CARACTERISATION DE LA CONNECTIVITE DES POPULATIONS DE POISSONS SUR DIFFERENTS COURS D'EAU DU GRAND SUD : LE CAS DE 3 ESPECES RARES ET ENDEMIQUES DU SUD CALEDONIEN

Protogobius attiti, Sicyopterus sarasini et Schismatogobius fuligimentus

-Phase 2- Résultats préliminaires -Analyse des otolithes

Auteurs : M. Mennesson, C. Lord, P. Keith

Avril 2017

Observatoire de l'environnement
en Nouvelle-Calédonie

11 rue Guynemer
98800 Nouméa
Tel.: (+ 687) 23 69 69
www.oeil.nc

Contenu

I. Rappel : contexte et enjeux 3
II. Objectifs 3
III. Analyses sur les otolithes 4
III.1. l'otolithe, la boîte noire de Téléostéens 4
III.1.1. Position anatomique des otolithes 4
III.1.2. Formation et composition 8
III.1.3. Pourquoi utiliser les otolithes ? 8
III.1.4. Analyses macro- et microstructurales 9
III.1.5. Analyse microchimique 10
III.2. Matériel et méthodes 11
III.2.1. Echantillonnage 11
III.2.2. Extraction des otolithes 11
III.2.3. Inclusion et ponçage des otolithes 12
III.2.4. Lecture des otolithes : estimation de la durée de la phase larvaire 12
III.3. Résultats 16
III.4. Discussion & perspectives 17
IV. Conclusion 27
V. Bibliographie 29

Résumé exécutif

Titre de l'étude	**CARACTERISATION DE LA CONNECTIVITE DES POPULATIONS DE POISSONS SUR DIFFERENTS COURS D'EAU DU GRAND SUD : LE CAS DE 3 ESPECES RARES ET ENDEMIQUES DU SUD CALEDONIEN (PHASE 2- RESULTATS PRELIMINAIRES – ANALYSE DES OTOLITHES)**		
Auteurs	*M. MENNESSON, C. LORD, P. KEITH*		
Collaborateurs			
Editeurs	OEIL		
Année d'édition du rapport	2017	**Année des données**	2006-2016

Objectif	Cette étude vise à obtenir des données de biologie et d'écologie sur 3 espèces de poissons d'eau douce de Nouvelle-Calédonie (*P. attiti, S. sarasini et S. fuligimentus*) afin de : - Caractériser la connectivité entre les populations de ces poissons sur plusieurs cours d'eau incluant le creek de la baie Nord, la rivière Kwé et des cours d'eau voisins sur substrat ultramafique ; - Caractériser la durée de phase larvaire marine (DPL) de ces espèces ; la DPL interagit avec le recrutement, la connectivité et la dispersion. - Identifier les principaux bassins versants pouvant jouer le rôle de « réservoirs » pour ces espèces ; - Définir les mesures de gestion adaptées à la conservation de ces espèces. L'étude est divisée en 2 phases principales : La phase 1 consistait (1) à compléter l'échantillonnage, pour l'étude de la connectivité des populations, par une mission de terrain, et (2) à commencer à étudier les otolithes des 3 espèces sélectionnées. La phase deux consiste à l'analyse du matériel biologique collecté (otolithes et ADN) et la production des résultats finaux de l'étude.
Contexte	Les cours d'eau dans le périmètre d'influence de l'exploitation minière et industrielle de Vale Nouvelle-Calédonie sont soumis à des pressions chroniques (rejets industriels, décapages miniers, mise en place d'obstacles à la circulation des poissons …). En plus de ces pressions, le creek de la baie Nord, situé en aval du bassin versant abritant le complexe industriel de l'exploitant, a subi deux épisodes aigus de pollution par déversement d'effluents acides en avril 2009 puis en mai 2014. Associées à ces accidents, de fortes mortalités d'organismes vivants ont été observées. Parmi les espèces impactées par ces pollutions répétées, 3 espèces de poissons endémiques et rares, dont deux classés "EN" sur la liste rouge de l'UICN (*Protogobius attiti*, *Sicyopterus sarasini* et *Schismatogobius fuligimentus*) doivent faire l'objet d'un suivi.

	Les commanditaires, maîtres d'ouvrage de cette étude, sont la province Sud et l'OEIL, Observatoire de l'environnement en Nouvelle-Calédonie. La maîtrise d'œuvre est assurée par des chercheurs du Muséum national d'Histoire naturelle (MNHN) et l'association AIMARA.
Méthodologie	Etude des otolithes (sclérochronologie) des 3 espèces afin de déterminer leur durée de phase larvaire marine.
Résultats et conclusions	Les résultats obtenus sur *P. attiti* et *S. fuligimentus* sont surprenants. En effet, bien que ces deux espèces sont considérées depuis toujours comme étant amphidromes, nous n'observons, dans certains cas, aucune marque de recrutement « classique » sur l'otolithe correspondant à l'arrivée des post-larves de la mer vers l'eau douce. Chez *P. attiti,* de nombreuses marques sont observées et leur signification reste inconnue. Il ne semble donc pas certain que tous les individus de ces espèces, voire les espèces, soient finalement migrateurs/migratrices. Ce résultat appelle à repenser les mesures de gestion pour les adapter à leur biologie . Pour *P. attiti,* une durée de la phase larvaire (DPL) moyenne de 44,2 ± 10,8 jours a été estimée ; cependant, l'absence de marque de recrutement sur certains otolithes laisse à penser que certains spécimens n'effectueraient pas de migration en mer. Ils resteraient dans la partie basse de la rivière proche de l'estuaire. Dans le cas de *S. fuligimentus*, nous avons pu constater qu'aucune marque de recrutement « classique » n'était visible sur les otolithes. Seule une zone plus foncée est notée autour du nucléus. En prenant comme hypothèse que cette dernière puisse correspondre à la phase larvaire marine, nous avons estimé une DPL moyenne de 24,8 ± 3,4 jours. Pour ces deux espèces, il sera important d'effectuer des analyses microchimiques sur l'ensemble des otolithes dont nous disposons afin de statuer sur la réalité du cycle de vie de ces deux espèces endémiques et emblématiques de la Nouvelle-Calédonie. L'analyse génétique devrait apporter des éléments supplémentaires dans la compréhension de la structuration des populations de ces dernières au sein des cours d'eau du Sud de la Nouvelle-Calédonie. Concernant *S. sarasini* aucun doute ne peut être émis quant à la confirmation de son cycle amphidrome. L'espèce disperse donc à travers le milieu marin puis peut recoloniser les divers cours d'eau calédoniens. La DPL moyenne de cette espèce est de 78,7 ± 14,8 jours. En 2012, Lord *et al.* ont réalisé une étude phylogéographique afin d'observer la connectivité des populations de *S. sarasini* dans les rivières de Nouvelle-Calédonie. Cette étude a été réalisée sur des données collectées entre 2006 et 2007 et est donc antérieure au déversement de produits acides. Une nouvelle analyse génétique des populations réalisée avec l'association du jeu de données de Lord *et al.* (2012) et celui dont nous disposons maintenant, devrait permettre d'obtenir des informations sur l'évolution de l'état des populations de *S. sarasini* et leur connectivité au sein des rivières. L'étape suivante de notre collaboration avec l'OEIL concerne l'étude de la connectivité des populations pour les 3 espèces. Les spécimens récoltés suite à l'épisode de pollution ont été complétés par de nouvelles collectes de tissus faites en septembre 2016, ainsi que par des spécimens du MNHN. Ils nous donnent ainsi un échantillonnage plus large : 123 spécimens de *P. attiti*, 109 spécimens de *S. sarasini* et 68 spécimens de *S. fuligimentus*. Dans un premier temps, l'ADN sera extrait des spécimens et sécurisé au

	MNHN.			
Limites de l'étude	Il sera important de compléter ces analyses d'otolithes par des analyses microchimiques afin de vérifier le caractère migrateur ou non de *P. attiti* et de *S. fuligimentus.* Cette étude sera essentielle pour connaître le cycle de vie de ces espèces patrimoniales de Nouvelle-Calédonie et mettre en place des mesures de gestion-conservation adaptées.			
Evolutions	Version	finale	Date de la version	Avril 2017

I. Rappel : contexte et enjeux

Les cours d'eau dans le périmètre d'influence de l'exploitation minière et industrielle de Vale Nouvelle-Calédonie sont soumis à des pressions chroniques (rejets industriels, décapages miniers, mise en place d'obstacles à la circulation des poissons …). Le creek de la baie Nord, situé en aval du bassin versant abritant le complexe industriel de l'exploitant, a, quant à lui, subi deux épisodes aigus de pollution par déversement d'effluents acides en avril 2009 puis en mai 2014. Associées à ces accidents, de fortes mortalités d'organismes vivants ont été observées.

En Juillet 2012, près de 3 années après la pollution de 2009, les communautés de poissons du creek semblaient quasiment revenues à leur état pré-accident sans que l'on sache quel processus avait permis la recolonisation : Recolonisation à partir des effectifs ayant survécu au sein du cours d'eau ? et/ou depuis des affluents non impactés du cours d'eau ? ou encore depuis la mer par des post-larves qui étaient en mer lors du passage de l'effluent acide (hypothèse associée à l'amphidromie). Dans ce cas, les poissons venus depuis la mer pourraient être originaires du même cours d'eau ou de cours d'eau voisins.

Parmi les espèces impactées par ces pollutions répétées, 3 espèces de poissons endémiques et rares dont deux classés "EN" sur la liste rouge de l'UICN (*Protogobius attiti*, *Sicyopterus sarasini* et *Schismatogobius fuligimentus*) doivent faire l'objet d'un suivi.

Les commanditaires, maîtres d'ouvrage de cette étude, sont la province Sud et l'OEIL, Observatoire de l'environnement en Nouvelle-Calédonie. La maîtrise d'œuvre est assurée par le l'UMR BOREA (Muséum national d'Histoire naturelle -MNHN) et l'association AIMARA.

II. Objectifs

L'étude a été divisée en 2 phases principales permettant d'obtenir des données de biologie et d'écologie sur ces 3 espèces, en vue de :

- Caractériser la connectivité entre les populations de ces poissons sur plusieurs cours d'eau incluant le creek de la baie Nord, la rivière Kwé et des cours d'eau voisins sur substrat ultramafique
- Caractériser la durée de phase larvaire marine (DPL) de ces espèces ; la DPL interagit avec le recrutement, la connectivité et la dispersion.
- Identifier les principaux bassins versants pouvant jouer le rôle de « réservoirs » pour ces espèces ;
- Définir les mesures de gestion adaptées à la conservation de ces espèces.

La phase 1 consistait (1) à compléter l'échantillonnage, pour l'étude de la connectivité des populations, par une mission de terrain (voir rapport précédent), et (2) à étudier les otolithes des 3 espèces sélectionnées (partie III ci-après) afin de caractériser la phase de dispersion larvaire en mer pour ces espèces supposées diadromes. La phase 2 étudiera la connectivité entre les populations.

III. Analyses sur les otolithes

III.1. l'otolithe, la boîte noire de Téléostéens

La sclérochronologie est un mot dérivé des racines grecques *sklêros* « dur », *chronos* « temps » et *logos* « étude ». Cette science vise ainsi à reconstruire, par l'étude de leurs pièces calcifiées, l'histoire vécue par des organismes vivants. Elle permet non seulement l'estimation d'âge mais aussi l'estimation de périodes et de la durée d'événements marquants de l'histoire individuelle des poissons.

Chez les Téléostéens, les pièces calcifiées montrent des patrons de structures liés aux variations du taux de croissance induites par des facteurs environnementaux (biotiques ou abiotiques) et des facteurs endogènes (événements ontogéniques) (de Pontual *et al.,* 2002).

Trois types principaux de structures ont classiquement été utilisés en sclérochronologie : les écailles (scalimétrie), les os (squelettochronologie) et enfin les otolithes (otolithométrie). Les travaux sur les otolithes incluent notamment les analyses microstructurales (détermination de l'âge en jours), d'écologie des larves de poisson, de dynamique des populations, d'identification d'espèces, de microanalyses chimiques (étude d'éléments traces) ou encore de reconstructions environnementales (Campana, 2005).

III.1.1. Position anatomique des otolithes

L'oreille interne existe chez tous les vertébrés. Chez les poissons, il s'agit d'une structure paire noyée dans le crâne de chaque côté de la tête, près de l'encéphale moyen (Fig. 1a). Chaque oreille est constituée d'un système complexe de canaux semi-circulaires, orthogonaux les uns par rapport aux autres. Chez les vertébrés non-mammaliens, ces canaux sont terminés par un organe otolithique : le *saccule*, l'*utricule* et la *lagena* (Fig. 1b). Chacun de ces sacs otiques contient des cristaux de carbonate de calcium, qui se sont solidifiés en une masse unique chez les Téléostéens Ostéichtyens : c'est l'otolithe. Ces sacs otiques contiennent respectivement la *sagitta*, le *lapillus* et l'*asteriscus*. Les otolithes des trois paires de sacs otiques diffèrent en taille et en forme (Fig. 2).

Chez la plupart des espèces, la *sagitta* est le plus grand des otolithes et est le plus souvent utilisée pour déterminer l'âge du poisson. Les otolithes sont généralement comprimés latéralement. Ils possèdent trois plans d'orientation (sagittal, frontal et proximal). Chaque *sagitta* présente deux faces : une proximale interne et une distale externe. La face externe est convexe alors que la face interne est creusée par le *sulcus acusticus*, une gouttière qui peut être de forme et de longueur variables selon les espèces (Lecomte-Finiger, 1999) (Fig. 3 ; Fig. 4).

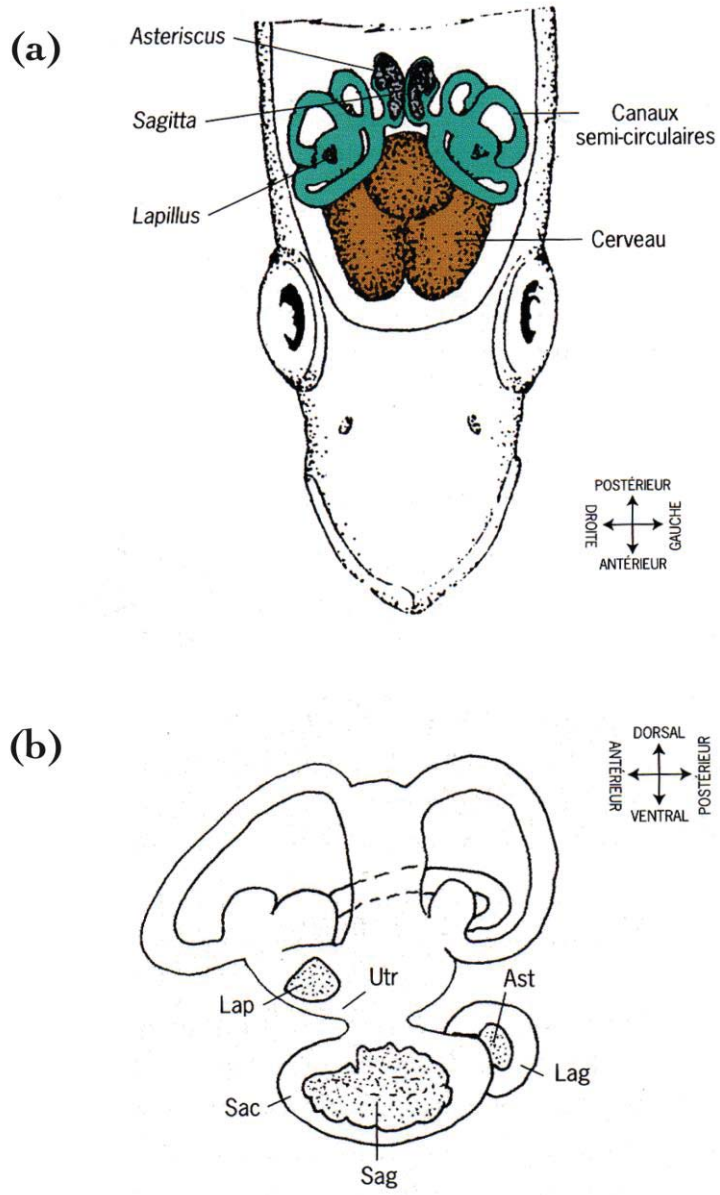
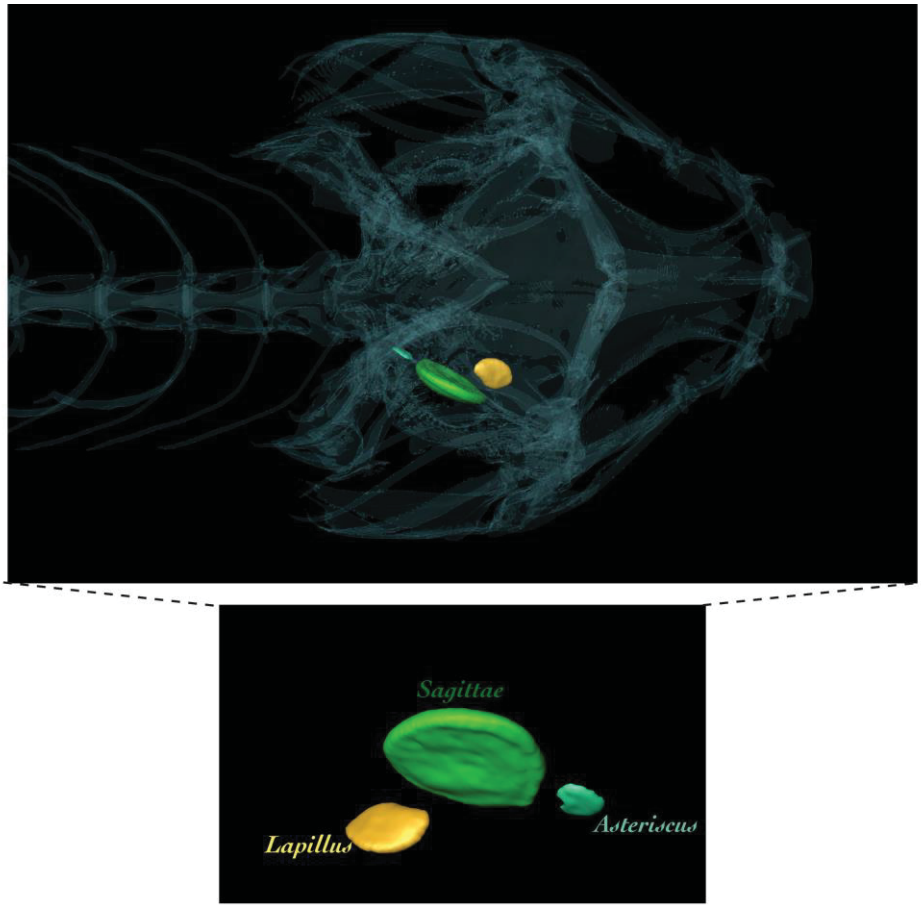
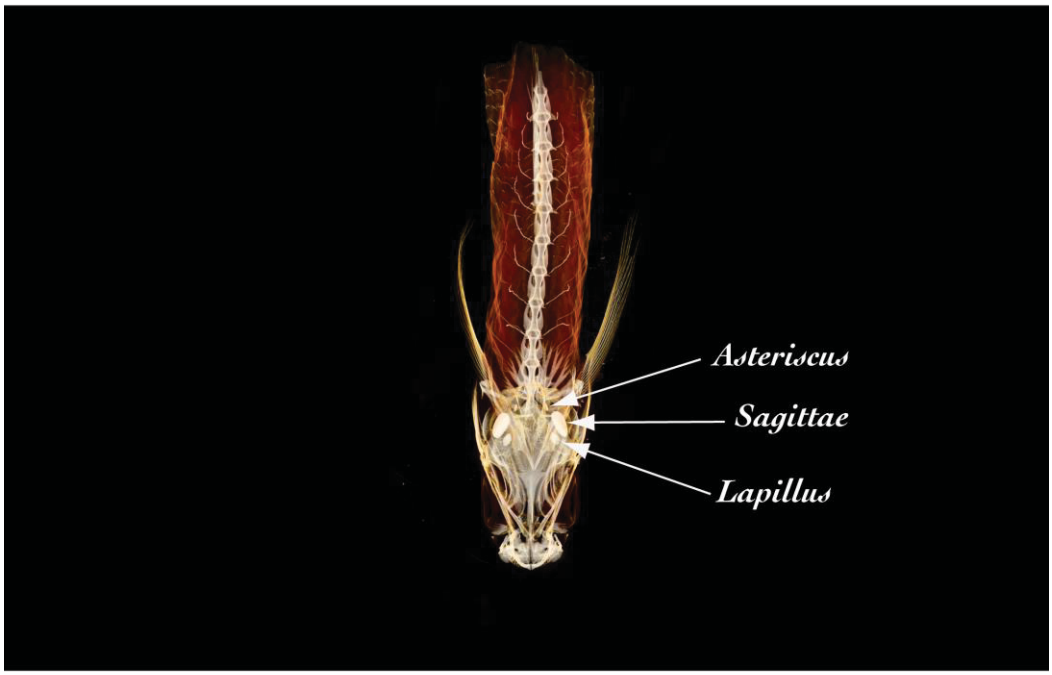


Figure 1 : Position anatomique de l'oreille interne chez le Téléostéen (a) ; structure de l'oreille interne et position des otolithes au sein des sacs otiques (b). Lap : lapillus ; Utr : utricle ; Ast : *asteriscus* ; Lag : *lagena* ; Sac : *saccule* ; Sag : *sagitta*. (modifié d'après Secor *et al.,* 1992)



(a)



(b)

Figure 2 : Position anatomique en vue dorsale des otolithes chez un adulte (a) et chez une post-larve (b) de *Sicyopterus*. Images prises au synchrotron. ©Lord-Daunay.

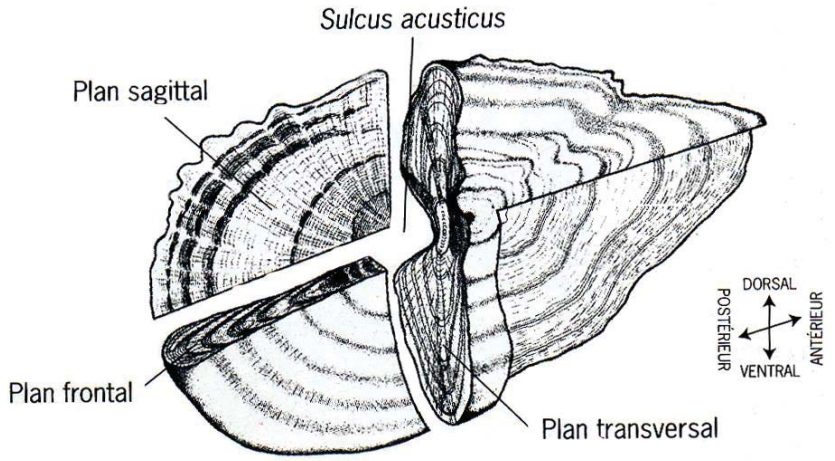


Figure 3 : Différents plans de coupe d'une *sagitta* (d'après Pannella, 1980).

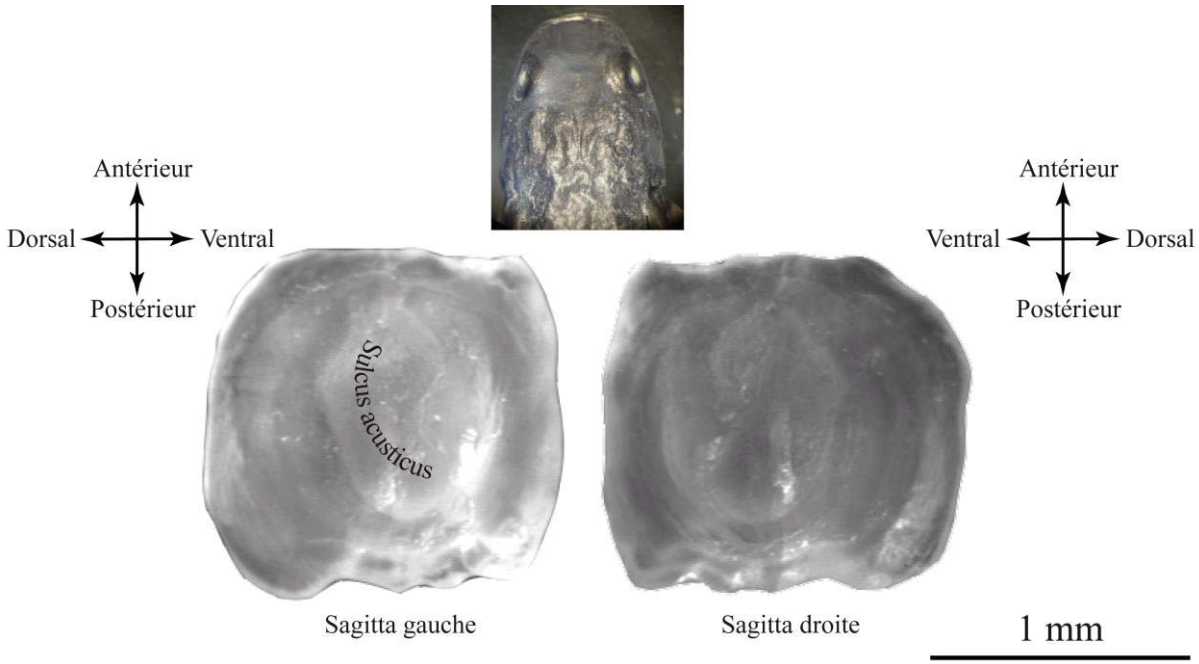


Figure 4 : Orientation des otolithes sagittaux chez *Sicyopterus lagocephalus*, le *sulcus acusticus* dirigé vers l'observateur. ©Lord-Daunay.

III.1.2. Formation et composition

Les otolithes se développent à partir d'un primordium. Il s'agit d'un ou de plusieurs élément(s) granulaire(s) partiellement calcifié(s), expulsé(s) par exocytose par l'oreille interne (Campana & Neilson, 1985). Les otolithes sont ainsi présents dès l'éclosion des larves, puisque le primordium apparaît pendant les premières phases de l'ontogenèse. L'otolithe croît à partir de ce centre et cette croissance s'opère par accumulations successives de couches concentriques d'épaisseur variable.

Les otolithes sont des structures minéralisées acellulaires formées par des dépôts de couches calciques et protéiques. Ils contiennent essentiellement du carbonate de calcium ($CaCO_3$). Le carbonate de calcium peut cristalliser sous trois formes : aragonite, calcite ou vatérite. Malgré le fait que la calcite soit la forme la plus stable, la grande majorité des otolithes sagittaux sont sous forme d'aragonite (Lecomte-Finiger, 1992). La formation de l'otolithe est unique en terme de structure biominéralisée ; en effet, cette calcification se fait sans contact épithélial, seulement au contact de l'endolymphe dans laquelle baigne l'otolithe (Campana & Thorrold, 2001).

Le taux de croissance de l'otolithe est sous le contrôle du métabolisme individuel et donc indirectement influencé par tout ce qui peut modifier le métabolisme (température, reproduction, carence nutritive …) (Wright, 1991).

Si l'otolithe est majoritairement composé de $CaCO_3$, 31 autres éléments ont été répertoriés dans sa composition, bien que présents en quantités mineures (>100 ppm pour Na, Sr, K, S, N, Cl et P) ou à l'état de traces (<100 ppm pour Mg, Zn, Mn, Ba, Ni …). La plupart des éléments inorganiques présents dans les otolithes proviendraient de l'eau. Ces éléments chimiques franchissent un certain nombre de « barrières » avant de pouvoir s'incorporer à l'otolithe. Ils intègrent d'abord le plasma sanguin du poisson en passant par les branchies ou par les intestins, à travers des mécanismes d'osmorégulation (Campana, 1999) (première barrière), puis transitent du sang à l'endolymphe (seconde barrière) et, enfin, de l'endolymphe au cristal de l'otolithe (troisième barrière) (Fig. 5). Ils se retrouvent piégés dans l'otolithe par co-précipitation avec les molécules structurales de l'otolithe en formation ou par substitution du calcium. Leur concentration dans l'otolithe reflète donc leur concentration dans l'endolymphe.

III.1.3. Pourquoi utiliser les otolithes ?

Les otolithes offrent un avantage par rapport aux autres pièces calcifiées couramment utilisées en sclérochronologie ; ce sont, en effet, des structures qui sont métaboliquement inertes, c'est-à-dire qui ne semblent pas sujettes à des résorptions minérales ou à des remaniements (Campana & Thorrold, 2001). Cette propriété autorise les otolithes à constituer un outil regroupant de

nombreuses informations sur le passé environnemental et physiologique du poisson ; c'est une véritable boite noire. L'otolithe ouvre ainsi de nombreux champs d'investigation, apportant des informations tant à l'échelle globale de l'otolithe qu'au niveau microstructural.

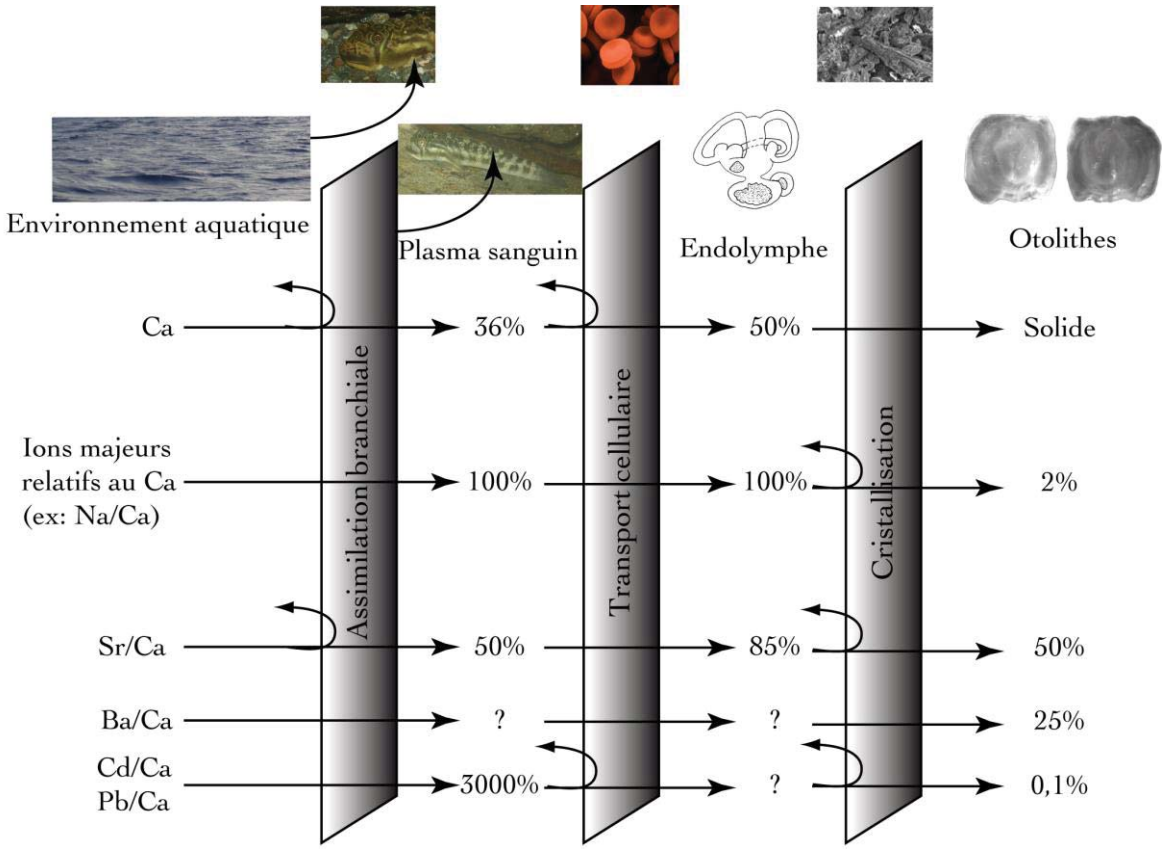


Figure 5 : Schéma des différentes voies et barrières depuis l'environnement aquatique, avec une estimation du taux de transfert pour certains éléments à chaque barrière physiologique (d'après Campana, 1999).

III.1.4. Analyses macro- et microstructurales

Les otolithes révèlent une série de structures d'accroissements qui se forment régulièrement sur une échelle de temps s'étalant d'un rythme journalier à un rythme annuel. La croissance de l'otolithe est continue, même lors de périodes d'absence de croissance somatique ; celle-ci ralentit lors de périodes de stress (carence alimentaire, reproduction …), laissant sur l'otolithe des marques spécifiques correspondant à un resserrement des dépôts journaliers (appelés ici, stries journalières). Par conséquent, l'**analyse macrostructurale** des otolithes permet, dans certains cas, d'estimer l'âge des individus et d'analyser des événements précis de la vie du poisson. **L'analyse microstructurale,** quant à elle, permet d'estimer de façon précise la durée de ces événements. Grâce à cette dernière,

la **durée de la phase larvaire** (**DPL**) de nombreuses espèces peut être estimée. La durée de vie larvaire peut, dans de nombreux cas, refléter la durée de la phase de dispersion. Connaître la durée de la phase larvaire marine est d'une importance capitale chez certaines espèces. Cela apportera des éléments de compréhension sur la phase de dispersion, phase qui régit leur distribution.

III.1.5. Analyse microchimique

Étant donné que les otolithes ne sont pas sujets à résorption minérale, l'étude de leur microchimie permet de reconstruire l'histoire migratoire et environnementale des poissons (Daverat *et al.,* 2005 ; Shiao *et al.,* 2006 & 2015 ; Arai *et al.,* 2007 ; Lord *et al.,* 2011). C'est le rapport strontium sur calcium (Sr:Ca) qui est le plus couramment utilisé pour reconstruire les comportements migratoires des espèces diadromes entre les eaux salées des océans/mers et les eaux douces des fleuves/rivières (Milton *et al.,* 2008 ; Tabouret *et al.,* 2010 ; Feutry *et al.,* 2011, 2012). En effet, les concentrations en Sr sont stables et beaucoup plus élevées en milieu marin (Sr = 8000 $\mu g.l^{-1}$) qu'en milieu dulçaquicole (Sr = 60 $\mu g.l^{-1}$) (De Pontual & Geffen 2002). Pour les espèces amphidromes, un rapport élevé de Sr:Ca dans les otolithes est largement accepté comme une preuve d'occupation d'un habitat marin (Howland *et al.,* 2001 ; Crook *et al.,* 2006) ou d'une phase larvaire marine (Closs *et al.,* 2003) alors qu'un rapport faible reflète l'occupation d'un habitat d'eau douce. De nombreuses études ont été menées pour observer les comportements migratoires des poissons, qu'ils soient anadromes (ex : *Alosa spp.* [Limburg *et al.,* 2003]), catadromes (ex : Kuhliidae [Feutry *et al.,* 2011], Anguillidae [Tabouret *et al.,* 2010]) ou amphidromes (Sicydiinae [Tabouret *et al.,* 2011, Lord *et al.,* 2011, Taillebois *et al.,* 2015]). De plus, chaque rivière possède ses propres rapports d'éléments et bien entendu, ils évoluent en fonction de l'amont et de l'aval mais aussi de l'environnement et des crues. Ainsi, des spécimens capturés en aval des cours d'eau ne présenteront pas le même rapport de Sr:Ca que ceux situés en amont. Cependant, un schéma est retrouvé chez toutes les espèces amphidromes : du nucléus à la marque de recrutement (*i.e.,* zone de l'otolithe correspondant à la vie larvaire en mer), le rapport Sr:Ca est très élevé, une fois passé au niveau de la marque de recrutement (*i.e.,* arrivée de la post-larve dans l'estuaire), le rapport chute et va ensuite diminuer jusqu'à atteindre un plateau lorsque l'adulte sera installé dans la rivière.

III.2. Matériel et méthodes

III.2.1. Echantillonnage

Suite à l'accident de pollution de 2014, c'est finalement 28 spécimens de *Protogobius attiti*, 19 de *Sicyopterus sarasini* et 15 de *Schismatogobius fuligimentus* qui ont pu être exploités.

Les poissons destinés aux analyses sclérochronologiques sont conservés entiers dans de l'alcool pur à 95 %.

III.2.2. Extraction des otolithes

Les otolithes sont ensuite extraits. Les paires de *sagitta* sont récupérées de la tête du poisson sous loupe binoculaire. Pour ce faire, la peau est ôtée du sommet du crâne (Fig. 6a) et la boîte crânienne est scalpée (Fig. 6b). Une fois l'intérieur du crâne mis à nu, l'accès à l'oreille interne est aisé et les otolithes faciles à localiser (Fig. 6c). Les otolithes droit et gauche sont extraits à l'aide de pinces fines (Fig. 6d) puis nettoyés à l'eau distillée pour éliminer le reste de tissus de la *macula*. Ils sont ensuite conservés à sec. Un seul des 2 otolithes extraits par spécimen sera inclus en résine (voir paragraphe suivant) ; le second sera conservé pour d'autres analyses, par exemple la microchimie.

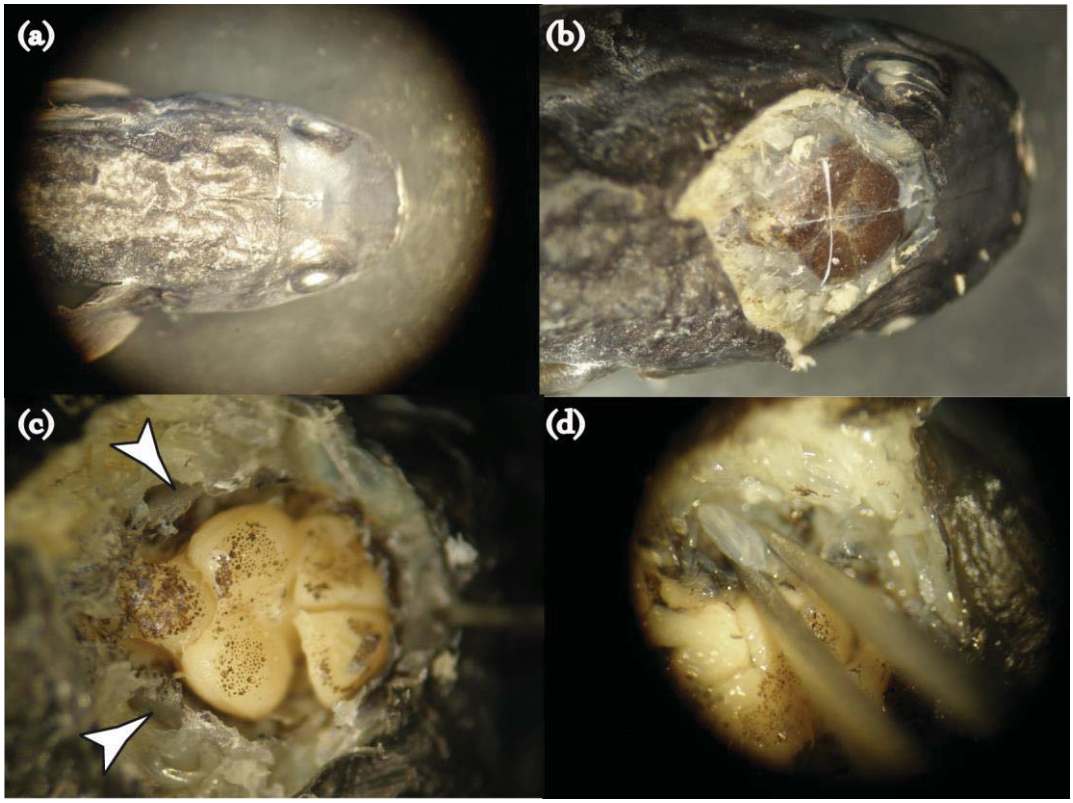


Figure 6 : Extraction des *sagitta* chez *Sicyopterus* (les flèches blanches à l'étape (c) indiquent la position des *sagitta* dans la boîte crânienne). ©Lord-Daunay.

III.2.3. Inclusion et ponçage des otolithes

Pour mettre à jour les structures déposées depuis l'éclosion, il convient de pratiquer une coupe dans le plan transversal des otolithes (Fig. 3). Les otolithes sont alors inclus dans une résine époxy de type Araldite (Escil, France). L'inclusion est ensuite poncée pour révéler le centre de l'otolithe et les dépôts journaliers. Le ponçage a été réalisé soit à l'aide d'une polisseuse (Struers, Champigny-sur-Marne, France), soit à la main. Dans les deux cas, le ponçage se pratique sur des disques abrasifs de papier silice de grain décroissant, au fur et à mesure que le manipulateur s'approche du centre. La préparation est régulièrement observée au microscope pour vérifier l'état d'avancement du ponçage. Pour les échantillons préparés à la main, l'étape de ponçage se fait avec de la poudre d'alumine sur disque de polissage en feutre. Entre chaque étape de ponçage et de polissage, les otolithes sont rincés à l'eau MilliQ pour éviter des contaminations par des poudres de granulométrie autres. Tous les otolithes, qu'ils aient été préparés à la main ou à la polisseuse, ont permis de réaliser les analyses microstructurales.

III.2.4. Lecture des otolithes : estimation de la durée de la phase larvaire

Rappel :

Les espèces amphidromes pondent leurs œufs en rivière (Delacroix & Champeau, 1992 ; Keith *et al*., 1999 ; McDowall, 2007). Après éclosion, les larves, entraînées par le courant, ont environ 72 heures pour rejoindre la mer (Keith *et al*., 2008), où elles utiliseront leurs réserves vitellines jusqu'à l'ouverture de la bouche (Delacroix & Champeau, 1992). Elles séjournent ensuite 3 à 6 mois en mer, où elles vont grandir et passer par plusieurs stades larvaires (ouverture de la bouche, mise en place des organes internes…)(McDowall *et al*., 1994 ; Hoareau, 2005 ; Keith *et al*., 2008). Enfin, les individus reviennent en eau douce à l'état de post-larves (**phase de recrutement**), se métamorphosent (Keith *et al*., 2008) et colonisent les rivières et l'habitat adultes (Fig.7).

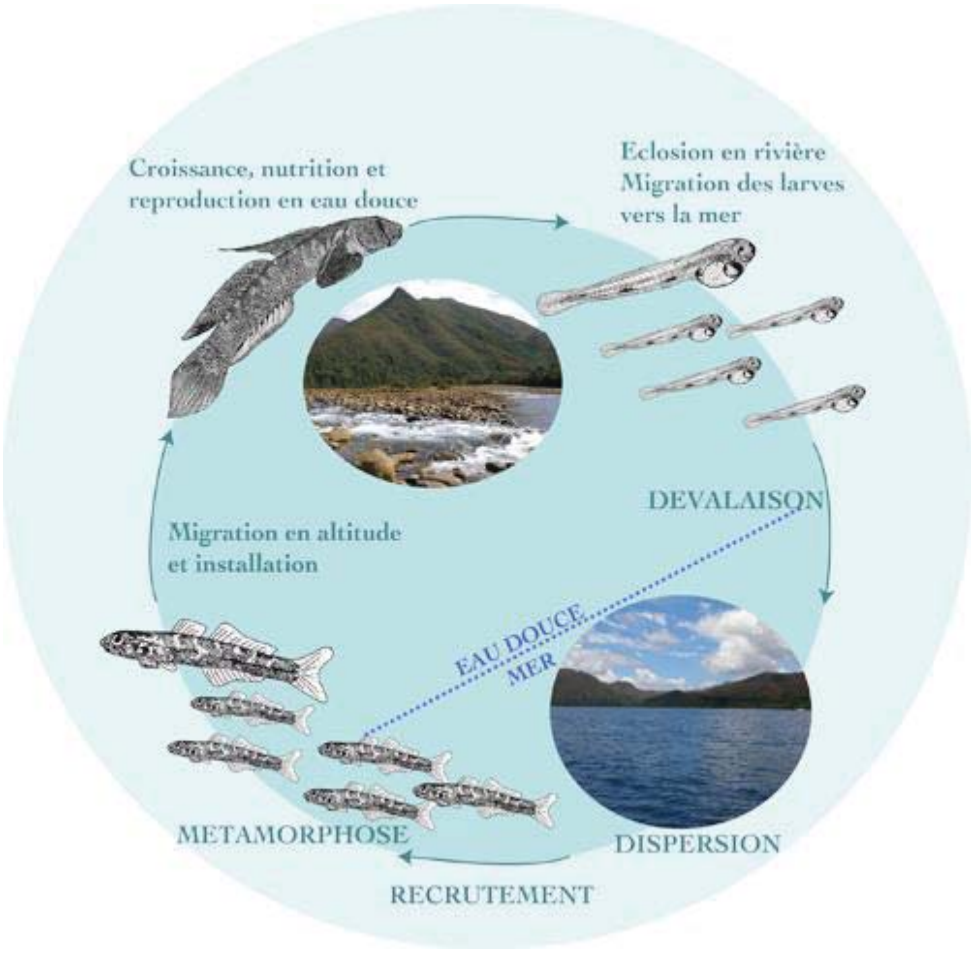


Figure 7 : Schématisation du cycle de vie amphidrome chez *S. sarasini*. ©Lord-Daunay

Une fois l'otolithe poncé, trois éléments sont observés : le nucléus (situé au centre et qui est présent dès l'éclosion des larves en eau douce), la **marque de recrutement** (qui est apposée sur l'otolithe lorsque les post-larves reviennent de la mer vers l'eau douce pour les espèces amphidromes), et les stries journalières se trouvant de part et d'autre de cette dernière (Fig. 8).

Pour l'ensemble des 3 espèces étudiées, chaque strie (ou dépôt) est supposée être réalisée à l'échelle journalière (1 strie = 1 jour) comme cela a été démontré chez d'autres gobies amphidromes.

Le comptage du nombre de stries séparant le nucléus de la **marque de recrutement (MR)** permettra d'estimer le temps (en jours) que les larves auront passé en mer avant de coloniser une rivière *i.e.,* d'estimer la durée de la **phase larvaire marine (DPL)** pour les espèces migratrices.

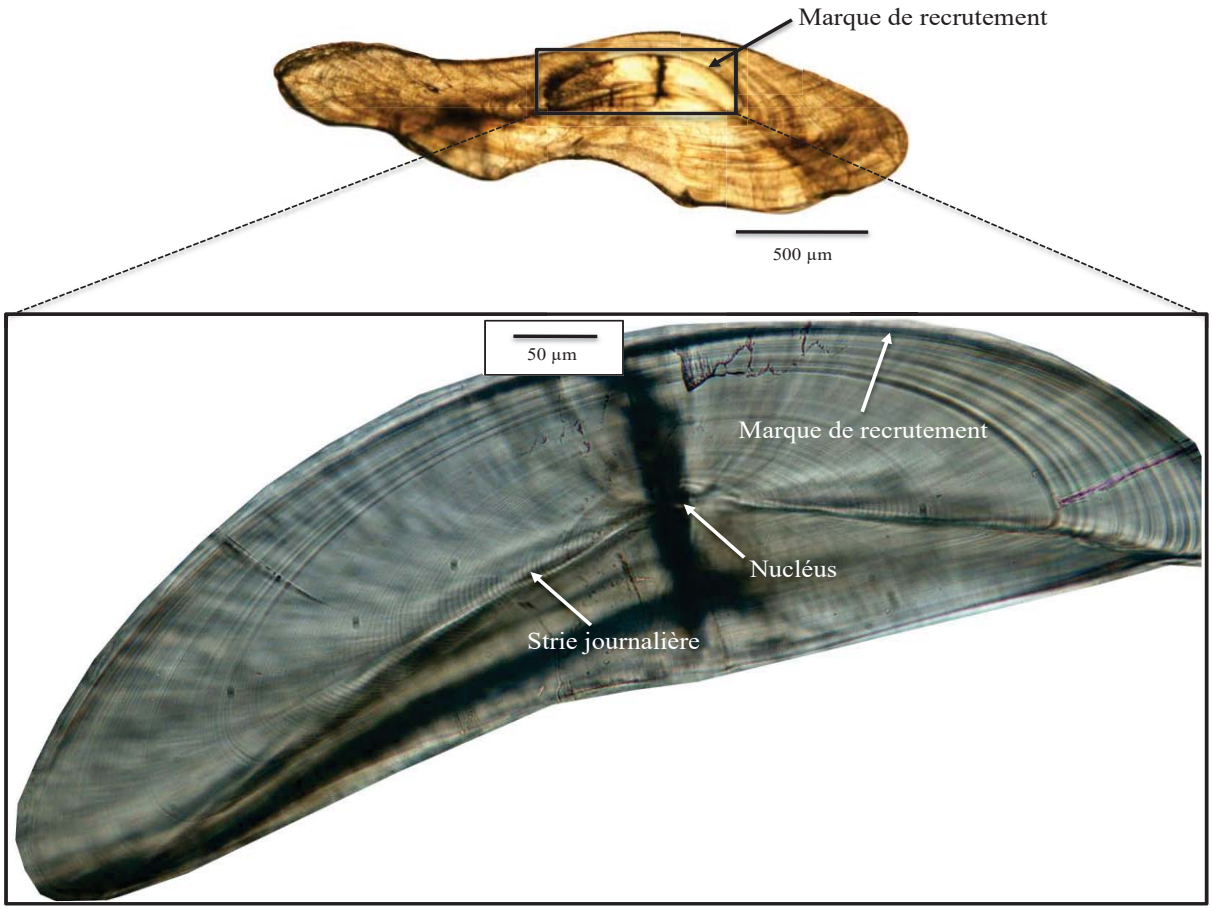


Figure 8 : Coupe transversale d'un otolithe laissant apparaître le nucléus au centre, séparé par des stries journalières de la marque de recrutement. ©Mennesson

L'observation des stries journalières est réalisée au microscope Olympus BX51 et chaque coupe d'otolithe est photographiée à l'aide de la caméra MC170HD et du logiciel *LAS* de chez Leica. Le logiciel *LAS* (V.4.8.0) permet de mieux visualiser la microstructure des otolithes en créant des images panoramiques (*cf.* la photo zoomée de la Fig. 8) des photos réalisées après le ponçage. Ensuite, via *Photoshop CS6* (Adobe), les stries journalières sont comptées en partant du nucléus jusqu'à la marque de recrutement ; pour ce faire, des points de couleur sont déposés sur chaque strie blanche (Fig. 9).

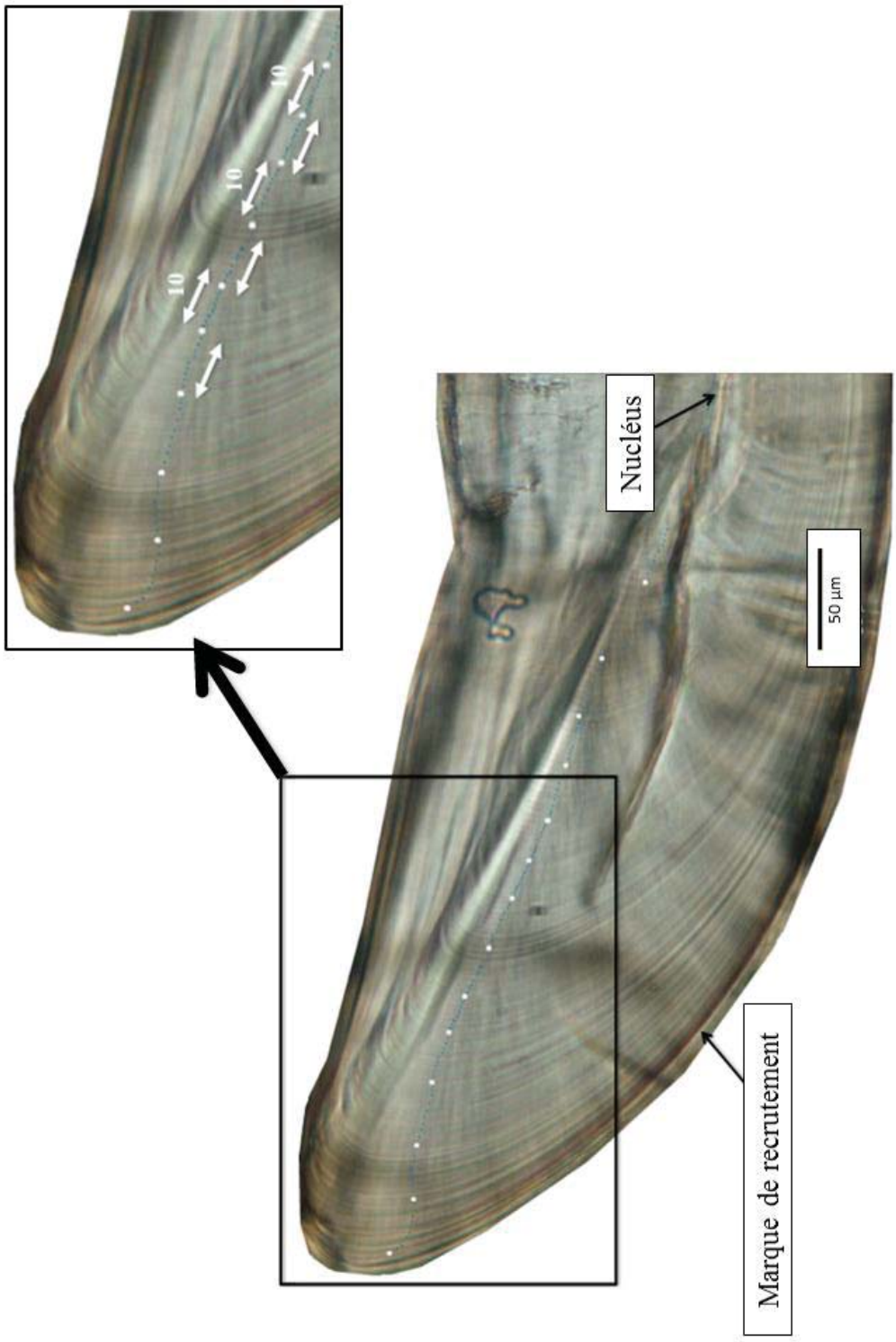


Figure 9 : Un point bleu est apposé sur chaque strie blanche et un point blanc toutes les 10 stries. ©Mennesson

III.3. Résultats

Le nombre total de spécimens mis à disposition pour l'analyse des otolithes de *Protogobius attiti* était de 28 (tous issus de l'accident de 2014) (Tableau 1) ; parmi ces derniers seuls 25 ont pu être analysés (les autres étant endommagés) ; 4 otolithes analysés par le MNHN en 2014 (Tabouret *et al.,* 2014) de quatre spécimens différents ont été ajoutés.

Au cours de cette analyse, nous avons constaté que tous les otolithes ne présentaient pas la même microstructure. En effet, aucune marque de recrutement (MR) n'a été notée pour un spécimen (n° 13584) (Fig. 12), seuls 6 spécimens en présentent une bien distincte (Fig. 11), tandis qu'un grand nombre (N=18) présentent plusieurs marques (Fig. 10).

Par conséquent, pour le spécimen sans marque, aucune estimation de la durée de la phase larvaire (DPL) n'a pu être effectuée. Concernant les spécimens présentant plusieurs marques, nous avons utilisé la 1ère marque comme correspondant potentiellement à celle de l'entrée en eau douce. Néanmoins, nous pouvons nous interroger sur ces différences de microstructures et la (ou les) raison(s) de ces multiples marques. Pour les spécimens présentant plusieurs marques, nous avons essayé de voir si elles apparaissaient de manière régulière au cours de la vie de l'individu mais aucun schéma commun n'a été observé. Il reste donc à valider que la 1ère marque correspond bien au recrutement.

Sur la totalité du jeu de données utilisable et compte tenu de ce qui précède, la DPL moyenne a été estimée à 44,2 ± 10,8 jours (sur 28 individus).

Le nombre total de spécimens mis à disposition pour l'analyse des otolithes de *Schismatogobius fuligimentus* était de 15 (Tableau 2) ; parmi ces derniers seuls 11 ont pu être analysés (les autres étant non lisibles). Aucun échantillon ne provient de l'accident de 2014, les otolithes ayant été détruits par l'acide de la pollution. Les otolithes analysés ont été récoltés au cours de notre campagne de terrain de 2016.

Lors de l'analyse aucune MR « classique » n'a été observée sur l'ensemble du jeu de données. Seule une zone plus foncée est notée autour du nucléus ; cette dernière pourrait correspondre néanmoins à la zone délimitant la phase larvaire en mer de la phase juvénile/adulte en eau douce (Fig. 13 & 14). Nous avons donc émis l'hypothèse que cette zone plus foncée, retrouvée chez 10 spécimens sur les 11, pourrait constituer la MR. Il reste néanmoins à valider que cette zone correspond bien au recrutement. Sur la totalité du jeu de données utilisable, la DPL moyenne a été estimée à 24,8 ± 3,4 jours (sur 10 individus).

Lors de l'analyse des otolithes de *Sicyopterus sarasini* une MR a été mise en évidence sur tous les spécimens. Des analyses microchimiques avaient déjà été réalisées par Lord *et al.* (2011) dans le but de confirmer l'amphidromie chez cette espèce. Il a été aussi validé que l'unique marque apposée sur l'otolithe correspond bien à ce que nous appelons la marque de recrutement (Fig. 15).

Un total de 53 otolithes a été analysé (Tableau 3) dont 19 proviennent de l'accident de 2014 et 34 des travaux précèdents menés par le MNHN. La DPL a été estimée à 78,7 ± 14,8 jours (sur 53 individus).

III.4. Discussion & perspectives

Les résultats obtenus sur *P. attiti* et *S. fuligimentus* sont surprenants. En effet, ces deux espèces sont considérées depuis toujours comme étant amphidromes, donc migratrices, alors que nous n'observons dans certains cas aucune marque de recrutement « classique » sur l'otolithe correspondant à l'arrivée des post-larves de la mer vers l'eau douce, ou chez *P. attiti* de nombreuses marques dont la signification reste inconnue. Il ne semble donc pas certain que tous les individus de ces espèces, voire les espèces, soient finalement migrateurs/migratrices. Ce qui en terme de conservation de ces espèces endémiques change tout, évidemment. Si tout ou une partie des larves émises reste dans le même bassin versant, toute action anthropique négative sur ce dernier aurait pour conséquence de supprimer définitivement, ou d'affaiblir considérablement, les populations. Un seul cas de non migration chez les espèces supposées amphidromes est connu pour l'instant chez une espèce endémique d'Hawaii, *Awaous stamineus,* où il a été démontré que tous les individus ne migraient pas en mer, une grande partie des larves restant dans leur rivière natale (Hogan *et al.,* 2014).

L'absence de MR sur certains otolithes de *P. attiti* laisse donc à penser que certains spécimens n'effectueraient pas de migration en mer mais qu'ils resteraient dans la partie basse de la rivière proche de l'estuaire. Bien que 6 spécimens présentent une marque qui pourrait attester d'un passage en mer des larves, 18 présentent plusieurs marques non régulières mettant en évidence que des événements, pour l'instant inconnus, sont enregistrés sur les otolithes. Cette absence de régularité entre les marques (*i.e.,* un intervalle de 7 à 33 jours) ne permet pas pour le moment de connaître la nature de ces événements qui pourraient correspondre à un potentiel changement d'environnement ou de conditions des individus (ex : problème d'alimentation, reproduction …). L'espèce pourrait aussi effectuer des migrations le long des cours d'eau ; ceci reste à confirmer par l'étude d'autres éléments comme les isotopes du strontium (Sr).

Pour valider l'amphidromie de *P. attiti*, une première analyse microchimique des otolithes avait été réalisée par Tabouret *et al.* en 2014, mais seulement à partir de 4 otolithes (deux post-larves et deux adultes). L'estimation de la DPL était alors de 55,5 ± 13,5 jours. L'ajout de nos échantillons (N=28) à ces derniers donnerait une DPL moyenne de 44,2 ± 10,8 jours ce qui est proche de celle trouvée pour *Smilosicyopus chloe*, endémique de la Nouvelle-Calédonie (53,6 ± 5,7 jours) (Taillebois *et al.,* 2012).

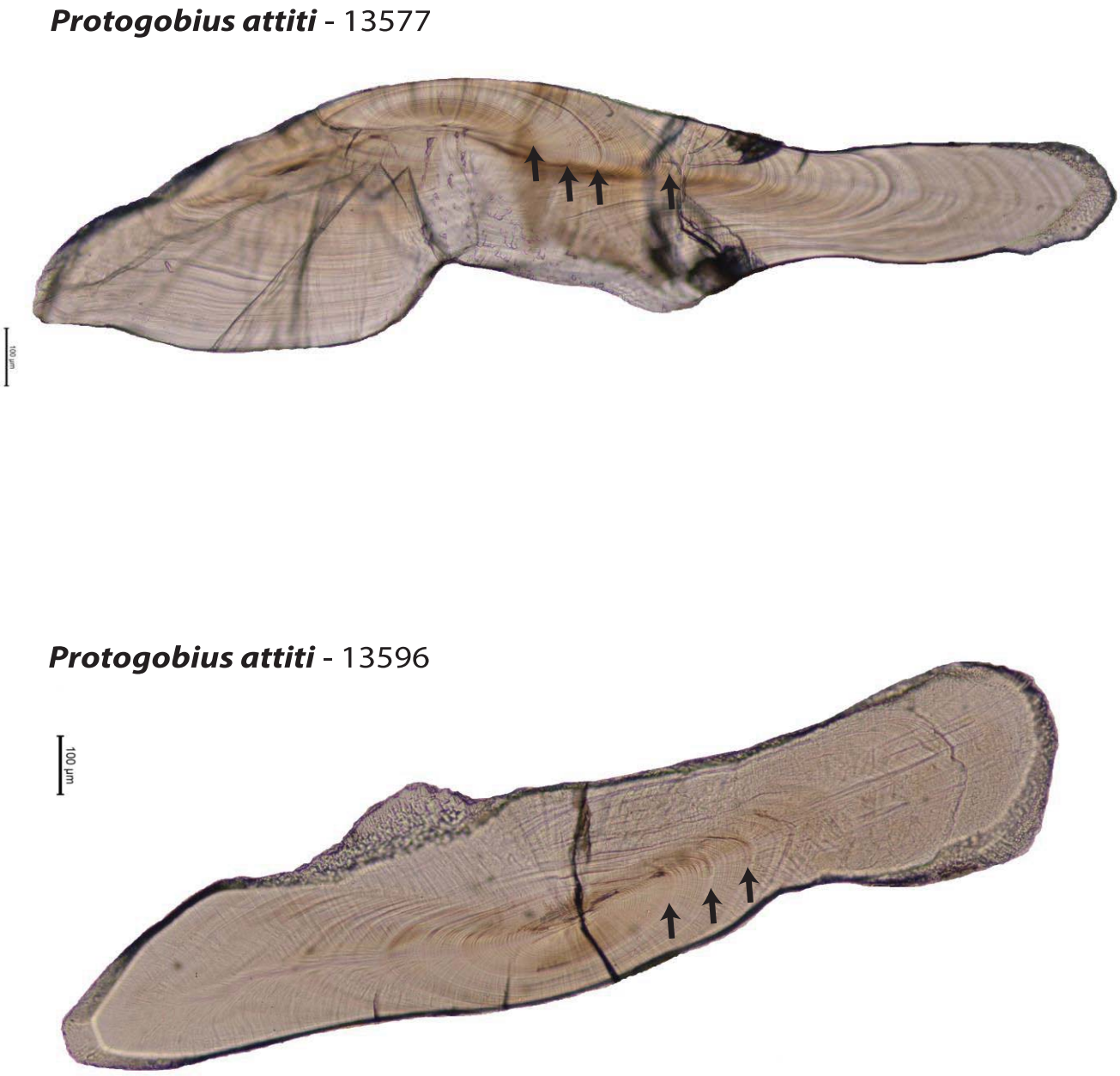


Figure 10 : Coupe transversale d'otolithes de *Protogobius attiti* permettant de noter la présence de plusieurs marques (flèches noires) apposées le long du transect d'accroissement des otolithes. ©Mennesson

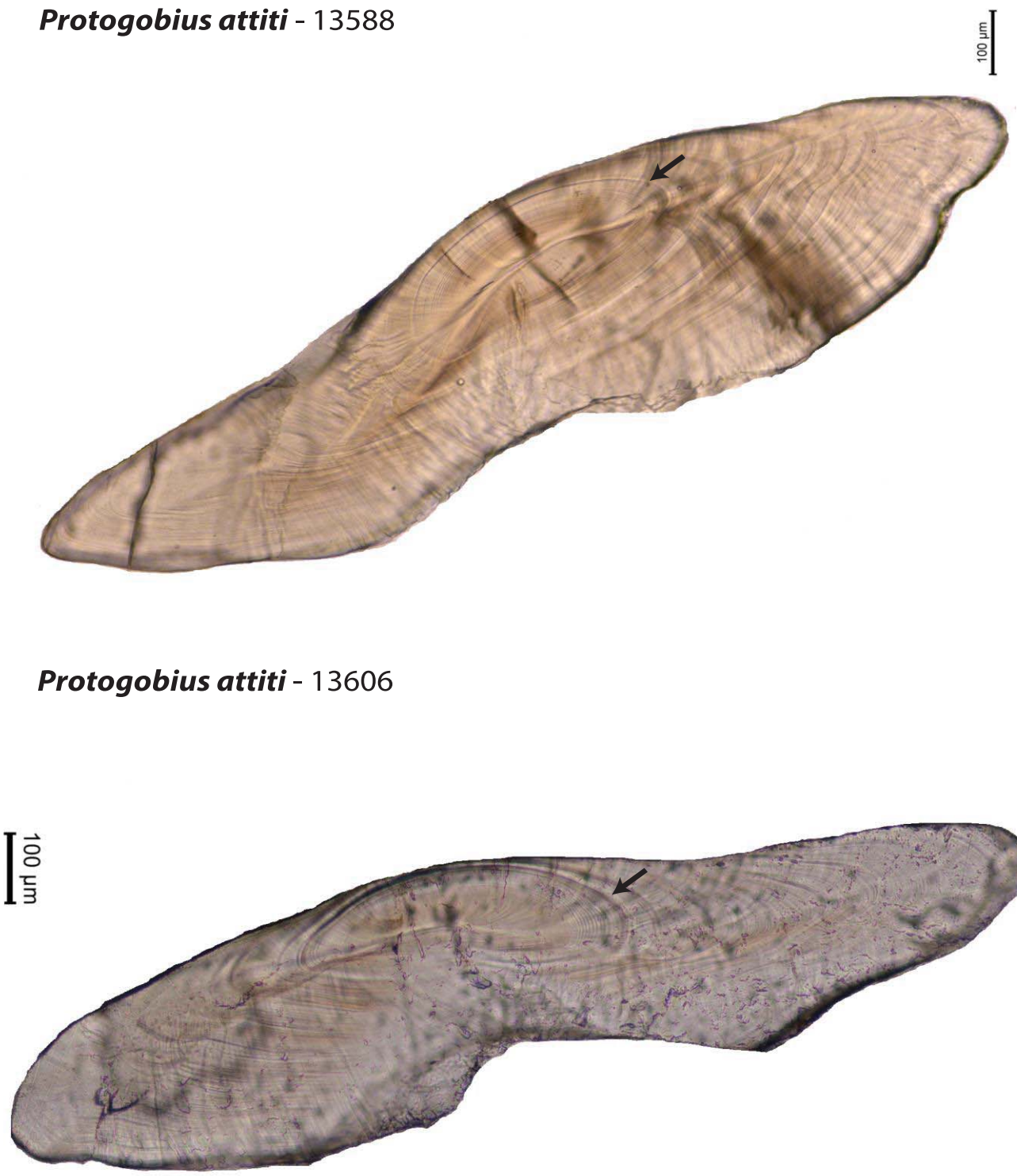


Figure 11 : Coupe transversale d'otolithes de *Protogobius attiti* permettant de noter la présence d'une seule marque de recrutement (flèches noires) apposées le long du transect d'accroissement des otolithes. ©Mennesson

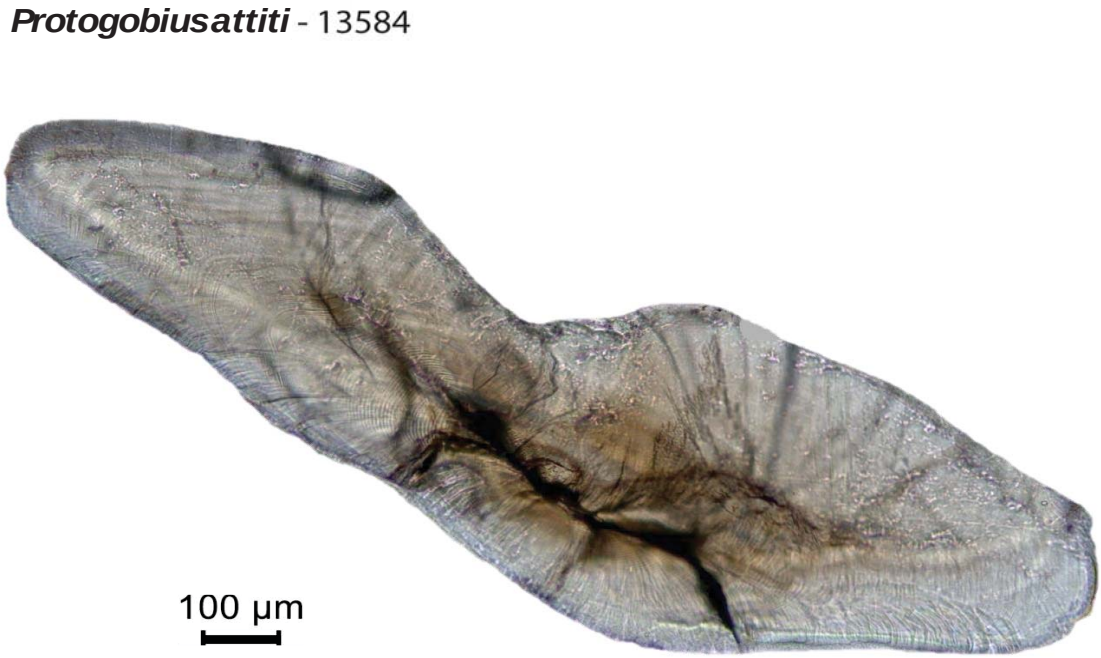


Figure 12 : Coupe transversale de l'unique otolithe de *Protogobius attiti* ne présentant aucune marque de recrutement. ©Mennesson.

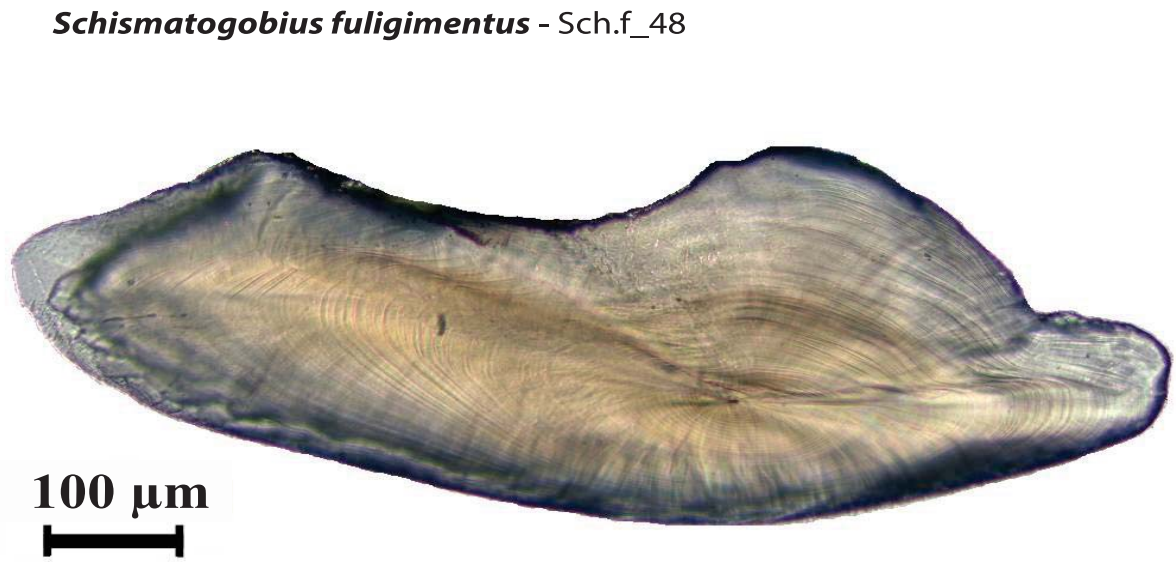
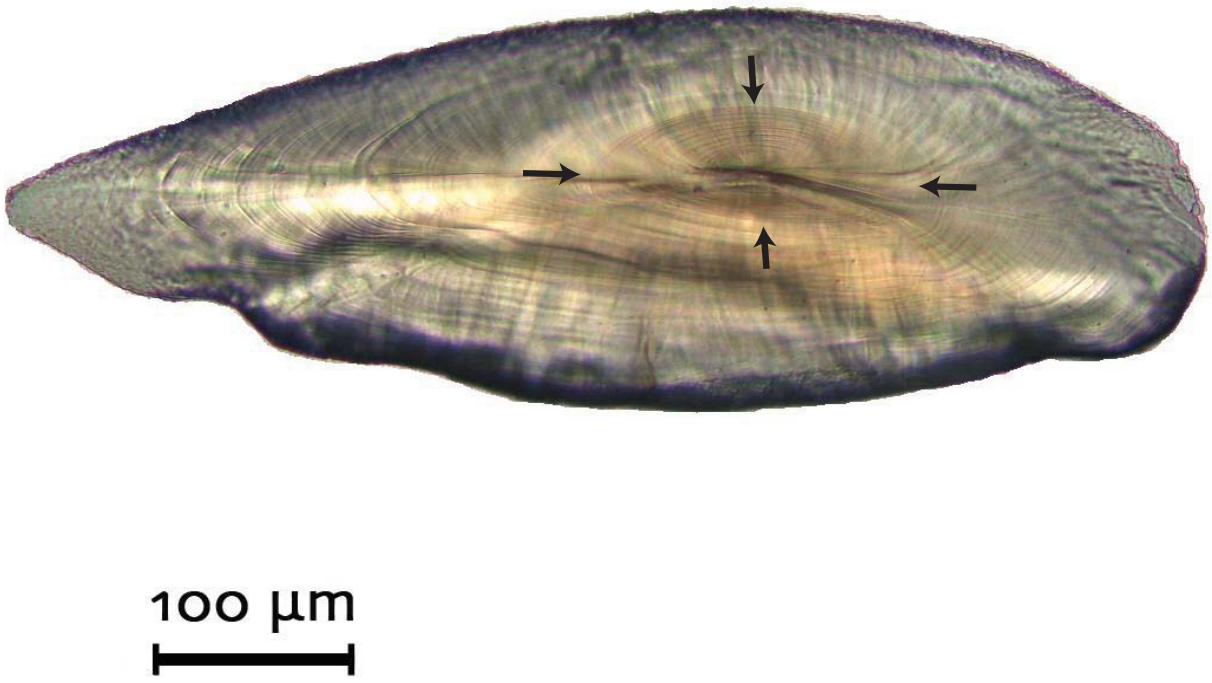


Figure 13 : Coupe transversale de l'unique otolithe de *S. fuligimentus* ne présentant aucune marque de recrutement. ©Mennesson

Schismatogobius fuligimentus - Sch.f_27



Schismatogobius fuligimentus - Sch.f_39

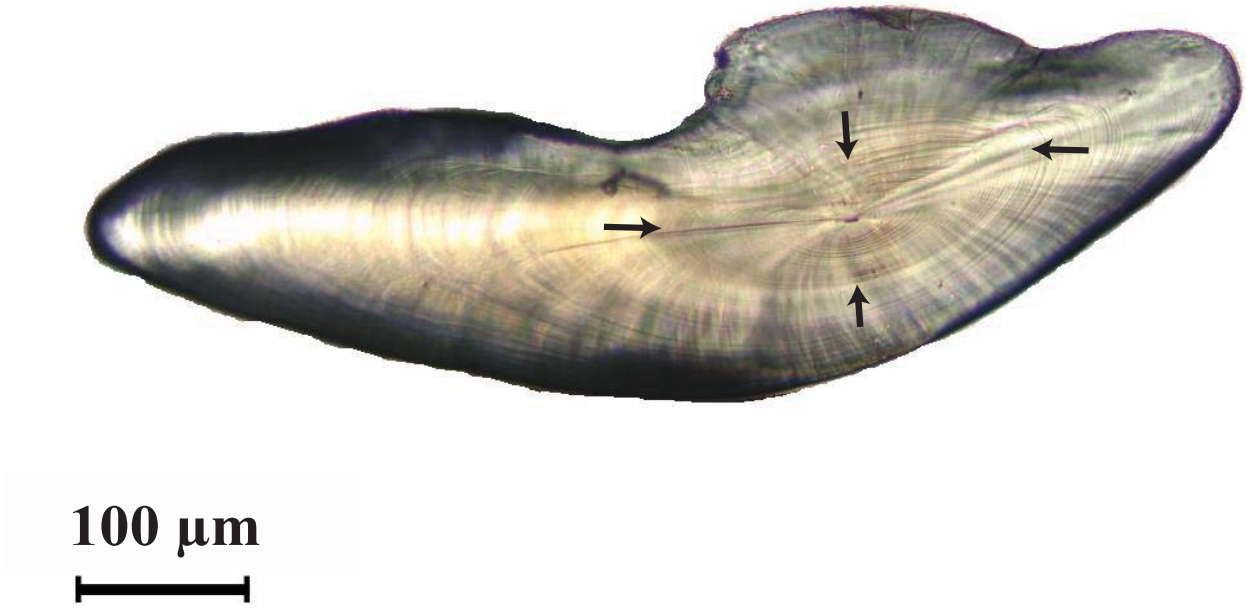


Figure 14 : Coupe transversale d'otolithes de *S. fuligimentus* présentant une zone plus foncée autour du nucléus (flèches noires indiquant la zone). ©Mennesson

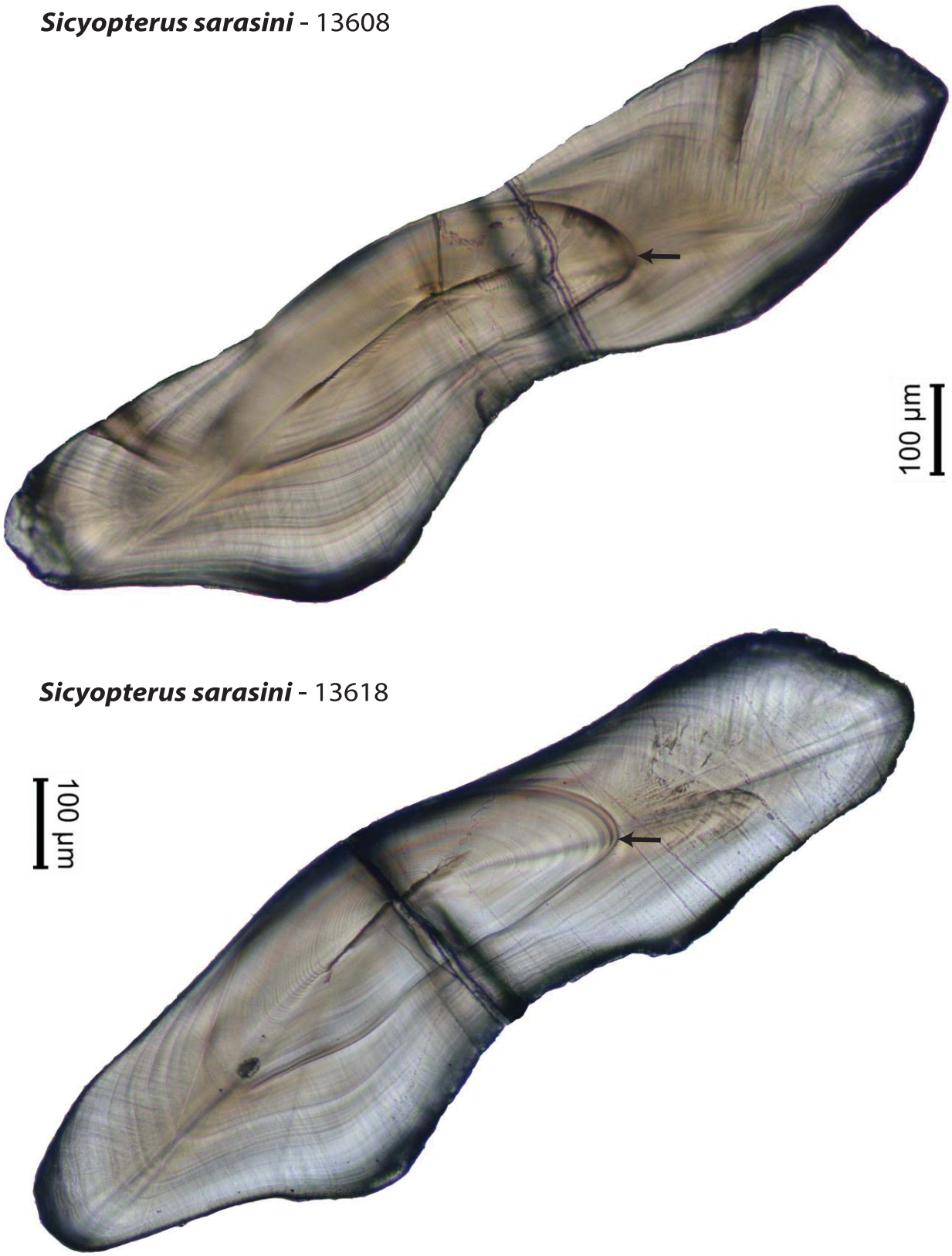


Figure 15 : Coupe transversale d'otolithes de *Sicyopterus lagocephalus* permettant de noter la présence de la marque de recrutement (flèches noires) apposées le long du transect d'accroissement des otolithes. ©Mennesson

Tableau 1 : Spécimens de *Protogobius attiti* disponibles pour l'analyse des otolithes (Ø MR : absence de marque de recrutement ; x : échantillon « perdu »).

n°TAG	Genre	Espèce	Rivière	date capture	DPL
Proto.a_33	*Protogobius*	*attiti*	Côte oubliée	nov.-08	60
Proto.a_34	*Protogobius*	*attiti*	Côte oubliée	nov.-08	69
Proto.a_35	*Protogobius*	*attiti*	Côte oubliée	nov.-08	37
Proto.a_36	*Protogobius*	*attiti*	Côte oubliée	nov.-08	55
13577	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	30
13579	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	37
13580	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	41
13581	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	x
13582	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	34
13583	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	30
13584	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	Ø MR
13587	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	37
13588	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	45
13589	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	29
13590	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	39
13591	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	33
13592	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	x
13593	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	54
13594	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	43
13595	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	37
13596	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	34
13597	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	47
13598	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	x
13599	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	50
13600	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	50
13601	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	52
13602	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	49
13603	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	37
13604	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	60
13605	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	40
13606	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	45
13607	*Protogobius*	*attiti*	Creek de la Baie Nord	2014	63

Tableau 2 : Spécimens de *Schismatogobius fuligimentus* disponibles pour l'analyse des otolithes (Ø MR : absence de marque de recrutement ; x : échantillon « perdu » ; le tiret indique que les échantillons ne sont pas utilisables pour l'otolithométrie).

n°TAG	Genre	Espèce	Rivière	date capture	DPL
Sch.f_7	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Lembi	10/09/16	22
Sch.f_8	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Lembi	10/09/16	x
Sch.f_9	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Lembi	10/09/16	25
Sch.f_10	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Pirogues	10/09/16	x
Sch.f_11	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Pirogues	10/09/16	22
Sch.f_12	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Pirogues	10/09/16	x
Sch.f_13	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Kwatéa	12/09/16	27
Sch.f_14	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Carénage	15/09/16	x
Sch.f_15	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Carénage	15/09/16	32
Sch.f_16	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Carénage	15/09/16	-
Sch.f_24	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Rivière bleue de Prony	15/09/16	-
Sch.f_27	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Rivière bleue de Prony	15/09/16	22
Sch.f_28	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Rivière bleue de Prony	15/09/16	-
Sch.f_33	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Rivière bleue de Prony	15/09/16	-
Sch.f_34	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Rivière bleue de Prony	15/09/16	-
Sch.f_35	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Rivière bleue de Prony	15/09/16	-
Sch.f_36	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Rivière bleue de Prony	15/09/16	-
Sch.f_37	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Rivière bleue de Prony	15/09/16	-
Sch.f_38	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Xwé Nuru	25/09/16	23
Sch.f_39	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Xwé Nuru	25/09/16	28
Sch.f_40	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Xwé Nuru	25/09/16	-
Sch.f_41	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Xwé Nuru	25/09/16	-
Sch.f_42	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Xwé Nuru	25/09/16	-
Sch.f_43	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Xwé Nuru	25/09/16	-
Sch.f_44	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Xwé Nuru	25/09/16	-
Sch.f_45	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Xwé Nuru	25/09/16	-
Sch.f_46	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Xwé Nuru	25/09/16	-
Sch.f_47	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Xwé Nuru	25/09/16	-
Sch.f_48	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Bwi	25/09/16	Ø MR
Sch.f_49	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Bwi	25/09/16	-
Sch.f_50	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Bwi	25/09/16	-
Sch.f_51	*Schismatogobius*	*fuligimentus*	Ngoi	25/09/16	22

Tableau 3 : Spécimens de *Sicyopterus sarasini* disponibles pour l'analyse des otolithes (x : échantillon « perdu »).

n° TAG	Genre	Espèce	Rivière	date capture	DPL
13608	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	77
13609	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	77
13610	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	56
13611	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	70
13612	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	57
13613	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	90
13614	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	78
13615	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	76
13616	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	70
13617	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	130
13618	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	85
13619	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	60
13620	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	72
13622	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	121
13623	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	84
13624	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	x
13625	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	96
13626	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	82
13627	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	98
13628	*Sicyopterus*	*sarasini*	Creek de la Baie Nord	2014	93
SS4767	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	69
SS4768	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	82
SS4775	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	87
SS4776	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	97
SS4777	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	63
SS4780	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	82
SS4786	*Sicyopterus*	*sarasini*	Trou Bleu	févr-07	78
SS4787	*Sicyopterus*	*sarasini*	Trou Bleu	févr-07	78
SS4789	*Sicyopterus*	*sarasini*	Co-Daru Kwatéa	févr-07	80
SS4790	*Sicyopterus*	*sarasini*	Co-Daru Kwatéa	févr-07	74
SS4769	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	73
SS4770	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	69
SS4771	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	63
SS4772	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	81
SS4773	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	87
SS4778	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	59
SS4779	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	59
SS4781	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	103
SS4782	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	60
SS4783	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	61
SS4784	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	74
SS4785	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	93
SS4788	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	févr-07	85
SS4791	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	juin-06	79
SS4792	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	juin-06	90
SS4793	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	juin-06	72
SS4794	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	juin-06	85
SS4795	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	juin-06	71
SS4796	*Sicyopterus*	*sarasini*	Ponandou	juin-06	67
SS4642	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	nov-07	77
SS4643	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	nov-07	83
SS4644	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	nov-07	87
SS4647	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	nov-07	70
SS4648	*Sicyopterus*	*sarasini*	Barendeu	nov-07	64

Cependant, nous sommes retournés sur les échantillons de Tabouret *et al.* (2014) et seuls 2 otolithes sur les 4 présentent une marque de recrutement (MR) bien définie. De plus, les profils microchimiques de Sr:Ca réalisé par ablation laser sur ces 4 spécimens ne présentent pas le profil type retrouvé chez les espèces amphidromes (Fig. 16) *i.e.,* un taux de Sr:Ca élevé entre le nucléus et la MR et, une chute de ce taux lorsque l'on s'éloigne de cette dernière (voir ***III.1.5***). En conclusion, les 4 spécimens de *P. attiti* analysés en 2014 (Fig. 17) sont probablement restés dans les cours d'eau inférieurs dont le taux de Sr:Ca est supérieur ou égale à $6x10^{-3}$ en Nouvelle-Calédonie (Lord *et al.,* 2011 ; Taillebois *et al.,* 2015) et n'ont probablement pas migrés en mer.

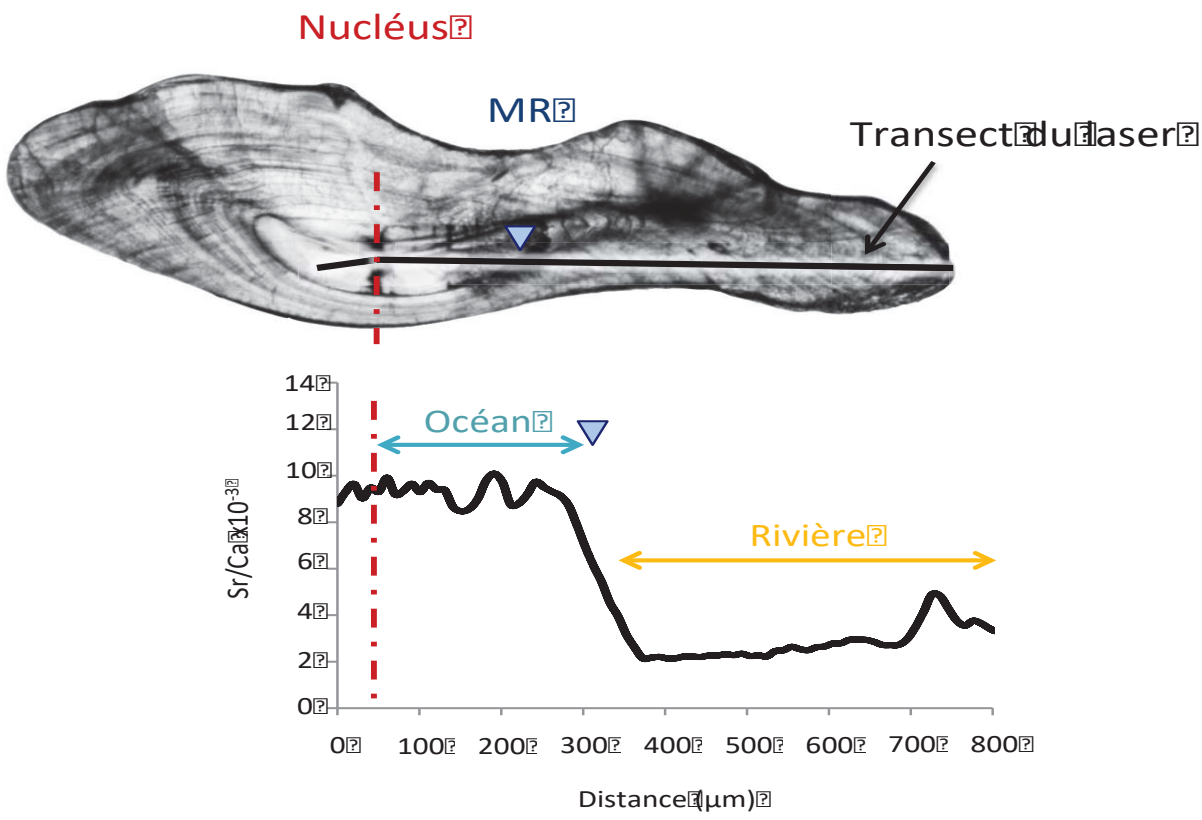


Figure 16 : Profil des taux de Sr:Ca (µg.g^{-1}) obtenus au laser femtosecondes (fs-LA-ICP-MS) sur un otolithe d'*Eleotris fusca* capturé au Vanuatu et dont l'amphidromie a été confirmée. Le transect du laser passe en amont du nucléus (ligne en pointillés) pour ensuite traverser la zone larvaire, située entre ce dernier et la marque de recrutement (MR, triangle bleu), puis continu jusqu'au bord de l'otolithe. ©Mennesson

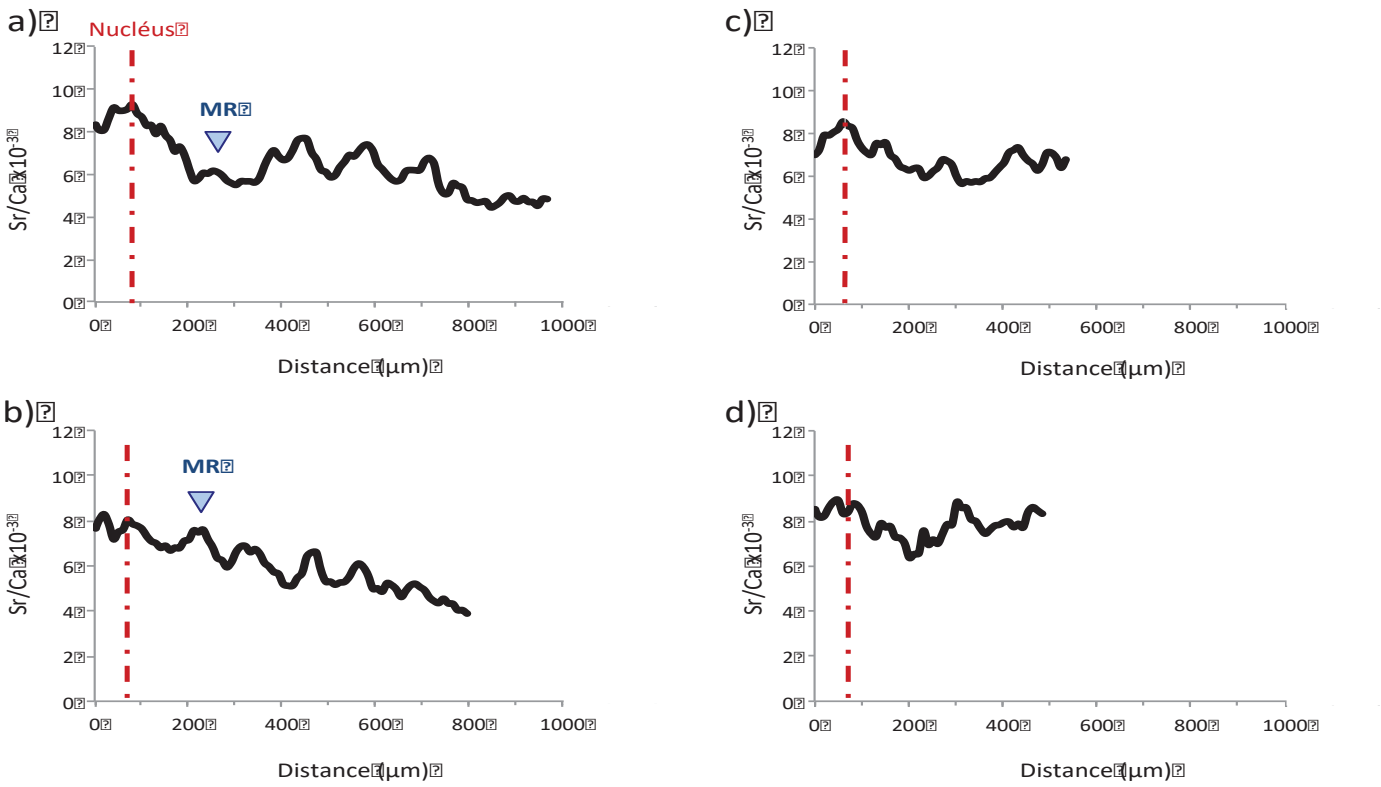


Figure 17 : Profils des taux de Sr:Ca (µg.g^{-1}) obtenus au laser femtosecondes (fs-LA-ICP-MS) sur les otolithes de *P. attiti*, deux adultes (a, b) et deux post-larves (d, c). La position du nucléus est illustrée par une ligne en pointillés et la marque de recrutement (MR) par un triangle bleu. D'après Tabouret *et al.* (2014)

Pour cette espèce endémique et emblématique de la Nouvelle-Calédonie, **il est donc urgent d'effectuer des analyses microchimiques sur un choix d'otolithes (sans marque, 1 marque, plusieurs marques) dont nous disposons afin de statuer sur la réalité de son cycle de vie.** Il est en effet nécessaire, pour tout objectif de gestion-conservation, de savoir si l'espèce est majoritairement inféodée à des bassins versants ou si des échanges sont possibles entre les populations. Il est à craindre que cette espèce, déjà classée « Endangered » par l'IUCN, migre finalement peu.
L'étude génétique qui suivra cette étude sur les otolithes devrait nous apporter quelques éléments de réponses complémentaires.

Dans le cas de *Schismatogobius fuligimentus*, **cette présente étude est la première à s'intéresser à sa dispersion larvaire en mer**. Nous avons pu constater qu'aucune marque de recrutement « classique » n'était visible sur ses otolithes, et que seule une zone plus foncée est notée autour du nucléus. En prenant comme hypothèse que cette dernière puisse correspondre à la phase

larvaire marine, nous avons estimé la DPL moyenne à 24,8 ± 3,4 jours ; ce qui semble être une faible durée bien que Tabouret *et al.* (2014) aient estimé des DPL moyennes de 26,8 ± 0,7 jours au Vanuatu et de 34,1 ± 2,2 jours en Papua pour *Rhyacichthys guilberti*.

L'absence d'étude microchimique sur cette espèce ne nous permet pas de valider avec certitude la MR et donc la présence d'une possible zone correspondant à la phase larvaire marine. Tout comme pour *P. attiti*, une analyse de la microchimie des otolithes, pour prouver le changement de milieu eau douce/eau de mer est à réaliser. L'analyse génétique des individus apportera des éléments supplémentaires dans la compréhension de la structuration des populations de *S. fuligimentus* au sein des cours d'eau du Sud de la Nouvelle-Calédonie.

Concernant *S. sarasini* aucun doute ne peut être émis quant à la confirmation de son cycle amphidrome (Lord *et al.,* 2011). L'espèce endémique disperse donc à travers le milieu marin puis peut recoloniser les divers cours d'eau calédoniens. L'ajout de notre jeu de données à celui de Lord *et al.* (2011) nous permet d'estimer une DPL moyenne de 78,7 ± 14,8 jours, ce qui est proche de celle obtenue pour *S. aiensis*, endémique du Vanuatu (79,2 ± 4,6 jours) (Lord *et al.,* 2011), mais supérieure à celle de *Smilosicyopus chloe*, endémique de la Nouvelle-Calédonie (53,6 ± 5,7 jours) (Taillebois *et al.,* 2012).

IV. Conclusion

Bien que le cycle amphidrome soit confirmé pour *S. sarasini*, un doute plane sur le statut strict de ce cycle de vie pour *P. attiti*, et l'absence de marque de recrutement classique pour *S. fuligimentus* ne permet pas de savoir si l'espèce est bien migratrice. Il sera donc essentiel de valider, par une analyse microchimique des otolithes, leur cycle de vie réel dans une optique de gestion et de conservation de ces espèces.

L'étape suivante de notre collaboration avec l'OEIL concerne l'étude de la connectivité des populations pour les 3 espèces. Les spécimens issus de la pollution de a Creek Baie du nord en mai 2014 ont été complétés par de nouvelles collectes de tissus faites en septembre 2016, ainsi que par des spécimens du MNHN, nous donnant ainsi un échantillonnage plus large : 123 spécimens de *P. attiti,* 149 spécimens de *S. sarasini* et 68 spécimens de *S. fuligimentus* (Tableau 4). En 2012, Lord *et al.* ont réalisé une étude phylogéographique afin d'observer la connectivité des populations de *S. sarasini* dans les rivières de Nouvelle-Calédonie. Cette étude a été réalisée sur des données collectées entre 2006 et 2007 et est donc antérieure au déversement de produits acides. Une nouvelle analyse de génétique des populations réalisée avec l'association du jeu de données de Lord *et al.* (2012) et celui dont nous disposons maintenant, nous permettra d'obtenir des informations intéressantes sur les populations de *S. sarasini*.

A terme, ces études génétiques devraient nous permettre de mieux connaître le cycle de vie de ces espèces patrimoniales de Nouvelle-Calédonie et permettre de mettre en place des mesures de gestion-conservation adaptées.

Tableau 4 : Résumé du nombre de tissus disponibles pour réaliser l'analyse génétique des populations.

Rivières	Date	*Protogobius attiti*	*Sicyopterus sarasini*	*Schismatogobius fuligimentus*
Site 3: Lembi	10/09/16	-	-	3
Site 4: Pirogues	10/09/16	-	-	3
Site 5: Fausse Yaté	10/09/16	3	11	-
Site 11: Kwatéa	12/09/16	-	-	1
Site 13: Trou Bleu	13/09/16	16	8	-
Site 18: Carénage	15/09/16	7	-	12
Site 18 bis: Carénage embouchure	17/01/17	17	-	6
Site 19: Rivière bleue de Prony	15/09/16	2	-	16
Site 24: Rivière des Kaoris	17/09/16	29	-	1
Site 34: Barendeu	2006, 2007, 2016	-	43	-
Site 36: Xwé Nuru	25/09/16	3	10	10
Site 37: Bwi	25/09/16	4	6	3
Site 39: Ngoi	25/09/16	8	11	1
Site A: Creek de la Baie Nord	2014	28	20	6
Site B: Co-Daru Kwatéa	20/02/17	-	3	-
Site C: Ponandou	06/06/06	-	1	-
Site D: La coulée	23/11/17	-	-	6
Site E: Ni	2006 & 2007	6	33	-
Site F: Pourina	2007		3	
	Total	**123**	**149**	**68**

V.

Bibliographie

Arai T., Hirata T., Takagi Y. 2007. Application of laser ablation ICPMS to trace the environmental history of chum salmon *Oncorhynchus keta*. Marine Environmental Research, 63: 55-66.

Campana S.E. 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. Marine Ecology Progress Series 188: 263-297.

Campana S.E. 2005. Otolith science entering the 21st century. Marine and Freshwater Research. 56: 485-495.

Campana S.E., Neilson J. D. 1985. Microstructure of fish otoliths. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 42: 1014-1032.

Campana S. E., Thorrold S. R. 2001. Otoliths, increments, and elements : key to a comprehensive understanding of fish populations? Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 58: 30-38.

Closs G.P., Smith M., Barry B., Markwitz A. – 2003 – Non diadromous recruitment in coastal population of common bully (*Gobiomorphus cotidianus*). New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 37: 301-313.

Crook D.A., Macdonald J.I., O'Connor J.P. & Barry B. 2006. Use of otolith chemistry to examine patterns of diadromy in the threatened Australian grayling Prototroctes maraena. Journal of Fish Biology, 69: 1330-1344.

Daverat F., Tomas J., Lahaye M., Plamer M., Elie P. 2005. Tracking continental habitat shifts of eels using otolith Sr/Ca ratios: validation and application to the coastal, estuarine and riverine eels of the Gironde-Garonne-Dordogne watershed. Marine and Freshwater Research, 56: 619-627.

Delacroix P. & Champeau A. 1992. *Pontes en eau douce de Sicyopterus lagocephalus (Pallas) poisson Gobiidae amphibionte des rivières de la Réunion*. Hydroécologie appliquée **4** (1) : 49-63.

De Pontual, H. & Geffen, A.J. 2002. Otolith microchemistry. Manual of fish sclerochronology, pp. 243-303.

De Pontual H., Panfili J., Wright P. J., Traodec H. 2002. Introduction générale. In : Manuel de Sclérochronologie des poissons. Co-Edition Ifremer-IRD, Brest. pp. 19-28.

Feutry P., Keith P., Pécheyran C., Claverie F., Robinet T. 2011. Evidence of diadromy in the French Polynesian *Kuhlia malo* (Teleostei: Percoidei) inferred from otolith microchemistry analysis. Ecology of Freshwater Fish, 20: 636-645.

Feutry P., Tabouret H., Maeda K., Pécheyran C., Keith P. 2012. Diadromous life cycle and behavioral plasticity in freshwater and estuarine Kuhliidae species (Teleostei) revealed by otolith microchemistry. Aquatic Biology, 15: 195-204.

Hoareau T. 2005. Dynamique structurale des populations de « bichiques » (Sicyopterus lagocephalus), Gobiidés amphidromes de rivières de La Réunion. PhD, Université de La Réunion. 266 p.

Hogan J.D., Blum M.J., Gilliam J., Bickford N., McIntyre P.B. 2014. Consequences of alternative dispersal strategies in a putatively amphidromous fish. Ecology. 95: 2397-2408.

Howland K.L., Tonn W.M., Babaluk J.A., Tallman R.F. 2001. Identification of freshwater and anadromous inconnu in the Mackenzie River system by analysis of otolith strontium. Transactions of the American Fisheries Society, 130: 725-741.

Keith P., 2003. Biology and ecology of amphidromous Gobiidae in the Indo-Pacific and the Caribbean regions. Journal of Fish Biology. 63: 831-847.

Keith P., Lord C., Vigneux E. 2006a. In vivo observations on post-larval development of freshwater gobies and eleotrids from French Polynesia and New Caledonia. Ichthyological Exploration of Freshwaters 17: 187-191.

Keith P., Hoareau T. B., Lord C., Ah-Yane O., Gimmoneau G., Robinet T., Valade P. 2008. Characterisation of post-larval to juvenile stages, metamorphosis and recruitments of an amphidromous goby,

Sicyopterus lagocephalus (Pallas) (Teleostei: Gobiidae: Sicydiinae). Marine and freshwater Research. 59: 876-889.

Keith P., Lord C. 2009a. Tropical freshwater gobies: Amphidromy as a life cycle In: The Biology of Gobies. Patzner R.A., Van Tassell J.L., Kovacic M., Kapoor B.G. (eds.), Science Publishers Inc. In Press

Keith P., Lord C. 2009b. Systematics of Sicydiinae In: The Biology of Gobies. Patzner R.A., Van Tassell J.L., Kovacic M., Kapoor B.G. (eds.), Science Publishers Inc. In Press.

Keith P., Lord C., Marquet G., Kalfatak D. 2009. Biodiversity and biogeography of amphidromous fishes from New Caledonia, a comparison with Vanuatu. Zoologia Neocaledonica 7. Biodiversity Studies in New Caledonia. Mémoires du Muséum national d'Histoire naturelle. 198: 175-183.

Lecomte-Finiger R. 1992. Growth history and age at recruitment of european glass eels *A. anguilla* as revealed by otolith microstructure. Marine Biology. 114: 205-210.

Lecomte-Finiger R. 1999. L'otolithe : la "boîte noire" des Téléostéens. Année Biologique. 38: 107-122.

Limburg KE, Svedang H, Elfman M, Kristiansson P (2003) Do stocked freshwater eels migrate ? Evidence from the Baltic suggests 'yes'. In: Dixon DA (ed) Biology, management and protection of catadromous eels. American Fisheries Society Symposium. 33, p 275–284

Lord C., Keith P. 2006. Threatened fishes of the world: *Protogobius attiti* Watson & Pöllabauer 1998 (Rhyacichthyidae). Environmental Biology of Fishes. 77: 101-102.

Lord C., Tabouret H., Claverie F., Pecheyran C., Keith P. 2011. Femtosecond laser ablasion ICP-MS measurement of otolith Sr :Ca and Ba :Ca composition reveal differential use of freshwater habitats for three amphidromous Sicyopterus (Teleostei : Gobioidei : Sicydiinae) species. Journal of Fish Biology. 79 :1304-1321.

Lord C., Lorion J., Dettai A., Watanabe S., Tsukamoto K., Cruaud C., Keith P. 2012. From endemism to widespread distribution: phylogeography of three amphidromous Sicyopterus species (Teleostei: Gobioidei: Sicydiinae). Marine Ecology Progress Series. 455: 269-285.

Marquet G., Keith P., Vigneux E. 2003. Atlas des poissons et crustacés d'eau douce de la Nouvelle-Calédonie. Collection Patrimoines Naturels 58, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris. 282 pp.

McDowall R. M., Mitchell C. P., Brothers E. B. 1994. Age at migration from the sea of juvenile Galaxias in New Zealand (Pisces, Galaxiidae). Bulletin of MarineScience. 54 : 385-402.

McDowall R. M. 2007. On amphidromy, a distinct form of diadromy in aquatic organisms. Fish and Fisheries. 8: 1-13.

Milton D., Halliday I., Sellin M., Marsh R., Staunton-smith J., Woodhead J. 2008. The effect of habitat and environmental history on otolith chemistry of barramindi *Lates calcarifer* in estuarine populations of regulated tropical river. Esturine Coastal and Shelf Science, 78: 301-315.

Panfili J., de Pontual H., Troadec H., Wright P. J. 2002. Manuel de sclérochronologie des poisons. Co-Edition Ifremer-IRD, Brest. 464p

Pannella G. 1971. Fish otoliths: daily growth layers and periodical patterns. Science 173: 1124-1127.

Pannella G. 1980. Growth pattern in fish sagittae. In : Skeletal growth of aquatic organisms.Biological records of environmental change. Rhoads D. C., Lutz R. A. (eds.). New York, USA and London, UK. Plenum Press. pp. 519-560.

Shiao J.C., Ložys L., Iizuka Y., Tzeng W.N. 2006. Migratory patterns and contribution of stocking to the population of European eel in Lithuanian waters as indicated by otolith Sr:Ca ratios. Journal of Fish Biology, 69: 749-769.

Shiao J.C., Tzeng CS., Li P.C., Bell K.N.I. 2015. Upstream migration and marine early life history of amphidromous gobies inferred from otolith increments and microchemistry. Environmental Biology of Fishes, 98: 933-950.

Tabouret H., Bareille G., Claverie F., Pécheyran C., Prouzet P., Donard O.F.X. 2010. Simultaneous use of strontium:calcium and barium:calcium ratios in otoliths as markers of habitat: application to the European eel (*Anguilla anguilla*) in the Adour basin, South West France. Marine Environmental Research, 70: 35-45.

Tabouret H., Lord C., Bareille G., Pécheyran C., Monti D. 2011. Otolith microchemistry in *Sicydium punctatum*: indices of environmental condition changes after recruitment. Aquatic Living Resources, 24: 369-378.

Taillebois L., Maeda K., Vigne S., Keith P. 2012. Pelagic larval duration of three amphidromous Sicydiinae gobies including widespread and endemic species. Ecology and freshwater fish. 21: 552-559.

Taillebois L., Tabouret H., Pecheyran C., Keith P. 2015. Inputs from microchemistry to the understanding of three sicydiina species'life cycle. Life and Environment. 65(2): 73-84.

Wright P. J. 1991. Calcium binding by soluble matrix of the otolith of Atlantic salmon, *Salmo salar*. Journal of Fish Biology. 38: 625-627.