15	CM8	172	174	130	144	292	292					183	194	MAY-Ponte-été
MAY17	C3	155	164	128	132	249	296					175	177	MAY-Ponte-été
MAY18	IND3	182	182	128	146	240	246					173	181	MAY-Ponte-été
MAY19	C3	170	182	128	128							173	198	MAY-Ponte-été
MAY20	C3	168	168	132	150	248	284					167	181	MAY-Ponte-été
MAY21	C3	161	182	139	139							173	175	MAY-Ponte-été
MAY23	IND3	162	172	128	130	240	282					179	181	MAY-Ponte-été
MAY24	C3	162	170	132	141	269	284	335	341	238	238	175	202	MAY-Ponte-été
MAY25	CM8	184	190	130	139	275	300					175	181	MAY-Ponte-été
MAY26	C3	161	166	132	132	271	290					179	183	MAY-Ponte-été
MAY27	C3	161	170	132	137	246	273					196	198	MAY-Ponte-été
MAY28	C3	159	168			249	249					179	179	MAY-Ponte-été
MAY30	C3	170	172	126	132	265	275					161	196	MAY-Ponte-été
MAY31	C3	163	170									179	194	MAY-Ponte-été
MAY32	C3	166	172	135	135	246	275					173	194	MAY-Ponte-été
MAY33	C3	180	182	135	135	246	275					179	183	MAY-Ponte-été
MAY34	C3	161	182	126	132	275	280					167	183	MAY-Ponte-été
MAY35	C3	161	180	128	141	234	257	330	335			177	190	MAY-Ponte-été
MAY44	C3	172	182	130	132	251	280	336	349	232	248			MAY-Ponte-été
MAY46	C3	180	182	135	146	232	242							MAY-Ponte-été
MAY49	D2	170	170	128	128	238	247	336	340	236	248			MAY-Ponte-été
MAY51	C3	176	188	133	140	284	286	336	343	236	246			MAY-Ponte-été
MAY52	C3	168	182	126	135	245	276	340	356	238	244			MAY-Ponte-été
MAY53	IND3	162	190	126	128	240	271	323	342	238	240			MAY-Ponte-été

Echantillon	ADNmt	Cm3		Cm58		Cm72		Cm84		Cc117		Cc7		Nom population
MAY117	C3	164	170	129	133	274	280	337	343	241	245	173	198	MAY-Ponte-été
MAY118	C3	180	195	126	135	253	280					183	198	MAY-Ponte-été
MAY119	C3	180	182	126	135	280	291					185	189	MAY-Ponte-été
MAY120	C3													MAY-Ponte-été
MAY121	C3	164	170	129	133	274	280	337	343			173	198	MAY-Ponte-été
MAY122	C3	168	180	133	142	266	280					169	179	MAY-Ponte-été
MAY123	C3	176	180	133	135	266	280	337	344			181	185	MAY-Ponte-été
MAY124	C3	181	183	131	139	262	278	337	339			179	181	MAY-Ponte-été
MAY171	C3	176	182	133	133	258	271	334	342			177	181	MAY-Ponte-été
MAY177	C3	161	170	133	137	265	279	336	336			169	175	MAY-Ponte-été
MAY36	A2	180	180									179	179	MAY-Ponte-hiver
MAY37	CM8													MAY-Ponte-hiver
MAY38	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY39	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY40	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY41	C3	168	168									177	177	MAY-Ponte-hiver
MAY42	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY43	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY89	C3	160	172	126	139	249	284	323	323					MAY-Ponte-hiver
MAY90	C3	164	180	130	139	284	286	335	351	244	250			MAY-Ponte-hiver
MAY91	C3	168	172	130	135	245	265	335	335	247	250			MAY-Ponte-hiver
MAY92	C3	168	182	126	126	280	288	336	338	234	236			MAY-Ponte-hiver
MAY93	C3	157	182	130	132	265	284			234	238			MAY-Ponte-hiver
MAY94	C3	162	168	126	128	242	242							MAY-Ponte-hiver
MAY96	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY97	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY98	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY99	C3	166	176	135	144	278	280							MAY-Ponte-hiver
MAY100	CM8													MAY-Ponte-hiver
MAY101	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY103	IND3													MAY-Ponte-hiver
MAY105	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY106	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY107	C3	154	180	132	132	275	288	338	338	231	236			MAY-Ponte-hiver
MAY108	A2	168	182	135	141	253	277							MAY-Ponte-hiver
MAY109	C3	168	170	135	135	284	290							MAY-Ponte-hiver
MAY110	C3	167	182	135	146	271	288							MAY-Ponte-hiver
MAY111	CM8	164	166	128	130	276	285	335	335	232	250			MAY-Ponte-hiver
MAY112	C3	168	180	126	146	247	278							MAY-Ponte-hiver
MAY113	C3	161	192	126	130	269	280	332	332	248	250			MAY-Ponte-hiver
MAY114	IND3	166	172	128	132	282	312			240	242			MAY-Ponte-hiver
MAY116	C3	176	182	126	126	232	280							MAY-Ponte-hiver
MAY178	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY179	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY180	C3	144	144	122	122	253	263	307	307					MAY-Ponte-hiver
MAY181	CM8													MAY-Ponte-hiver
MAY182	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY183	CM8													MAY-Ponte-hiver
MAY184	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY185	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY186	CM8													MAY-Ponte-hiver
MAY187	A2													MAY-Ponte-hiver
MAY188	A2	162	168			258	258			217	217	181	183	MAY-Ponte-hiver
MAY189	IND3	157	182			235	235					160	173	MAY-Ponte-hiver
MAY190	IND3	172	188	128	138	260	295			229	247	166	179	MAY-Ponte-hiver
MAY191	C3					259	279			206	208	158	171	MAY-Ponte-hiver
MAY192	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY213	C3	162	183	128	135	247	279					177	179	MAY-Ponte-hiver
MAY216	C3	170	190	128	131	245	292					185	187	MAY-Ponte-hiver
MAY217	CM8	170	182	130	133	245	259					181	181	MAY-Ponte-hiver
MAY218	A2	168	180	135	135	276	276					171	187	MAY-Ponte-hiver
MAY219	C3													MAY-Ponte-hiver
MAY220	C3	182	184	128	128	265	280					169	169	MAY-Ponte-hiver
MAY223	C3	151	174	135	136	270	270					202	219	MAY-Ponte-hiver
MAY224	C3	168	168	128	130	251	276					179	179	MAY-Ponte-hiver
MAY225	C3	168	182	128	141	274	289					169	192	MAY-Ponte-hiver
MAY226	A2	162	168	128	135	247	290					181	183	MAY-Ponte-hiver
MAY227	C3	168	170			227	249					167	186	MAY-Ponte-hiver
MAY228	C3	155	155	128	141	249	265					179	181	MAY-Ponte-hiver
MAY229	IND3													MAY-Ponte-hiver

Echantillon	ADNmt	Cm3		Cm58		Cm72		Cm84		Cc117		Cc7		Nom population
MAY230	C3	162	162	135	141	247	288					173	177	MAY-Ponte-hiver
MAY231	C3	157	157	128	133	272	286					167	181	MAY-Ponte-hiver
MAY232	IND3	172	176	135	144	245	265					173	188	MAY-Ponte-hiver
MAY233		161	166	126	137							190	204	MAY-Ponte-hiver
MAY172	C3	168	182	130	137	284	284					181	187	MAY-Mort-F
MAY173	C3	170	174	126	139	249	276	335	345			167	181	MAY-Mort-F
MAY174	C3	157	162	128	141	256	273	344	355			169	173	MAY-Mort-F
MAY175	C3	164	164	130	132	230	265	329	343			179	179	MAY-Mort-F
MAY176	A2	155	168	132	135	238	254					181	196	MAY-Mort-F
GLO1	C3	184	195	134	141	240	257	335	335			175	177	GLO-Ponte
GLO2	C3	168	182	128	132	265	279					175	184	GLO-Ponte
GLO3	C3	180	182	126	136	240	272	335	335			185	196	GLO-Ponte
GLO4	C3	168	180	128	130	265	280					169	169	GLO-Ponte
GLO5	C3	170	180	128	139	257	263					198	211	GLO-Ponte
GLO6	A2	172	182	134	141	244	273	336	349	207	207	167	180	GLO-Ponte
GLO7	A2	168	182	126	130	234	263					181	192	GLO-Ponte
GLO8	C3	155	157	136	138	244	261					167	196	GLO-Ponte
GLO9	C3	157	162	130	135	249	276					169	179	GLO-Ponte
GLO10	C3	180	180	126	126	267	286					169	179	GLO-Ponte
GLO11	A2	182	188	128	134	246	290					179	184	GLO-Ponte
GLO12	A2	170	176	130	143	280	294					170	179	GLO-Ponte
GLO13	C3	169	182	132	134	234	250	336	336	207	207	179	196	GLO-Ponte
GLO14	C3	162	164	128	134	265	265					177	181	GLO-Ponte
GLO15	C3	168	170	134	138	238	273					181	181	GLO-Ponte
GLO16	C3	160	168	135	135	244	280			207	207	167	183	GLO-Ponte
GLO17	C3	156	165	134	141	250	279	343	356	208	208	167	178	GLO-Ponte
GLO18	C3	157	170	128	132	271	286	332	332			185	185	GLO-Ponte
GLO19	C3	157	167	128	141	259	282	336	343	208	208	179	179	GLO-Ponte
GLO22	C3	167	170	127	134							179	184	GLO-Ponte
GLO23	A2			125	141	284	298					161	175	GLO-Ponte
GLO25	C3	172	193	128	128	242	256					184	196	GLO-Ponte
GLO26		168	180	125	128	263	295					173	184	GLO-Ponte
GLO28	C3	170	170	128	136	281	281					179	194	GLO-Ponte
GLO29	C3	155	170	134	136	248	248					180	190	GLO-Ponte
GLO30	A2			125	128	250	295					173	184	GLO-Ponte
GLO31	C3	157	170	128	141	282	297					169	169	GLO-Ponte
GLO32	C3	157	176	136	141	234	250					169	183	GLO-Ponte
GLO33	glo33	162	168	129	134	233	266	327	327	207	240	163	177	GLO-Ponte
GLO34	C3	155	184	128	134	234	253	335	335	207	240	176	219	GLO-Ponte
GLO35	C3	157	160	129	129	236	267	327	348	207	236	168	168	GLO-Ponte
GLO36	C3	150	155	132	132	247	247	327	346	207	238	167	180	GLO-Ponte
GLO37	C3	156	162	127	127	228	261	335	343	208	234	156	169	GLO-Ponte
GLO38	C3	154	162	128	128	261	261	329	329	218	236	159	172	GLO-Ponte
GLO40	C3	170	174	126	141	284	284					169	202	GLO-Ponte
GLO41	C3	170	183	126	128	247	280					169	194	GLO-Ponte
GLO42	C3	168	168	133	135	284	301					171	181	GLO-Ponte
GLO43	C3	164	176	133	133							196	204	GLO-Ponte
GLO49	A2	170	185			270	280					167	173	GLO-Ponte
GLO50	C3			126	128	232	274					175	179	GLO-Ponte
GLO51	C3	189	189	126	135	237	249					173	179	GLO-Ponte
GLO52		170	186	128	135	278	278					179	181	GLO-Ponte
GLO53	C3	168	168	133	135	284	301					171	181	GLO-Ponte
GLO54	C3	168	170	133	141	232	276					181	187	GLO-Ponte
GLO55	C3	157	180	128	135	230	295					181	202	GLO-Ponte
GLO56	C3	162	180	126	139							169	194	GLO-Ponte
GLO57	C3	182	182	130	141	234	245					169	175	GLO-Ponte
GLO58	C3	166	168	126	135	270	284					179	179	GLO-Ponte
GLO59	C3	168	170	135	137	282	295					179	183	GLO-Ponte
GLO69	C3	172	188	139	139	233	280					166	179	GLO-Ponte
GLO70	C3	168	182	133	133	238	286					206	206	GLO-ImP
GLO71	C3	162	182	128	128	232	272					204	215	GLO-ImP
GLO72	C3	157	178	126	128	232	262					165	179	GLO-ImP
GLO73	C3	176	182	126	137							181	191	GLO-ImP
GLO74	CM8	162	166	133	146	257	290					179	192	GLO-ImP
GLO75	A2	168	184	133	133	232	265					177	187	GLO-ImP
GLO76	A2	164	180	126	128	249	272					183	183	GLO-ImP
GLO77	C3	168	182	135	137	247	266					181	213	GLO-ImP
GLO78	C3	170	182	128	133	265	274					169	183	GLO-ImP
GLO79	C3	164	180	130	135	290	292					169	185	GLO-ImP
GLO80	Cml2	164	182	128	130	239	247					169	189	GLO-ImP

Echantillon	ADNmt	Cm3		Cm58		Cm72		Cm84		Cc117		Cc7		Nom population
GLO81	A2	168	194	130	135	270	274					167	181	GLO-ImP
GLO82	A2	153	184	128	130	247	292					198	198	GLO-ImP
GLO83	C3	168	180	130	135	274	297					183	190	GLO-ImP
GLO84	C3	182	182	133	144	272	280					167	169	GLO-ImP
GLO85	A2	153	164	133	142	251	278					181	194	GLO-ImP
GLO86	C3	170	176	126	128	236	238					169	172	GLO-ImP
GLO87	D2	162	180	128	137	232	247					169	177	GLO-ImP
GLO88	C4	157	157	135	139	265	281					179	192	GLO-ImP
GLO89	C3	168	180	126	133	230	240					173	185	GLO-ImP
GLO90	C3	162	182	131	141	245	288					175	179	GLO-ImP
GLO91	C3	169	169	128	137	269	269					179	190	GLO-ImP
GLO92	A2	183	183			253	272					181	217	GLO-ImP
GLO93	C3	170	180	144	144	274	282					191	191	GLO-ImP
GLO94	Cm19	174	180	128	133	238	265					179	185	GLO-ImP
GLO95	A2	172	180	133	133	243	288					177	185	GLO-ImP
GLO96	C3	170	172	133	141	265	279					177	179	GLO-ImP
GLO97	C3	163	176	128	135	269	284					181	194	GLO-ImP
GLO98	CM8	170	170	139	144	278	293					179	194	GLO-ImP
GLO99	CM8	154	168	141	144	249	289					162	179	GLO-ImP
GLO100	C3	162	182	126	128	265	265					175	198	GLO-ImP
MAD7	C3	166	168	135	137	265	278					173	202	MAD N-O
MAD8	C3	155	174	126	135	243	247					175	188	MAD N-O
MAD9	D2													MAD N-O
MAD12	C3	170	182	128	133							161	175	MAD N-O
MAD13	C3	176	182	128	141	251	265					152	165	MAD N-O
MAD14	C3													MAD N-O
MAD16	C3													MAD N-O
MAD17	A2													MAD N-O
MAD18	C3													MAD N-O
MAD19	C3													MAD N-O
MAD20	IND3	166	180	126	137	272	286					160	173	MAD N-O
MAD22		150	150	125	125	233	233					177	183	MAD N-O
MAD24		168	168									169	183	MAD N-O
MAD26	C3			128	132							175	175	MAD N-O
MAD27	C3	168	170	126	126	245	245					179	179	MAD N-O
MAD28	C3													MAD N-O
MAD30	A2													MAD N-O
MAD31	A2													MAD N-O
MAD32	C3													MAD N-O
IRAi1	C3													IRA-Ponte
IRA1	C3	168	180	132	134	253	253					179	192	IRA-Ponte
IRA2	C3	164	182	132	134	263	279					170	185	IRA-Ponte
IRA3	C3	167	180	132	132	244	265					181	186	IRA-Ponte
IRA4	C3	159	172	126	137	277	292					165	179	IRA-Ponte
IRA6	C3	180	182	132	132	244	265					181	186	IRA-Ponte
IRA8	C3	161	170	134	134	280	280					179	190	IRA-Ponte
IRA10	C3	161	170	134	134	280	280					179	190	IRA-Ponte
IRA11	C3													IRA-Ponte
IRA12	C3	166	180	128	132	249	284					179	179	IRA-Ponte
IRA13	C3	166	182	128	132	244	257					169	179	IRA-Ponte
IRA14	C3	170	176			248	274					173	179	IRA-Ponte
IRA17	C3													IRA-Ponte
IRA18	C3													IRA-Ponte
IRA19	C3													IRA-Ponte
IRA20	C3													IRA-Ponte
IRA21	C3													IRA-Ponte
IRA23	C3													IRA-Ponte
IRA26	C3													IRA-Ponte
JDN11	CM8	169	187	130	141	227	242					180	194	JDN-Ponte
JDN13	C3	157	185	132	132	234	250	332	332	238	242	165	176	JDN-Ponte
JDN14				126	136	257	291					158	171	JDN-Ponte
JDN17	C3			125	125							163	168	JDN-Ponte
JDN18	CM8	156	185	122	127	254	254					161	174	JDN-Ponte
JDN19	CM8	156	156	130	130	246	262			234	234	158	171	JDN-Ponte
JDN20	CM8	173	173	125	132	261	289	342	358	234	234	148	161	JDN-Ponte
JDN21	CM8	170	170									148	161	JDN-Ponte
JDN22	CM8	152	156	127	127	254	254					163	176	JDN-Ponte
JDN24	C3	152	156	127	127							159	172	JDN-Ponte
JDN25	C3	148	148	127	127	230	266	336	348	207	236	174	174	JDN-Ponte
JDN30	C3	155	168	135	143							179	198	JDN-Ponte

Echantillon	ADNmt	Cm3		Cm58		Cm72		Cm84		Cc117		Cc7		Nom population
JDN31	C3	168	180	128	130	269	282					173	175	JDN-Ponte
JDN38	C3	168	182	132	135	244	244					179	198	JDN-Ponte
JDN48	CM8													JDN-Ponte
JDN60	CM8													JDN-Ponte
JDN26	CM8	166	182	128	141	246	282					177	177	JDN-ImP
JDN29	CmI2	154	182	126	128							183	202	JDN-ImP
JDN32	C1	170	180	126	128	234	273					181	181	JDN-ImP
JDN33	C3	186	188	128	135							204	204	JDN-ImP
JDN34	CM8	174	182	130	141	227	227					186	186	JDN-ImP
JDN35	CM8	161	182	126	132	259	271					192	196	JDN-ImP
JDN36	CM8	168	182	135	143	238	238					161	179	JDN-ImP
JDN37	CM8	182	184									175	179	JDN-ImP
JDN49	CM8													JDN-ImP
JDN50	C3													JDN-ImP
JDN52	CM8													JDN-ImP
JDN53	C3													JDN-ImP
JDN54	C3													JDN-ImP
JDN55	C3													JDN-ImP
JDN56	CM8													JDN-ImP
JDN57	CM8													JDN-ImP
JDN59	IND3													JDN-ImP
JDN61	C3													JDN-ImP
JDN62	CM8													JDN-ImP
JDN63	C3													JDN-ImP
JDN64	CM8													JDN-ImP
JDN69	C3													JDN-ImP
JDN70	CM8													JDN-ImP
JDN71	IND3													JDN-ImP
JDN51	CM8													JDN-Alim-F
MAD49	C3													MAD O -Alim-F
MAD54	C3													MAD O -Alim-F
MAD62	C3													MAD O -Alim-F
MAD68	C3													MAD O -Alim-F
MAD73	C3													MAD O -Alim-F
MAD79	CmI11													MAD O -Alim-F
MAD88	C3													MAD O -Alim-F
MAD89	CM8													MAD O -Alim-F
MAD99	C3													MAD O -Alim-F
MAD103	UIND3a													MAD O -Alim-F
MAD110	C3													MAD O -Alim-F
MAD116	C3													MAD O -Alim-F
MAD125	C3													MAD O -Alim-F
MAD34	C3													MAD O -Alim-I
MAD38	C3													MAD O -Alim-I
MAD66	CM8													MAD O -Alim-I
MAD69	C3													MAD O -Alim-I
MAD70	A2													MAD O -Alim-I
MAD74	C3													MAD O -Alim-I
MAD76	CM8													MAD O -Alim-I
MAD77	C3													MAD O -Alim-I
MAD78	CmI11													MAD O -Alim-I
MAD80	IND3													MAD O -Alim-I
MAD81	C3													MAD O -Alim-I
MAD82	C3													MAD O -Alim-I
MAD83	CM8													MAD O -Alim-I
MAD84	C3													MAD O -Alim-I
MAD85	C3													MAD O -Alim-I
MAD86	C3													MAD O -Alim-I
MAD101	CM8													MAD O -Alim-I
MAD102	C3													MAD O -Alim-I
MAD104	CM8													MAD O -Alim-I
MAD105	CM8													MAD O -Alim-I
MAD106	C3													MAD O -Alim-I
MAD107	C3													MAD O -Alim-I
MAD108	CM8													MAD O -Alim-I
MAD109	IND3													MAD O -Alim-I
MAD111	CM8													MAD O -Alim-I
MAD112	C3													MAD O -Alim-I
MAD113	C3													MAD O -Alim-I
MAD114	C3													MAD O -Alim-I

Echantillon	ADNmt	Cm3		Cm58		Cm72		Cm84		Cc117		Cc7	Nom population
MAD115	C3												MAD O -Alim-I
MAD45	C3												MAD O -Alim-M
MAD97	C3												MAD O -Alim-M
MAD40	CM8												MAD O -Alim-M
MAD90	CM8												MAD O -Alim-M
MAD87	Glo33												MAD O -Alim-M
MAD95	UC3h												MAD O -Alim-M
MAD159	C3												MAD O -Bycat-F
MAD162	C3												MAD O -Bycat-F
MAD164	C3												MAD O -Bycat-F
MAD163	A2												MAD O -Bycat-F
MAD167	CM8												MAD O -Bycat-F
MAD160	C3												MAD O -Bycat-I
MAD165	C3												MAD O -Bycat-I
MAD166	Cm12												MAD O -Bycat-I
MAD161	C3												MAD O -Bycat-M
MAD158	C3												MAD O -Ponte
EUR34	CM8	174	184	130	137	247	249			234	238		EUR-Ponte-hiver
EUR35	CM8	161	184	137	141	232	296	341	356				EUR-Ponte-hiver
EUR36	C3	153	174	139	141	250	271	349	349				EUR-Ponte-hiver
EUR37	CM8	170	182	130	132	265	299	329	338	236	238		EUR-Ponte-hiver
EUR38	CM8	168	170	132	143	240	288	335	356				EUR-Ponte-hiver
EUR39	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR40	C3	168	184	135	139	232	242	348	348				EUR-Ponte-hiver
EUR41	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR42	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR43	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR44	C3												EUR-Ponte-hiver
EUR45	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR46	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR47	C3												EUR-Ponte-hiver
EUR48	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR49	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR50	C3												EUR-Ponte-hiver
EUR51	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR52	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR53	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR54	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR55	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR56	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR57	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR58	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR59	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR60	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR61	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR62	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR63	C3												EUR-Ponte-hiver
EUR64	C3												EUR-Ponte-hiver
EUR65	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR66	Cm11												EUR-Ponte-hiver
EUR67	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR68	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR69	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR70	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR71	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR72	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR73	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR74	Cm11												EUR-Ponte-hiver
EUR75	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR76	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR77	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR78	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR79	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR80	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR81	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR82	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR83	Cm11												EUR-Ponte-hiver
EUR84	CM8												EUR-Ponte-hiver
EUR85	CM8												EUR-Ponte-été
EUR86	Cm11												EUR-Ponte-été

Echantillon	ADNmt	Cm3		Cm58		Cm72		Cm84		Cc117		Cc7		Nom population
EUR87	CM8													EUR-Ponte-été
EUR88	CM8													EUR-Ponte-été
EUR89	CM8													EUR-Ponte-été
EUR90	CM8													EUR-Ponte-été
EUR91	CM8													EUR-Ponte-été
EUR92	CM8													EUR-Ponte-été
EUR93	CM8													EUR-Ponte-été
EUR94	CM8													EUR-Ponte-été
EUR95	CM8													EUR-Ponte-été
EUR96	CM8													EUR-Ponte-été
EUR97	CM8													EUR-Ponte-été
EUR98	CM8													EUR-Ponte-été
EUR99	Cm15													EUR-Ponte-été
EUR100	CM8													EUR-Ponte-été
EUR101	CM8													EUR-Ponte-été
EUR102	CM8													EUR-Ponte-été
EUR103	CM8													EUR-Ponte-été
EUR104	CM8													EUR-Ponte-été
EUR105	CM8													EUR-Ponte-été
EUR106	C3													EUR-Ponte-été
EUR107	CM8													EUR-Ponte-été
EUR108	CM8													EUR-Ponte-été
EUR109	C3													EUR-Ponte-été
EUR110	CM8													EUR-Ponte-été
EUR111	CM8													EUR-Ponte-été
EUR112	CM8													EUR-Ponte-été
EUR113	CM42													EUR-Ponte-été
EUR114	CM8													EUR-Ponte-été
EUR115	C3													EUR-Ponte-été
EUR116	CM8													EUR-Ponte-été
EUR117	C3													EUR-Ponte-été
EUR118	CM8													EUR-Ponte-été
EUR119	CM8													EUR-Ponte-été
EUR120	CM8													EUR-Ponte-été
EUR121	CM8													EUR-Ponte-été
EUR122	CM8													EUR-Ponte-été
EUR123	CM8													EUR-Ponte-été
EUR124	Cm16													EUR-Ponte-été
EUR125	CM8													EUR-Ponte-été
EUR126	CM8													EUR-Ponte-été
EUR127	CM8													EUR-Ponte-été
EUR128	CM8													EUR-Ponte-été
EUR129	CM8													EUR-Ponte-été
EUR130	CM8													EUR-Ponte-été
EUR131	CM8													EUR-Ponte-été
EUR132	CM8													EUR-Ponte-été
EUR133	CM8													EUR-Ponte-été
EUR134	CM8													EUR-Ponte-été
EUR135	CM8													EUR-Ponte-été
EUR136	CM8													EUR-Ponte-été
EUR137	CM8													EUR-Ponte-été
EUR138	CM8													EUR-Ponte-été
EUR139	C3													EUR-Ponte-été
EUR140	CM8													EUR-Ponte-été
EUR141	CM8													EUR-Ponte-été
EUR142	CM8													EUR-Ponte-été
EUR143	CM8													EUR-Ponte-été
EUR144	CM8													EUR-Ponte-été
EUR145	CM8													EUR-Ponte-été
EUR146	CM8	168	184	135	135	273	273					169	184	EUR-ImP
EUR147	C3	166	188	126	141	234	269					173	179	EUR-ImP
EUR148	CM8	168	170	126	141	273	298					175	179	EUR-ImP
EUR149	CM8	168	182	128	137	232	277					177	179	EUR-ImP
EUR150	CM8	157	184	134	137	249	253					173	173	EUR-ImP
EUR151	CM8	157	174	126	141	281	298					175	196	EUR-ImP
EUR152		166	174	135	143	232	242					175	175	EUR-ImP
EUR154	A2	168	182	135	143	236	265					179	196	EUR-ImP
EUR155	CM8	168	188	126	130	232	265					169	179	EUR-ImP
EUR156	CM8	182	184	128	143	238	271					179	186	EUR-ImP
EUR157	CM46	166	168	128	141	277	282					177	181	EUR-ImP

Echantillon	ADNmt	Cm3		Cm58		Cm72		Cm84		Cc117		Cc7		Nom population
EUR158	CM8	161	168	128	137	227	297					179	183	EUR-ImP
EUR159	C4	176	182	128	132	269	273					169	181	EUR-ImP
EUR160	C3	154	182	132	135	244	271					186	186	EUR-ImP
EUR161	CM8	168	188	130	135	234	282					186	186	EUR-ImP
EUR162	C3	170	182	135	143	227	244					173	175	EUR-ImP
EUR163	C3	166	173	126	135	275	275					169	192	EUR-ImP
EUR164	C3	180	190	135	137	242	294					192	198	EUR-ImP
EUR165	A2	170	180	128	143	269	284					175	179	EUR-ImP
EUR166	CM8	168	178	128	143	227	259					169	196	EUR-ImP
EUR167	CM8	168	168			227	290					175	175	EUR-ImP
EUR168	CM8	180	182	128	143	244	255					179	181	EUR-ImP
EUR169	CM8	170	174	132	137	265	284					175	175	EUR-ImP
EUR170	CM8	168	182	130	137	265	286					169	169	EUR-ImP
EUR171	C3	168	174	128	130	263	273					177	181	EUR-ImP
EUR172	C3	174	188	128	141	279	286					181	192	EUR-ImP
EUR173	CM8													EUR-ImP
EUR174	A2													EUR-ImP
EUR175	CM8													EUR-ImP
EUR176	CM8													EUR-ImP
EUR177	CM8													EUR-ImP
EUR178	CM8													EUR-ImP
EUR179	CM8													EUR-ImP
EUR180	CM8													EUR-ImP
EUR181	C3													EUR-ImP
EUR182	C3													EUR-ImP
EUR183	IND3													EUR-ImP
EUR184	C3	182	182			227	227					196	196	EUR-ImP
EUR185	CM8													EUR-ImP
MAD1	C4	155	155									177	181	MAD S-O
MAD2	CM8	162	180	135	135	232	255					169	194	MAD S-O
MAD3	C3	170	174	128	137	247	247					166	179	MAD S-O
MAD4	C3	182	188	128	137	247	289					169	179	MAD S-O
MAD5	CM8	168	182									177	177	MAD S-O
MAD6	CM8	170	184									179	179	MAD S-O
AFS1	CM8													AFS-Alim-I
AFS2	CM8													AFS-Alim-I
AFS3	CM8													AFS-Alim-I
AFS4	CM8													AFS-Alim-I
POL1	CmPo2													POL
POL2	A2													POL
POL3	CMP22													POL
POL4	CmPo2													POL
POL5	CmPo1													POL
POL6	CmPo1													POL
POL7	CmPo3													POL
POL8	CmPo1													POL
POL23	CmPo2													POL
POL24	CmPo2													POL
POL25	CMP22													POL
POL27	CmPo2													POL
POL28	CMP22													POL
POL32	CmPo3													POL
POL33	CmPo2													POL
POL35	CmPo2													POL
POL37	CmPo2													POL

*Annexe 4 :*  
*Références et résumé des articles*  
*publiés dans des revues à comité*  
*de lecture*

## Foraging of the green sea turtle *Chelonia mydas* on seagrass beds at Mayotte Island (Indian Ocean), determined by acoustic transmitters

Coralie Taquet<sup>1,2,\*</sup>, Marc Taquet<sup>1</sup>, Tim Dempster<sup>3</sup>, Marc Soria<sup>4</sup>, Stéphane Ciccione<sup>5</sup>, David Roos<sup>1</sup>, Laurent Dagorn<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER), rue Jean Bertho, BP 60, 97822 Le Port Cedex, France

<sup>2</sup>Institut National Agronomique de Paris-Grignon (INA P-G), 16 rue Claude Bernard, 75005 Paris 5ème, France

<sup>3</sup>SINTEF Fisheries and Aquaculture, 7465 Trondheim, Norway

<sup>4</sup>Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Campus Universitaire du Moufia, BP 172, 97492 Sainte-Clotilde Cedex, France

<sup>5</sup>Centre d'Etude et de Découverte des Tortues Marines (CEDTM), BP 40, 97898 Saint Leu Cedex, France

<sup>6</sup>Institut de Recherche pour le Développement (IRD), BP 570, Victoria, Mahé, Seychelles

---

**ABSTRACT:** We studied the foraging rhythms of green sea turtles *Chelonia mydas* on the seagrass beds of N'Gouja Bay, Mayotte Island (Comoros Archipelago) with acoustic transmitters and moored listening stations. We monitored 8 tagged turtles (4 probable males, 3 probable females and 1 immature), from 70 to 109 cm curved carapace length (CCL), for durations ranging from 5 to 92 d. The turtles exhibited a regular diel pattern: they foraged mainly during the day (on average 87 % of seagrass detections were between 06:00 and 18:00 h) and rested on the inner reef slope during the night. Night time feeding activities were observed on the seagrass bed when the night light was high. The presence of turtles on the seagrass bed at night was significantly correlated with a night light index ( $r = 0.54$ ,  $p = 0.002$ ), which included both moon light and cloudiness indices. Behaviour of the only immature individual observed was similar to adult turtles, although it rested more frequently around noon. All turtles displayed a high fidelity to 1 foraging site within the seagrass bed. Acoustic transmitters and permanent listening stations are an appropriate technique for long-term behavioural studies of turtles, with no human interaction with turtles during tracking, and represent a suitable technique to assess the possible effects of environmental changes or human activities upon green turtle behaviour.

**KEY WORDS:** *Chelonia mydas* · Southwestern Indian Ocean · Mayotte · Green sea turtle · Acoustic transmitter · Listening station · Foraging rhythm

---

Resale or republication not permitted without written consent of the publisher

---

## Phylogeography of the green turtle, *Chelonia mydas*, in the Southwest Indian Ocean

J. BOURJEA,\* S. LAPÈGUE,† L. GAGNEVIN,‡ D. BRODERICK,§¶ J. A. MORTIMER,\*\* S. CICCIONE,†† D. ROOS,\* C. TAQUET\* and H. GRIZEL\*

\*Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (Ifremer) de La Réunion, Rue Jean Bertho, BP 60, 97 822 Le Port Cedex, Ile de La Réunion, France, †Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (Ifremer), Laboratoire de Génétique et Pathologie, Ronces-les-Bains, 17 390 La Tremblade, France, ‡CIRAD UMR Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical, 3P, 7 chemin de l'IRAT, 97410 Saint Pierre, La Réunion, §School of Integrative Biology, ¶Department of Primary Industries and Fisheries, Queensland Biosciences Precinct, Level 6 North Tower, University of Queensland, St Lucia, Queensland 4072, Australia, \*\*Ministry of Environment & Natural Resources, PO Box 445, Victoria, Mahe, Seychelles, ††Centre d'Etude et de Découverte des Tortues Marines de La Réunion (CEDTM), BP 40, 97898 Saint Leu Cedex, La Réunion, France

### Abstract

Patterns of mitochondrial DNA (mtDNA) variation were used to analyse the population genetic structure of southwestern Indian Ocean green turtle (*Chelonia mydas*) populations. Analysis of sequence variation over 396 bp of the mtDNA control region revealed seven haplotypes among 288 individuals from 10 nesting sites in the Southwest Indian Ocean. This is the first time that Atlantic Ocean haplotypes have been recorded among any Indo-Pacific nesting populations. Previous studies indicated that the Cape of Good Hope was a major biogeographical barrier between the Atlantic and Indian Oceans because evidence for gene flow in the last 1.5 million years has yet to emerge. This study, by sampling localities adjacent to this barrier, demonstrates that recent gene flow has occurred from the Atlantic Ocean into the Indian Ocean via the Cape of Good Hope. We also found compelling genetic evidence that green turtles nesting at the rookeries of the South Mozambique Channel (SMC) and those nesting in the North Mozambique Channel (NMC) belong to separate genetic stocks. Furthermore, the SMC could be subdivided in two different genetic stocks, one in Europa and the other one in Juan de Nova. We suggest that this particular genetic pattern along the Mozambique Channel is attributable to a recent colonization from the Atlantic Ocean and is maintained by oceanic conditions in the northern and southern Mozambique Channel that influence early stages in the green turtle life cycle.

*Keywords:* *Chelonia mydas*, control region, Indian Ocean, mitochondrial DNA, Mozambique Channel, phylogeography

Received 17 April 2006; revision accepted 7 August 2006





# Abstract

The green turtle (*Chelonia mydas*) is an emblematic species of marine life. However, nowadays it is subject to many threats (poaching, by-catch). Even if there is deep growing measures for its protection, the green turtle still is an endangered species and it is listed in Appendix I of Washington Convention (CITES). In order to elaborate efficient conservation and management plans, perfect knowledge of green turtle biology, but also of its population structure and their characteristics, are needed.

In this thesis, we have assessed genetic structure of green turtle populations in the South-Western Indian Ocean by using genetic tools. In all, 1551 tissue samples have been collected from our study zone and from our control site French Polynesia (37 samples). All kinds of individuals were sampled (except males in reproductive phase) from 15 sampling sites including nesting, foraging, and immature development site. We used both control region of mitochondrial DNA and 6 microsatellite loci to better infer maternal and paternal lineages. We identified 29 haplotypes in the South-Western Indian Ocean. They are distributed in 3 independent and highly divergent clades, including one composed with haplotypes from Atlantic Ocean. For 7 of these haplotypes, it was the first time they were detected in the study zone. Fifteen haplotypes were previously undescribed, distributed in all the 3 clades. These new haplotypes seem to be specific to the South-Western Indian Ocean, which is then an original zone. Besides, we found a high allelic richness. These results show the South-western Indian Ocean is rich and very diversified. This region plays an important role in the global diversity of the species.

The South-Western Indian Ocean is one of the two contact zones presently known between the two metapopulations of green turtles (Atlantic-Mediterranean and Indo-Pacific). This contact induces a genetic cline based on CM8 (Atlantic) and C3 (Indo-Pacific) haplotype frequencies. Analysis of the microsatellite differentiation between individuals provides evidence of genetic exchanges between the two metapopulations in the region. The South-Western Indian Ocean participates to green turtle global genetic mixing.

Studying the influence of several intrinsic and extrinsic factors on population structuring provides useful information for management plan elaboration. We found no significant difference between genetic structures of foraging females and males, contrary to immature turtles which seem to be organised in 'regional pools'. This organisation could be due to both immature natal homing and influence of oceanic currents. High mitochondrial differentiation of nesting females and low global microsatellite differentiation of our samples indicate male-mediated gene flow among populations of the study zone. The genetic composition of a sampling site presents no significant variation along the year. Nevertheless, it can be significantly different from a year to another one. This may result from alternation of distinct populations on the same site. We noticed different evolution in 10 or 20 years of the genetic composition depending on the sampling site. Geographic distance seems not to have significant influence on population structuring concerning microsatellite markers. Nesting females of Saziley Beach (Mayotte Island, Comoros Archipelago) present genetic divergence from females nesting in the two other sampled beaches of this island. The observed population structure shows no contradiction with the organisation of oceanic currents in the South-Western Indian Ocean.

Comparing the results from the two genetic markers used, we identified 8 genetic differentiated clusters of turtles in the study zone and at least 6 distinct populations. These clusters constitute 8 potential management units (MUs) which could serve as basis in the elaboration of conservation and management plans.

**Key words:** green turtle, *Chelonia mydas*, population genetics, South-Western Indian Ocean, nesting sites, foraging sites, mitochondrial DNA, microsatellites, management units.



## Résumé

La tortue verte (*Chelonia mydas*) constitue l'un des espèces emblématiques de la vie marine, pourtant de nombreuses menaces pèsent de nos jours encore sur sa survie (braconnage, captures accidentelles). Ainsi, malgré l'essor de mesures de protection menées à travers pour sa sauvegarde, la tortue verte constitue une espèce 'en danger d'extinction' et figure dans l'Annexe I de la Convention de Washington (CITES). Afin d'élaborer des plans de gestion et de conservation qui soient efficaces, il est important d'avoir une parfaite connaissance de la biologie de la tortue verte, mais aussi de la structure de ses populations et de leurs caractéristiques. C'est dans ce cadre que s'inscrit la présente étude.

L'objectif de cette étude était d'acquérir des connaissances sur la structure des populations de tortues vertes dans le sud-ouest de l'océan Indien grâce à l'utilisation de l'outil génétique. Au total, 1551 échantillons de tissu ont été collectés dans la zone d'étude et dans notre site témoin la Polynésie française (37 échantillons). Toutes les catégories d'individus ont été échantillonnées (excepté les mâles en phase de reproduction) et les 15 sites d'échantillonnage comprennent à la fois des sites de ponte, d'alimentation et de développement pour les immatures. Deux types de marqueurs ont été utilisés : la région contrôle de l'ADN mitochondrial et 6 loci microsatellites, afin d'appréhender au mieux l'apport des lignées maternelles et paternelles.

Nous avons pu mettre en évidence la présence dans le sud-ouest de l'océan Indien de 29 haplotypes distincts, appartenant à trois clades fortement divergents dont l'un constitué d'haplotypes originaires de l'océan Atlantique. Parmi ces haplotypes, 7 ont été détectés pour la première fois dans la zone d'étude, et 15 autres n'ont jamais été précédemment décrits chez cette espèce. Ils sont présents dans chacun des 3 clades d'haplotypes. Ces nouveaux haplotypes semblent spécifiques à la région, et en font une zone originale. On observe par ailleurs une grande richesse allélique dans les effectifs analysés. Ces résultats montrent que le sud-ouest de l'océan Indien est une zone riche et très diversifiée. Cette région joue un rôle important dans la diversité génétique globale de l'espèce.

Le sud-ouest de l'océan Indien constitue l'une des deux seules zones connues à l'heure actuelle de contact entre les deux métapopulations de tortues vertes (Atlantique-Méditerranée et Indo-Pacifique). Ce contact a entraîné la formation d'un cline génétique portant principalement sur les fréquences relatives des haplotypes CM8 (Atlantique) et C3 (Indo-Pacifique). Les résultats obtenus lors de l'analyse microsatellite de la différenciation entre les individus originaires des deux métapopulations montrent que le sud-ouest de l'océan Indien constitue une zone d'échanges génétiques entre les deux métapopulations, participant au brassage génétique de l'espèce.

L'étude de facteurs, intrinsèques et extrinsèques, pouvant influencer la structuration des populations apportent de nombreuses informations qui pourraient s'avérer utiles lors de l'élaboration de plans de gestion. La structure des femelles et des mâles en alimentation ne diffère pas, contrairement à celle des immatures qui semble s'organiser en 'pools régionaux' qui seraient le fruit de l'interaction d'un comportement de philopatrie et d'une influence des courants océaniques. La forte différenciation mitochondriale des femelles en ponte et la très faible différenciation microsatellite observée à l'échelle de la région, indiquent l'existence de flux de gènes via les mâles. La composition génétique d'un site ne varie pas de manière significative au cours de l'année. Par contre, elle peut varier d'une année à l'autre, signifiant l'alternance dans certains sites de ponte de plusieurs populations distinctes. L'évolution de la composition génétique d'un groupe, au cours de 10 ou 20 ans, diffère selon le site considéré. La distance ne semble pas influencer de manière significative la structuration des populations au niveau microsatellite. Les femelles en ponte sur la plage de Saziley (Mayotte) diffèrent génétiquement de celles pondant sur les deux autres plages de l'île. La structure observée des populations est en accord avec l'organisation des courants océanique dans la région.

La confrontation des résultats obtenus à partir des deux marqueurs génétiques utilisés, permet la détermination de 8 ensembles génétiquement différenciés dans la zone d'étude et l'identification d'au moins 6 populations distinctes. Ces ensembles constituent autant d'unités de gestion (MUs) potentielles qui pourront servir de base à l'élaboration de plans de gestion et de conservation.

**Mots clés :** tortue verte, *Chelonia mydas*, génétique des populations, sud-ouest de l'océan Indien, sites de ponte, sites d'alimentation, ADN mitochondrial, microsatellites, unités de gestion (MUs).