



Contribution de la génétique des populations à l'étude de la connectivité régionale de certaines espèces de poissons commerciaux présents dans la Réserve Naturelle Marine de La Réunion : étude de faisabilité



Synthèse finale
Muths D, Tessier E & Bourjea J
Le Port, Octobre 2008

Sommaire

1	Introduction	1
2	Matériel et Méthodes	3
2.1	Echantillonnage	3
2.2	Polymorphisme nucléotidique mitochondrial	3
2.2.1	Manipulations	3
2.2.2	Analyses statistiques	4
2.3	Microsatellites (uniquement pour <i>E. merra</i>)	5
2.3.1	Manipulations	5
2.3.2	Analyses statistiques	6
3	Résultats	7
3.1	Données des séquences mitochondriales communes aux trois espèces	7
3.2	Analyses des séquences de <i>L. kasmira</i>	7
3.3	Analyses des séquences de <i>M. berndti</i>	10
3.4	Analyses des séquences de <i>E. merra</i>	13
3.5	Synthèse & Comparaison des résultats mitochondriaux pour les 3 espèces	16
3.5.1	Histoire de la colonisation de la zone d'étude	16
3.5.2	Comparaison des niveaux de différenciation entre les 3 espèces	17
3.6	Données microsatellites des échantillons de <i>E. merra</i>	18
4	Bilan du projet & perspectives	21
5	Références bibliographiques	22

1 Introduction

Les récifs coralliens font partie des habitats les plus divers au monde dans l'écosystème marin (Veron 1995), et possèdent la plus grande diversité spécifique de tous les habitats marins explorés (Paulay 1997, Bellwood & Hughes 2001). Cependant, ils sont aujourd'hui en sérieux déclin : 30% sont sévèrement endommagés, 10% d'entre eux sont irrémédiablement condamnés, et environ 60% seront perdus en 2030 (Salvat 1990, Wilkinson 2002). Le sud-ouest de l'océan Indien est considéré comme un « hot spot » de la biodiversité et comprend un grand nombre d'espèces endémiques. Il est prévu que dans cette région la plupart des récifs pourraient être recouverts de moins de 20% d'espèces de corail vivant en 2014 si des mesures de gestion ne sont pas développées et si les événements de blanchiment récents se répètent à la même fréquence (Ahamada et al. 2004). Les stocks de nombreuses espèces de poissons et de crustacés ont diminué en raison d'une très forte exploitation ou de la dégradation de leurs habitats par des causes naturelles ou anthropiques (Chabanet et al. 1995). Les écosystèmes coralliens préservés sont peu nombreux aujourd'hui, et se situent le plus souvent dans des zones isolées, peu ou non peuplées, comme les îles Eparses françaises du sud-ouest de l'océan Indien. Dans les zones les plus peuplées, la création d'aires marines protégées (AMP) a permis de préserver la biodiversité de certains récifs coralliens et d'augmenter l'abondance et la biomasse en poissons de ces zones (Chabanet et al. 2002). La mise en place d'AMP est l'une des mesures recommandées dans le 3^e des « 10 commandements pour la recherche écosystémique des pêches » proposés par Francis *et al.* (2007). Cela permettrait en effet d'assurer qu'au moins une part du stock atteigne un âge et une taille suffisante pour permettre le renouvellement des populations. L'un des effets attendus lors de la protection d'une zone marine est d'agir sur la structure de populations des espèces qui y sont exploitées, en induisant notamment une augmentation de la taille moyenne des individus et de la densité, comme cela a pu être observé dans diverses régions (Allison et al. 1998, Kaunda-Arara & Rose 2004, Roberts et al. 2005). Une augmentation en poids et taille des individus va avoir une incidence directe sur la fécondité de l'espèce dans la zone. La conséquence logique est donc une augmentation de la production de larves; la création de zones de protection est donc censée avoir un impact favorable sur le renouvellement des populations dans et en dehors de la réserve par le biais du recrutement larvaire. Cependant cet impact dépend essentiellement du devenir des larves après leur dispersion dans le milieu pélagique (Bowen et al. 2006, Almany et al. 2007).

Or, à La Réunion, le problème de connectivité des ressources locales avec celles des ressources d'autres îles de l'océan Indien n'est pas encore tranché. Si certains éléments (faiblesse du recrutement, reproductibilité des phénomènes d'une année sur l'autre, taille des larves au moment de l'installation) plaident en faveur d'une faible connectivité (Durville et al. 2002), d'autres éléments (recrutements exceptionnels, pools génétiques multiples) favorisent l'hypothèse d'échanges avec d'autres îles de la zone, voire avec d'autres zones de l'océan Indien (Pothin et al. 2003). Or, en terme de gestion, l'échec à identifier, quantifier et cartographier les processus de dispersion pourrait souvent expliquer les tensions sous-jacentes aux efforts de restauration et de maintien des ressources naturelles. Les différences de connectivité entre les unités sociales (*i.e.* les Réserves Naturelles Marines) et biologiques (*i.e.* taille et structure des populations) pourraient entraîner des conflits sociaux et une dégradation biologique. Il est donc essentiel de prendre en compte la problématique de la connectivité régionale des ressources pour évaluer l'échelle de l'impact possible de la RNM sur la gestion des ressources coralliennes.

Les outils d'analyse génétique sont de plus en plus utilisés pour les études de structure de populations. Ils ont notamment été mis en œuvre à La Réunion par l'Institut Français de

Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER) pour l'étude de la structure des populations de tortues vertes (Bourjea et al. 2007) et de l'espadon dans le sud-ouest de l'océan Indien (Jean et al. 2006). C'est dans ce cadre de la RNM que l'Association Parc Marin de La Réunion (APMR) a sollicité l'IFREMER de La Réunion pour mener une étude préliminaire visant à évaluer l'efficacité de l'outil génétique dans la compréhension de la dynamique locale et régionale des principales espèces commerciales présentes dans les eaux de la RNM. Une première phase a consisté à dresser un état de l'art des travaux réalisés en génétique sur 8 familles de poissons de récif d'intérêt commercial à La Réunion (Jean 2007), à partir duquel les espèces et marqueurs génétiques ont été identifiées pour la réalisation des tests au cours de l'étude de faisabilité. Les trois espèces sont *Lutjanus kasmira*, *Myripristis berndti* et *Epinephelus merra*. La seconde phase de cette étude préliminaire a donc consisté à réaliser l'échantillonnage, les manipulations génétiques et l'analyse des résultats. Au total, 420 poissons (les trois espèces confondues) auront été échantillonnés dans trois îles du Sud-Ouest de l'Océan Indien (la Réunion, Mayotte et Glorieuses) et analysés avec les marqueurs génétiques : cytochrome b pour tous et microsatellites, seulement pour *E. merra*.

2 Matériel et Méthodes

Afin de pouvoir comparer la structure génétique des populations des trois espèces de poissons étudiés, une stratégie d'échantillonnage et d'analyse similaire a été adoptée. Le maximum d'informations méthodologiques est présenté dans ce chapitre.

2.1 Echantillonnage

Les poissons ont été échantillonnés dans trois sites du Sud-Ouest de l'Océan Indien, deux initialement déterminés dans le cadre de l'étude de faisabilité (La Réunion et Mayotte) et un troisième rajouté au projet (Glorieuses). Concernant chacun des sites, les échantillons ont été réalisés :

- A La Réunion : grâce à des collectes ponctuelles de novembre 2007 à avril 2008 (principalement acheté aux pêcheurs) ;
- A Mayotte : dans le cadre d'une mission spécialement dédiée à cet échantillonnage en mars 2008 (Arrêté préfectoral portant sur l'autorisation exceptionnelle de pêche à des fins scientifiques n° 96/AM/2008 du 27 février 2008);
- Aux îles Glorieuses : dans le cadre d'une mission scientifique IFREMER/KELONIA dédiée aux tortues marines en mai 2008 (Autorisation de prélèvements scientifiques aux Glorieuses n°2008-29 du 18 avril 2008).

Pour ces trois sites et dans la mesure du possible, un prélèvement de 50 poissons a été effectué (les effectifs réalisés sont présentés dans le tableau 1).

Tableau 1. Taille des échantillons par espèce et par site.

	Réunion (RUN)	Mayotte (MAY)	Glorieuses (GLO)	TOTAL
<i>Lutjanus kasmira</i>	40	60	33	133
<i>Myripristis berndti</i>	47	52	30	129
<i>Epinephelus merra</i>	120	10	31	161

Pour chaque individu, un petit morceau de muscle de la partie dorsale (environ 0,5 cm³) et un petit morceau de nageoire (dorsale ou pectorale) contenant au moins deux épines reliées par du tissu ont été prélevés et placés dans de l'éthanol à 90% pour conservation. L'ADN de l'ensemble de ces échantillons a été extrait grâce à des kits d'extraction Qiagen©.

2.2 Polymorphisme nucléotidique mitochondrial

2.2.1 Manipulations

Les amplifications du gène mitochondrial de la Cytochrome B (CytB) ont été réalisées grâce à des amorces pré-existantes : pour *E. merra* avec les amorces de Marko *et al.* (2004), et pour *L. kasmira* et *M. berndti* avec les amorces CytbH (Song *et al.* 1998) et CytbR (Taberlet *et al.* 1992).

Les réactions d'amplification (par réaction de polymérisation en chaîne ou PCR) se font dans les mêmes conditions pour les trois espèces, soit dans 27 µl contenant 1X de tampon, 1.5 mM de MgCl₂, 30 µM de chaque dNTP, 0,4 µM de chaque amorce, 0,1 U de Taq-Polymérase et environ 25 ng d'ADN. La réaction d'amplification comporte 40 cycles à trois températures (40 sec à 94°C, 50 sec à 54°C et 40 sec à 72°C) compris entre une phase de dénaturation initiale (7 min à 94°C) et une phase d'élongation finale (7 min à 72°C). Un

contrôle d'amplification est réalisé par électrophorèse sur gel d'agarose (1% dans TBE 1X, visualisation grâce au Bromure d'Ethidium).

Les réactions de purification et séquençage des fragments amplifiés sont confiées aux services de Genoscreen. Afin de valider l'information, la qualité de chacune des séquences est vérifiée visuellement et les erreurs (pics anormaux sur le chromatogramme, différences entre le chromatogramme et la séquence au format texte) sont corrigées en comparant les brins positif et négatif, permettant d'obtenir une séquence unique, de qualité, par individu. L'ensemble des séquences est aligné grâce au programme Clustal W (Thompson et al. 1994) intégré au programme BioEdit (Hall 1999).

2.2.2 Analyses statistiques

Les variations génétiques observées sur le marqueur mitochondrial sont le polymorphisme de séquences (nombre et distribution des substitutions nucléotidiques). Le terme d'haplotype correspond à une séquence nucléotidique, qui peut être commune à plusieurs individus, mais diffère des autres haplotypes par une ou plusieurs substitution de nucléotides. Un haplotype privé est un haplotype qui ne se retrouve que dans une seule population.

Les relations entre individus, haplotypes ou espèces sont visualisées via la construction d'arbres, par agglomération des plus proches voisins (arbres dits de « Neighbor-joining » = NJ (Saitou & Nei 1987)), basée sur un calcul de matrice de distances génétiques qui a pour objectif la minimisation de la longueur totale de l'arbre. La distance utilisée est celle du Kimura-2p (= 2 paramètres) qui intègre le fait que les transitions et les transversions ne sont pas équiprobables lors de l'évolution des séquences, notamment pour l'ADN mitochondrial où les transitions peuvent représenter 90% des mutations (Kimura 1980). La construction des arbres est effectuée grâce au logiciel Mega 2.1 (Kumar et al. 2001). Afin d'enraciner ces arbres (= replacer nos données dans un contexte historique et géographique plus important), les séquences de cytochrome b existant préalablement pour ces espèces ou des espèces proches ont été récupérées sur GenBank.

Les relations entre haplotypes peuvent également être appréhendées par la construction de réseaux d'haplotypes (Figure 1). Les réseaux de lien moyen (Bandelt et al. 1999), choisis dans cette étude, intègrent l'information contenue dans plusieurs arbres d'envergure minimale ; les connexions ne se font pas que sur les haplotypes présents dans l'échantillonnage mais également sur des haplotypes manquants, augmentant ainsi la diversité du réseau. Ces réseaux d'haplotypes sont construits grâce au logiciel Network 4.1 (disponible à : www.fluxus-technology.com). La construction de ces réseaux est basée sur la théorie de la coalescence (Kingman 2000). Cette théorie consiste en une approche rétrospective qui décrit mathématiquement le processus de fusion binaire de tous les lignages généalogiques d'un échantillon de gènes jusqu'à leur plus proche ancêtre commun.

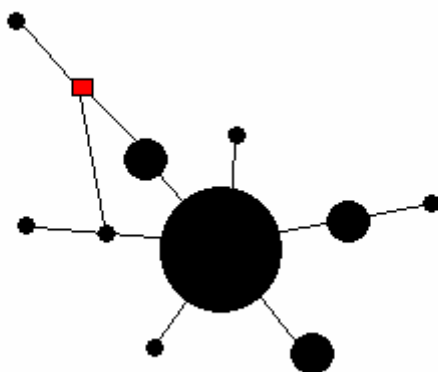


Figure 1. Exemple de réseau d'haplotypes. Chaque cercle correspond à un haplotype ; la taille du cercle est proportionnelle à la fréquence de l'haplotype dans le jeu de données. La longueur des segments entre chaque haplotype est proportionnelle au nombre de mutations qui les sépare (pas mutationnels). Le carré rouge symbolise un haplotype non détecté durant l'étude mais nécessaire à la construction du réseau (haplotypes manquants ou perdus par dérive au cours de l'évolution).

Les diversités haplotypique et nucléotidique sont estimées pour chaque population grâce au programme DNA_{SP} 4.0 (Rozas et al. 2003). La diversité haplotypique (Hd) définit la probabilité que deux gènes tirés au hasard dans un échantillon soient identiques (Nei 1987) et prend en compte le nombre d'individus ainsi que la fréquence des haplotypes. La diversité nucléotidique π mesure la divergence nucléotidique moyenne entre toutes les paires de séquences d'un même échantillon (Tajima 1983) ; elle définit la probabilité que deux gènes tirés au hasard dans un échantillon soient différents au niveau d'un nucléotide donné.

Le programme DNA_{SP} 4.0 (Rozas et al. 2003) est également utilisé pour calculer différents tests de neutralité, notamment les valeurs de D de Tajima (1989). La statistique D est basée sur une comparaison de deux estimateurs de θ (mesure du polymorphisme attendu dans une séquence). Lorsque le polymorphisme génétique s'explique par un équilibre entre la mutation et la dérive, alors les deux paramètres sont égaux et le D de Tajima est nul. Au contraire, un excès de variants peu divergents (une ou deux bases de divergence) entraîne un D de Tajima négatif ; cet excès peut être dû à un balayage sélectif (apparition et propagation rapide d'un mutant avantageux dans la population) ou à une expansion démographique récente. Un excès de variants intermédiaires entraîne un D de Tajima positif ; cet excès peut être dû à un effet de sélection balancée (maintien d'allèles avantageux ancestraux) ou à une diminution démographique (goulot d'étranglement génétique).

Les valeurs de différenciation génétique par paire de populations (F_{st}) ainsi que les probabilités associées sont estimées grâce au logiciel Arlequin 2.0 (Schneider et al. 2001).

2.3 Microsatellites (uniquement pour *E. merra*)

2.3.1 Manipulations

Des microsatellites existaient préalablement pour des Serranidae, permettant des test d'amplification interspécifiques: sur les 12 paires d'amorces commandées, 6 amplifient l'ADN dont 2 loci s'avèrent monomorphes, laissant 4 loci exploitables. Si les données sont analysées ci-dessous, il est très important de noter que la puissance et la robustesse statistique des analyses effectuées avec 4 loci seulement est grandement insuffisante (Vaha & Primmer 2006). Le développement de nouvelles amorces est donc à envisager dans le cadre d'une étude à plus vaste échelle.

Les amplifications des loci microsatellites ont donc été réalisées grâce aux amorces pré-existantes : Pm2 et Pm10 (Zhu et al. 2005); Rh3 et Rh8 (Ramirez et al. 2006). Les réactions d'amplification (par réaction de polymérisation en chaîne ou PCR) se font dans les mêmes conditions pour tous les loci, soit dans 20 μ l contenant 1X de tampon, 1.5 mM de MgCl₂, 30 μ M de chaque dNTP, 0,4 μ M de chaque amorce (l'une des deux amorces est marquée avec un fluorochrome), 0,1 U de Taq-Polymérase et environ 25 ng d'ADN. La réaction d'amplification comporte deux phases de 10 et 30 cycles à trois températures (40 sec à 94°C, 50 sec à TM°C et 40 sec à 72°C) compris entre une phase de dénaturation initiale (7 min à 94°C) et une phase d'élongation finale (35 min à 72°C). Les 10 premiers cycles constituent une phase de « touch-down » avec 1°C de moins à chaque nouveau cycle sur la température d'hybridation (soit de 62 à 54°C) puis 30 cycles à 54°C. Un contrôle d'amplification est réalisé par électrophorèse sur gel d'agarose (1% dans TBE 1X, visualisation grâce au Bromure d'Ethidium).

La lecture des génotypes se fait grâce à la détection du fluorochrome par un séquenceur à capillaire ABI3100 ; cette partie du travail a été réalisé au Cirad (Centre 3P de Saint-Pierre). L'ensemble des génotypes est ensuite analysé grâce au logiciel GeneMapper 4 (Applied Biosystems).

2.3.2 Analyses statistiques

Différents descripteurs statistiques sont calculés afin de mieux cerner la diversité génétique qui caractérise les populations de chaque espèce : le nombre moyen d'allèles par locus ainsi que la richesse allélique (nombre moyen d'allèles par locus, estimé pour une taille de population théorique, commune à l'ensemble des populations : elle permet une comparaison plus fiable de la diversité entre populations). Le calcul des fréquences alléliques permet ensuite d'estimer les écarts entre l'hétérozygotie observée et l'hétérozygotie attendue non biaisée selon Nei (1987). L'ensemble de ces paramètres, sauf la richesse allélique (estimateur indépendant de la taille de l'échantillon) estimée par FSTAT 2.9 (Goudet, 1995), est calculé grâce au logiciel Genepop 3.3 (Raymond & Rousset, 1995). Le logiciel Genetix 4.02 (Belkhir et al., 2000) permet d'effectuer des Analyse Factorielles des Correspondances (AFC) sur les génotypes individuels.

La déviation par rapport aux proportions d'Hardy-Weinberg (structure attendue dans une population panmictique) est estimée au sein de chaque population par le calcul du F_{is} (Wright, 1969). Le niveau de différenciation génétique par paire de populations est estimé grâce au calcul de l'estimateur q de Weir & Cockerham (1984). Les valeurs de F_{is} et de θ sont calculées avec le logiciel Genetix 4.02 (Belkhir et al., 2000) de même que leur significativité, évaluée par la méthode des permutations aléatoires.

3 Résultats

3.1 Données des séquences mitochondriales communes aux trois espèces

Quelque soit l'espèce, les fragments amplifiés font environ 800pb. L'ensemble des mutations observées sont des mutations dites synonymes, c'est-à-dire que, du fait de la redondance du code génétique, elles n'entraînent aucune modification de la séquence protéique.

3.2 Analyses des séquences de *L. kasmira*

Sur les 119 séquences de *L. kasmira* obtenues, 40 haplotypes ont pu être identifiés dont un haplotype central (l'état dit *ancestral* ; voir Figure 2) équitablement réparti entre les 3 populations. L'espèce présente néanmoins une forte diversité haplotypique (Tableau 2), avec la plupart des haplotypes divergents directement (à un ou deux pas mutationnels) de l'haplotype ancestral (Figure 2). Cette structure dite « en étoile » est caractéristique des populations en expansion ; ceci semble cohérent avec les valeurs de D de Tajima, négatives et significatives pour chaque population indépendamment, ou calculée pour l'ensemble des individus (Tableau 2). Les diversités haplotypiques et nucléotidiques sont assez importantes avec de nombreux haplotypes uniques et quelques haplotypes partagés, aussi bien entre îles voisines qu'entre îles éloignées, néanmoins plus faible à GLO que dans les populations de MAY et RUN (Tableau 2).

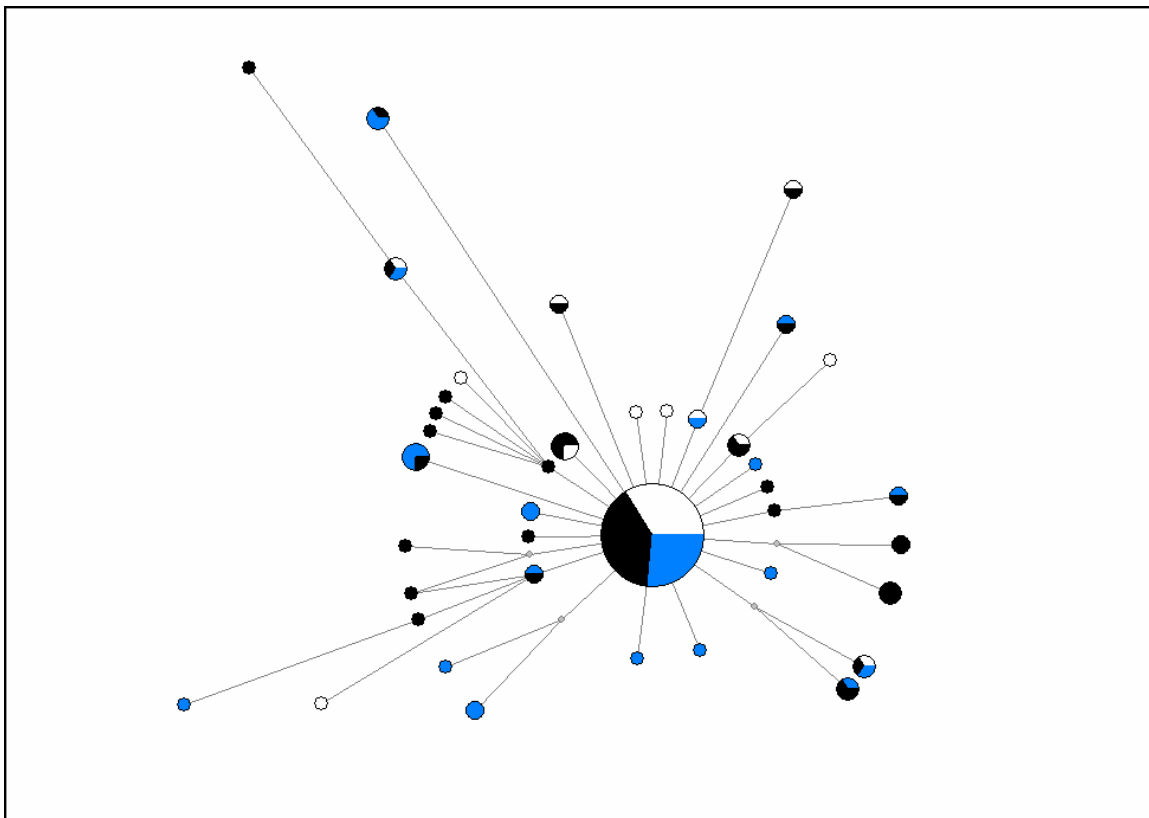


Figure 2. Réseau d'haplotypes représentant les relations évolutives minimales entre les différents haplotypes de *L. kasmira*. Le code couleur permet de visualiser la répartition géographique de ces haplotypes : GLO en blanc, MAY en noir et RUN en bleu. Les ronds gris symbolisent des haplotypes non détectés durant l'étude mais nécessaires à la construction la plus parcimonieuse du réseau.

Tableau 2. Diversité génétique des 3 populations de *L. kasmira* (avec N = nombre d'individus séquencés, $Nhap$ = nombre d'haplotypes, Hd = diversité haplotypique, π = diversité nucléotidique, $D Taj.$ = valeur de D de Tajima, et p = probabilité associée au D de Tajima).

	N	$Nhap$	Hd	π	$D Taj.$	p
GLO	30	13	0,648	0,0019	-2,41	0,01
MAY	53	26	0,841	0,0028	-2,37	0,01
RUN	36	18	0,846	0,0030	-2,33	0,01
TOT	119	40	0,798	0,0027	-2,44	0,01

Les relations entre ces différents haplotypes de *L. kasmira* et les espèces voisines de Lutjanidae sont illustrées sur la Figure 3. La divergence qui existe entre les 40 haplotypes est largement inférieure à 1%, de même qu'avec l'individu DQ784758, échantillonné dans la région Indo-Pacifique (Miller & Crib, 20000). Les divergences avec les espèces proches sont de l'ordre de 3% pour *L. notatus* à 15% pour *L. fulvus*.

Bien qu'aucune des valeurs de différenciation par paire de population (Fst) ne soit significative, les niveaux de différenciation qui existent entre ces trois populations ne sont pas semblables (Tableau 3). Ainsi, alors qu'aucune différenciation ne semble exister entre MAY et RUN, le niveau de différenciation qui existe entre RUN et GLO est le double de celui entre RUN et MAY. Le niveau d'isolement génétique ne semble pas très important entre les localités du Sud-Ouest de l'Océan Indien pour cette espèce, pas plus important pour deux îles voisines (GLO et MAY) que pour des îles éloignées (avec RUN).

Tableau 3. Différenciation génétique par paire de populations de *L. kasmira* (= Fst) : les valeurs de Fst et les valeurs de probabilité associées sont indiquées respectivement au -dessous et au-dessus de la diagonale.

	GLO	MAY	RUN
GLO	-	0,108	0,079
MAY	0,013	-	0,628
RUN	0,021	-0,005	-

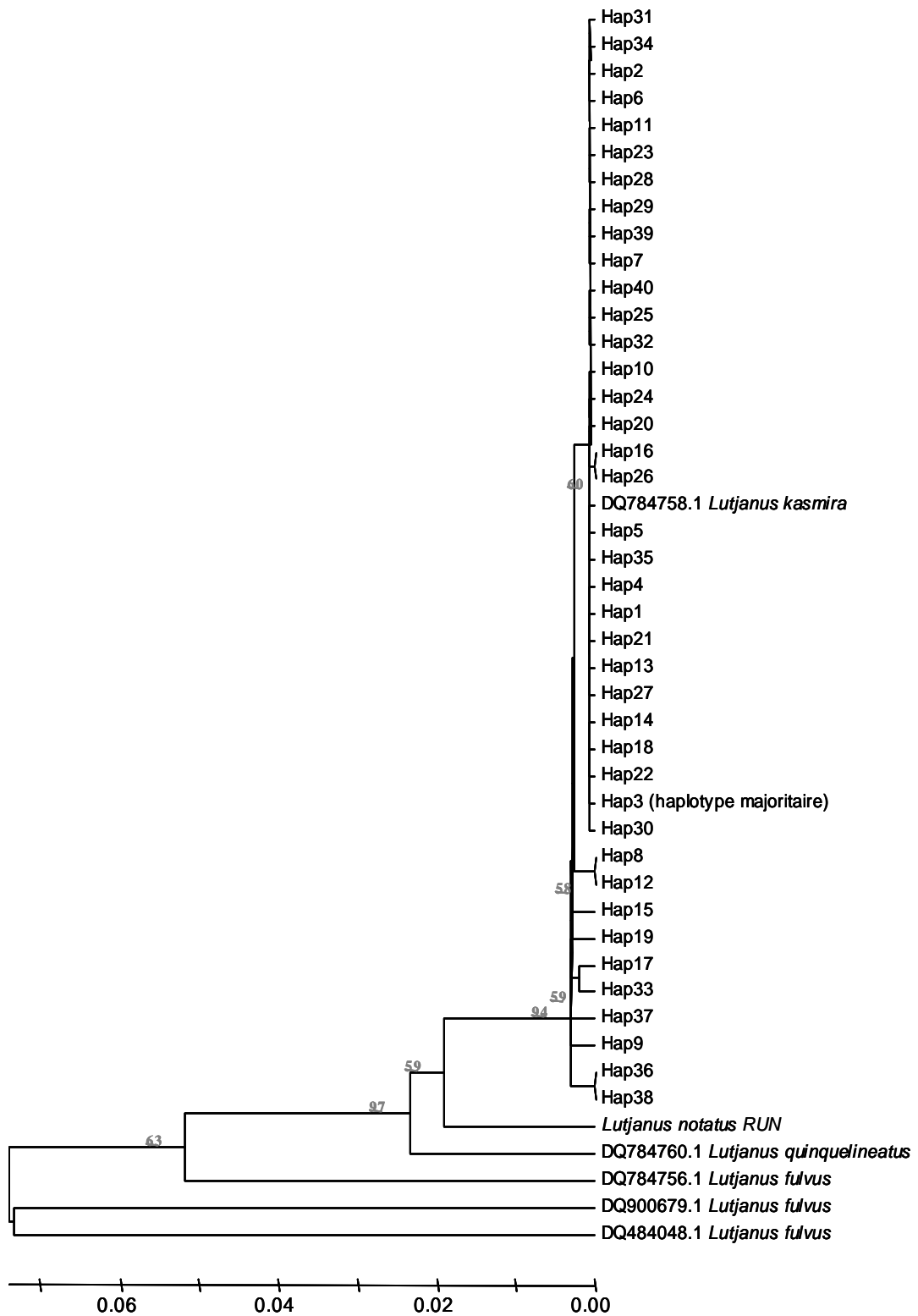


Figure 3. Arbre de Neighbor-Joining illustrant les relations existantes entre les haplotypes identifiés au sein des échantillons de *L. kasmira* et les espèces voisines. Les haplotypes notés DQ# correspondent aux différentes séquences récupérées sous GenBank. Les valeurs de « bootstraps » supérieures à 50% sont indiquées en gris à côté de chaque embranchement concerné.

3.3 Analyses des séquences de *M. berndti*

Sur les 117 séquences de *M. berndti* obtenues, 37 haplotypes ont pu être identifiés dont un haplotype principal (voir Figure 4), équitablement réparti entre RUN et MAY, plus faiblement représenté à GLO. Les diversités haplotypiques sont assez importantes, notamment à GLO du fait de la plus faible proportion de l'haplotype principal (Tableau 4). La structure du réseau (Figure 4) apparaît plus complexe avec de nombreux haplotypes divergents directement (à un ou deux pas mutationnels) de l'haplotype ancestral mais surtout l'existence d'une branche fortement divergente (jusqu'à 7 pas mutationnels de l'haplotype ancestral). Ceci semble cohérent avec des valeurs de D de Tajima, certes négatives mais non-significatives pour 2 des 3 populations, et faiblement significative pour l'ensemble des individus (Tableau 4). Ces éléments sont la trace d'une rétention de diversité ancestrale et donc la preuve d'une histoire de colonisation plus ancienne que pour *L. kasmira*.

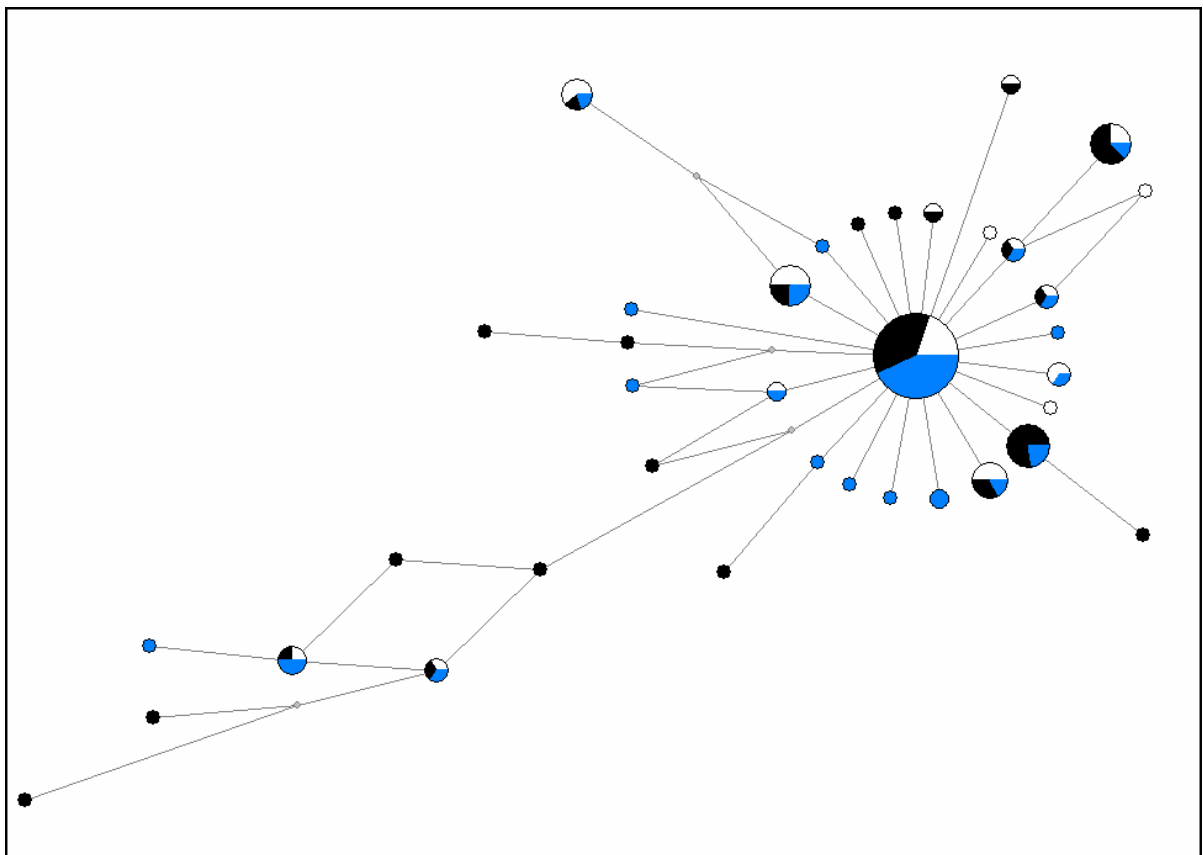


Figure 4. Réseau d'haplotypes représentant les relations évolutives minimales entre les différents haplotypes de *M. berndti*. Le code couleur permet de visualiser la répartition géographique de ces haplotypes : GLO en blanc, MAY en noir et RUN en bleu. Les ronds gris symbolisent des haplotypes non détectés durant l'étude mais nécessaires à la construction la plus parcimonieuse du réseau.

Tableau 4. Diversité génétique des 3 populations de *M. berndti* (avec N = nombre d'individus séquencés, $Nhap$ = nombre d'haplotypes, Hd = diversité haplotypique, π = diversité nucléotidique, $D Taj.$ = valeur de D de Tajima, et p = probabilité associée au D de Tajima).

	N	$Nhap$	Hd	π	$D Taj.$	p
GLO	31	16	0,925	0,0032	-1,66	nonS
MAY	42	23	0,894	0,0036	-1,69	nonS
RUN	44	21	0,864	0,0028	-2,02	0,05
TOT	117	37	0,892	0,0032	-1,86	0,05

Les relations entre les différents haplotypes de *M. berndti* et les espèces voisines de Myripristidinae sont illustrées sur la Figure 5. La divergence qui existe entre les 37 haplotypes est largement inférieure à 1%, de même qu'avec les individus de *M. berndti* DQ#, échantillonnés dans la région Indo-Pacifique (Craig et al. 2007). Les divergences avec les espèces proches sont de l'ordre de 10% avec *M. chryseres* ou *M. jacobus*. L'haplotype majoritaire dans la présente étude est l'haplotype Hap2, identique à l'haplotype DQ868395-H3, sur la partie de séquence commune aux deux échantillons. Cet haplotype DQ868395-H3 s'avérait minoritaire dans la zone Pacifique mais majoritaire dans l'échantillon des Seychelles (Craig et al., 2007), révélant ainsi une cohérence entre le jeu de données actuel et l'étude préalable de Craig *et al.* (2007), centrée sur la zone Pacifique. L'arbre présente en fait deux sous-groupes au sein de l'espèce, chaque sous-groupe présentant à la fois des individus du Sud-Ouest de l'Océan Indien et des individus de la zone Indo-Pacifique.

Bien qu'aucune des valeurs de différenciation par paire de population (F_{st}) ne soit significative, les niveaux de différenciation qui existent entre ces trois populations ne sont pas semblables (Tableau 5). Ainsi, alors qu'aucune différenciation ne semble exister entre MAY et les 2 autres populations, le niveau d'isolement génétique semble nettement plus important entre RUN et GLO, bien que non-significatif.

Tableau 5. Différenciation génétique par paire de populations de *M. berndti* (= F_{st}) : les valeurs de F_{st} et les valeurs de probabilité associées sont indiquées respectivement au -dessous et au-dessus de la diagonale.

	GLO	MAY	RUN
GLO	-	0,638	0,119
MAY	-0,005	-	0,447
RUN	0,013	-0,001	-

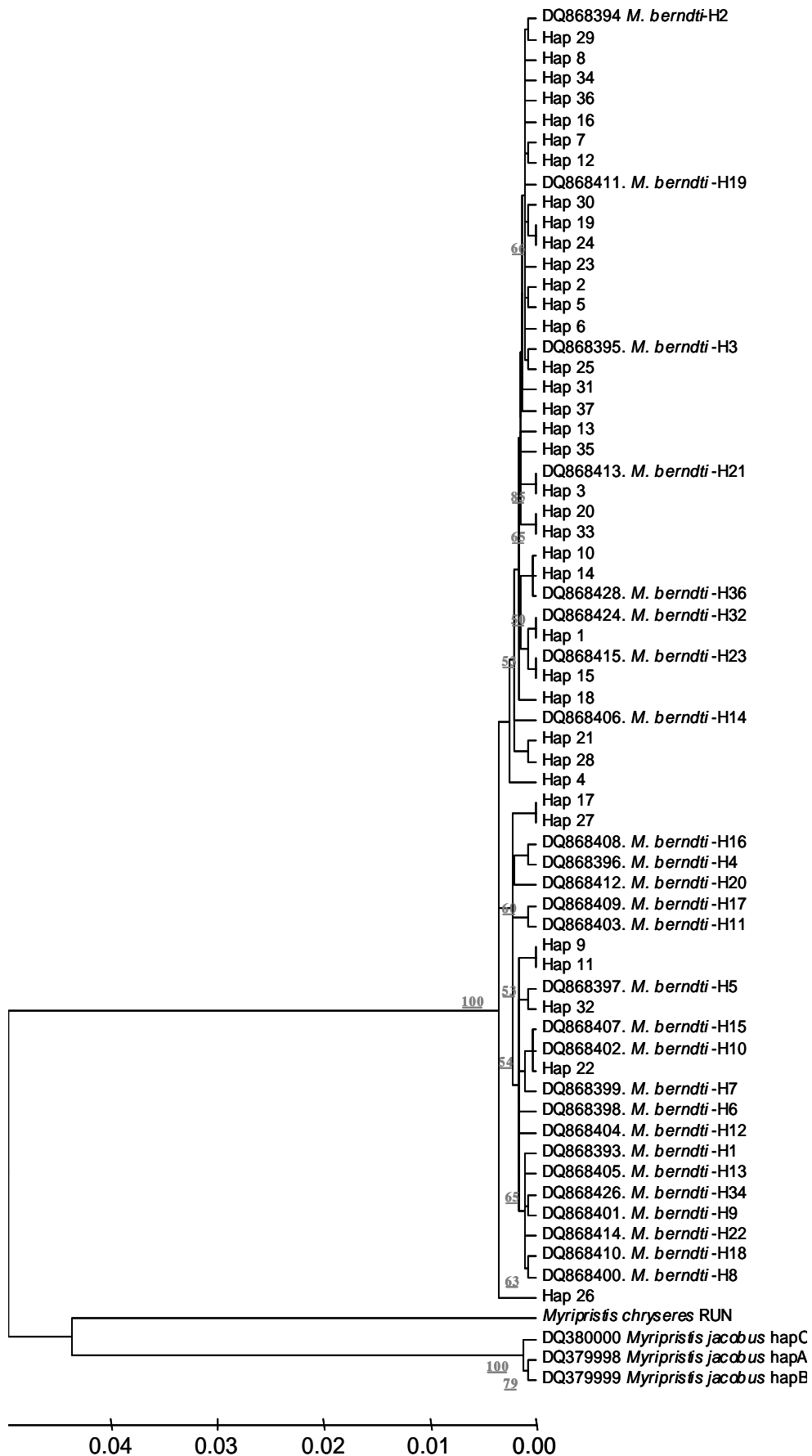


Figure 5. Arbre de « Neighbor-Joining » illustrant les relations existantes entre les haplotypes identifiés au sein des échantillons de *M. berndti* et les espèces voisines. Les haplotypes notés DQ# correspondent aux différentes séquences récupérées sous GenBank. Les valeurs de « bootstraps » supérieures à 50% sont indiquées en gris à côté de chaque embranchement concerné.

3.4 Analyses des séquences de *E. merra*

Sur les 125 séquences de *E. merra* obtenues, 26 haplotypes ont pu être identifiés dont un haplotype principal (voir Figure 6), majoritairement représenté à RUN (du fait de fortes inégalités dans la taille des échantillons). En dépit de cette grande taille d'échantillon, la diversité haplotypique est relativement faible à RUN, de 0,65 contre 0,88 à GLO (Tableau 6). La structure du réseau (Figure 6) apparaît plus complexe avec quelques haplotypes divergents directement (à un ou deux pas mutationnels) de l'haplotype principal mais surtout l'existence d'une branche divergente (jusqu'à 4 pas mutationnels de l'haplotype ancestral), importante en terme d'effectif et présentant une répartition géographique des haplotypes qui la constituent hétérogène. Ceci semble cohérent avec des valeurs de D de Tajima, certes négatives mais non-significatives pour 2 des 3 populations, et faiblement significative pour l'ensemble des individus (Tableau 6). Ces éléments sont la trace d'une rétention de diversité ancestrale et donc la preuve d'une histoire de colonisation plus ancienne que pour *L. kasmira* et plus similaire à celle de *M. berndti*.

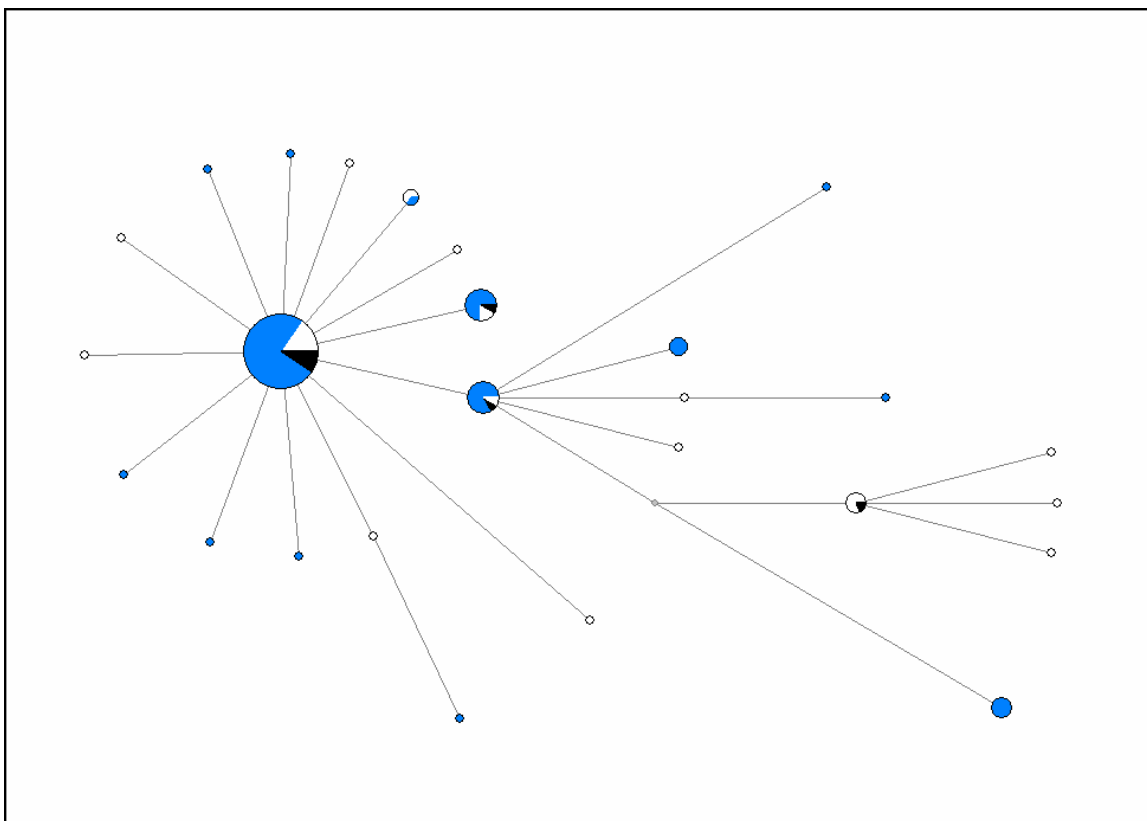


Figure 6. Réseau d'haplotypes représentant les relations évolutives minimales entre les différents haplotypes d'*E. merra*. Le code couleur permet de visualiser la répartition géographique de ces haplotypes : GLO en blanc, MAY en noir et RUN en bleu. Les ronds gris symbolisent des haplotypes non détectés durant l'étude mais nécessaires à la construction la plus parcimonieuse du réseau.

Tableau 6. Diversité génétique des 3 populations d'*E. merra* (avec N = nombre d'individus séquencés, $Nhap$ = nombre d'haplotypes, Hd = diversité haplotypique, π = diversité nucléotidique, $D Taj.$ = valeur de D de Tajima, et p = probabilité associée au D de Tajima).

	N	$Nhap$	Hd	π	$D Taj.$	p
GLO	30	16	0,878	0,0028	-1,51	nonS
MAY	9	4	0,583	0,0016	-1,15	nonS
RUN	86	14	0,652	0,0013	-1,88	0,05
TOT	125	26	0,687	0,0018	-2,09	0,05

Les relations qui existent entre ces différents haplotypes d'*E. merra* et les espèces voisines d'Epinephelidés sont illustrées sur la Figure 7. La divergence qui existe entre les 26 haplotypes est largement inférieure à 1%, l'ensemble des haplotypes constituant un groupe homogène. Contrairement au cas de *L. kasmira* et *M. berndti*, les relations entre espèces semblent beaucoup moins claires. Ainsi sur les 2 séquences d'*E. merra* récupérées sous Genbank (2 échantillons asiatiques), seule 1 se place à la base du groupe constitué des haplotypes de la présente étude ; l'autre séquence se retrouve dans un second clade présentant une divergence de l'ordre de 15 %. Si certaines espèces comme *E. marginatus* montre une relative homogénéité, les espèces comme *E. tauvina* ou *E. spilotoceps* présentent des divergences intraspécifiques égales ou supérieures aux divergences interspécifiques. Ces résultats soulèvent le problème conséquent de l'identification morphologique et des débats taxinomiques chez ces mérus.

Les niveaux de différenciation par paire de population (F_{st}) qui existe entre les trois populations d'*E. merra* ne sont pas semblable (Tableau 7) : alors qu'aucune différenciation ne semble exister entre MAY et RUN, le niveau de différenciation qui existe entre RUN et GLO (significatif) est le quadruple de celui entre RUN et MAY.

Tableau 7. Différenciation génétique par paire de populations d'*E. merra* (= F_{st}) : les valeurs de F_{st} et les valeurs de probabilité associées sont indiquées respectivement au -dessous et au-dessus de la diagonale. La valeur significative est indiquée en gras.

	GLO	MAY	RUN
GLO	-	0,997	0,007
MAY	0,011	-	0,719
RUN	0,048	-0,041	-

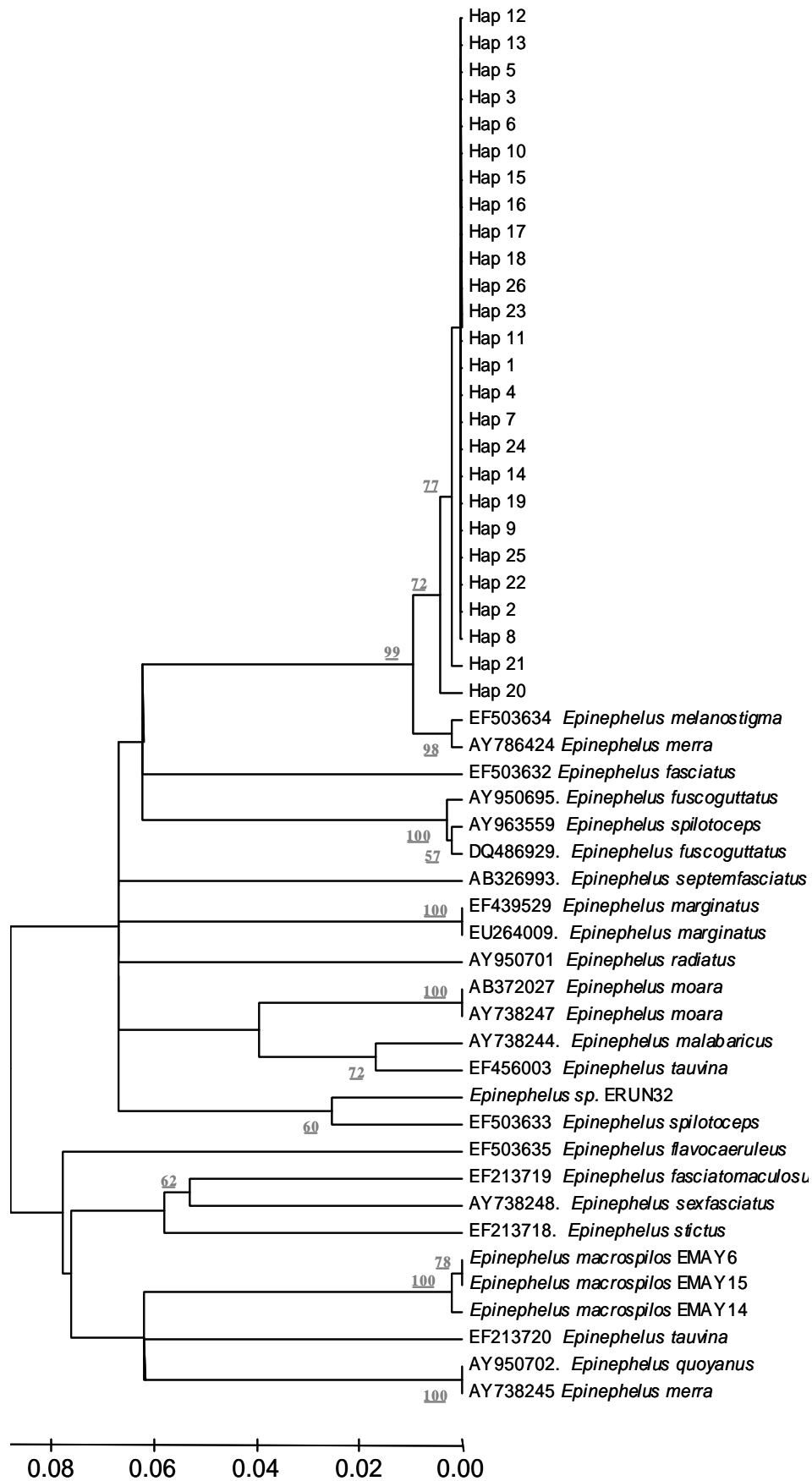


Figure 7. Arbre de « Neighbor-Joining » illustrant les relations existantes entre les haplotypes identifiés au sein des échantillons d'*E. merra* et les espèces voisines. Les haplotypes notés AY#, EF#, EU#, AB# et DQ# correspondent aux séquences récupérées sous GenBank provenant de différentes études. Les valeurs de « bootstraps » supérieures à 50% sont indiquées en gris à côté de chaque embranchement concerné.

3.5 Synthèse & Comparaison des résultats mitochondriaux pour les 3 espèces

3.5.1 Histoire de la colonisation de la zone d'étude

Les analyses du polymorphisme mitochondrial fournissent des pistes intéressantes sur l'histoire de l'expansion géographique de chaque espèce. Des divergences intraspécifiques faibles (< 1%) et des valeurs D de Tajima négatives définissent chaque espèce. En l'absence d'effet sélectif, ces caractéristiques suggèrent une récente augmentation de la taille des populations. Cette récente explosion démographique pourrait être due à la colonisation de nouveaux territoires après le dernier maximum glaciaire (LGM, -23 Ka), comme cela a déjà été démontré chez de nombreuses espèces. Les organismes récifaux dont les habitats principaux sont les lagons ou les eaux peu profondes sont supposés voir leur aire de répartition diminuer et/ou se déplacer durant les périodes glaciaires (Daly 1915). *A contrario*, la fonte des glaces permet l'apparition de nombreux habitats vides et le déploiement rapide des espèces depuis leur dernier refuge glaciaire vers de nouveaux habitats (Hewitt 2000). Les trois espèces semblent néanmoins présenter des patrons de colonisation différents.

La configuration en étoile du réseau d'haplotypes pour *L. kasmira* avec peu de pas mutationnels suggère que les séquences ont divergé récemment, et que la plupart des mutations observées est majoritairement due à des diversifications postérieures au dernier maximum glaciaire. L'absence de divergence avec l'échantillon de la région Indo-Pacifique permet d'envisager une expansion à l'échelle du bassin océanique dans sa totalité. Les structures plus complexes des réseaux d'haplotypes de *M. berndti* et *E. merra* suggèrent une rétention de diversité ancestrale et donc une expansion plus limitée. Les valeurs du D de Tajima sont d'ailleurs plus faibles que pour *L. kasmira*. L'arbre de NJ d'*E. merra* montre que tous les individus de la zone appartiennent à un même sous-ensemble, indépendant des échantillons asiatiques, tandis que l'arbre NJ de *M. berndti* montre l'existence de deux sous-groupes, chacun constitué d'un mélange hétérogène d'individus du Sud-Ouest de l'Océan Indien et d'individus de la zone Indo-Pacifique. Ainsi, si ces deux espèces portent la signature d'une rétention du polymorphisme ancestral, il semble que l'échelle soit plus restreinte pour *E. merra*, à l'échelle du bassin Indien, que pour *M. berndti* (polymorphisme partagé entre bassins océaniques).

Des histoires de colonisation contrastées entre espèces appartenant à un même habitat peuvent s'expliquer par des caractéristiques biologiques différentes. De ces trois espèces, *E. merra* est la plus inféodée au lagon (les deux autres espèces se trouvant plus facilement sur la pente externe), et donc potentiellement celle qui aurait dû le plus souffrir d'une baisse du niveau des eaux durant le LGM. Or il semble que ce soit *L. kasmira* qui ait été le plus impacté. Une des hypothèses pour l'expliquer repose sur le mode de développement de ces espèces. Si *M. berndti* et *E. merra* présentent un cycle de vie avec une phase de vie larvaire pélagique, la phase dispersive de *L. kasmira* est assurée par des œufs pélagiques. Ainsi la passivité des œufs pélagiques aurait pu engendrer une dispersion sur de plus longues distances depuis la fin de la période glaciaire, mais à l'inverse aurait amplifié l'impact de la phase glaciaire (absence de réactivité face à une modification d'habitat, à l'inverse des 2 autres espèces dont le comportement actif des larves permet une plus grande amplitude de réactions). Comme l'énonçaient Bermingham & Moritz (1998), des approches comparatives utilisant des espèces de différents embranchements, inféodées au même type d'habitat mais présentant des modes de vie contrastés, semblent être un outil très pertinent pour mieux identifier les événements de vicariance et ainsi appréhender l'histoire plus ou moins ancienne des espèces et son rôle dans la structure actuelle des populations.

3.5.2 Comparaison des niveaux de différenciation entre les 3 espèces

Bien que seule une des valeurs de différenciation génétique par paire de populations F_{st} soit significative, certaines tendances peuvent être observées. Ainsi quelque soit l'espèce considérée, les valeurs les plus importantes (avec des valeurs de probabilité les plus faibles) sont systématiquement rencontrées entre GLO et RUN, deux sites relativement éloignés (Figure 8). De façon beaucoup plus surprenante, les différences entre MAY et RUN sont toutes négatives, et donc plus faibles que celles observées entre GLO et MAY. Ainsi la proximité géographique relative de MAY et GLO, par opposition à l'éloignement de la RUN, ne suffit pas à homogénéiser les pools génétiques. Il semble au contraire que, quelque soit l'espèce, le site de GLO garde la trace de l'histoire d'une colonisation différente.

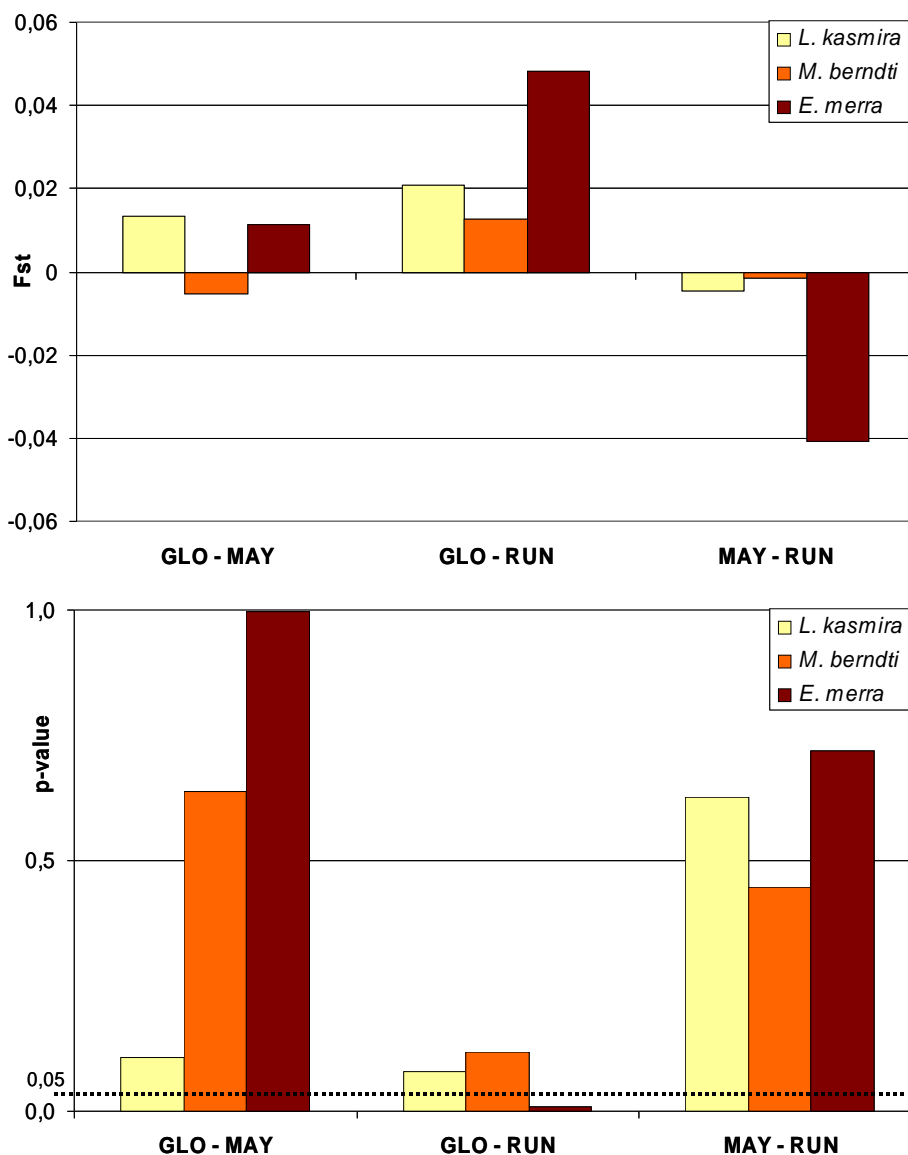


Figure 8. Représentation graphique des valeurs de différenciation génétique F_{st} calculée par paires de populations (graphe du haut) et de leur valeur de probabilité associée (graphe du bas) pour chacune des trois espèces

3.6 Données microsatellites des échantillons de *E. merra*

Les loci utilisés s'avèrent hautement polymorphes, avec un nombre d'allèles variant de 14 à 24, avec une richesse allélique moyenne de 10,1 (Tableau 8). Les richesses alléliques sont assez similaires entre les populations de GLO et RUN mais pas pour MAY (par exemple, une très faible diversité au locus RH8). Les déficits en hétérozygotes sont hautement significatifs dans toutes les populations. Les valeurs monocus et multilocus de *Fis* sont présentées dans le Tableau 8. Les 4 loci contribuent aux déficits en hétérozygotes.

Tableau 8. Diversité génétique des 3 populations de *E. merra* (avec N = nombre d'individus séquencés, R_s = richesse spécifique, H_{att} = hétérozygotie attendue, H_{obs} = hétérozygotie observée, Fis = et p = probabilité associée au test).

	(N)	GLO	MAY	RUN
PM2	R_s	8,0	10,6	8,4
	H_{att}	0,772	0,865	0,845
	H_{obs}	0,567	0,615	0,734
	Fis	0,270	0,297	0,132
PM10	R_s	6,4	7,9	6,4
	H_{att}	0,746	0,862	0,731
	H_{obs}	0,548	0,692	0,477
	Fis	0,268	0,203	0,349
RH8	R_s	15,0	5,8	12,7
	H_{att}	0,944	0,566	0,912
	H_{obs}	0,733	0,231	0,641
	Fis	0,226	0,602	0,299
RH2	R_s	8,8	11,0	9,0
	H_{att}	0,713	0,877	0,732
	H_{obs}	0,655	0,462	0,460
	Fis	0,083	0,484	0,373
Multiloci	R_s	9,6	8,8	9,1
	H_{att}	0,794	0,792	0,805
	H_{obs}	0,626	0,500	0,578
	p	***	***	***
	Fis	0,214	0,367	0,284
	p	***	***	***

Les valeurs de différenciation génétique par paire de populations, calculées selon l'estimateur θ de Weir & Cockerham (1984), sont présentées dans le Tableau 9. La différenciation est nulle entre GLO et RUN alors que les valeurs de différenciation qui incluent le site MAY sont hautement significatives ($p < 0,001$), à l'inverse du patron observé avec les séquences mitochondriales.

Tableau 9. Différenciation génétique par paire de populations d'*E. merra* (= F_{st}) : les valeurs de F_{st} et les valeurs de probabilité associées sont indiquées respectivement au - dessous et au-dessus de la diagonale. Les valeurs significatives sont indiquées en gras.

	GLO	MAY	RUN
GLO	-	0,000	0,192
MAY	0,082	-	0,000
RUN	0,000	0,089	-

Les valeurs de différenciation génétique de même que les écarts entre les richesses spécifiques peuvent mieux être comprises si on regarde en détail les fréquences alléliques, présentées dans le Tableau 10. La forte proportion de l'allèle Pm2-206 peut ainsi justifier en partie les niveaux de différenciation observé. Ces différences sont aussi visualisables lorsque la variance associée aux fréquences génotypiques des trois populations est synthétisée par une AFC (Figure 9). Les trois populations se ségréguent dans l'espace de façon assez franche, avec notamment sur l'axe 1 une opposition entre la population de MAY et d'autre part les populations de RUN et GLO qui synthétisent plus de 80% de la variance.

Tableau 10. Fréquences alléliques au sein des trois populations d'*E. merra* pour chacun des 4 loci.

locus	allèle	GLO	MAY	RUN	locus	allèle	GLO	MAY	RUN	
PM2	162	-	0,04	-	PM10	152	-	-	0,02	
	166	-	-	0,03		158	-	0,08	-	
	168	0,42	0,27	0,23		160	-	0,12	-	
	170	0,10	0,04	0,14		162	0,03	0,04	0,09	
	172	0,03	0,04	0,02		166	-	0,08	0,02	
	174	0,05	0,04	0,04		168	0,21	0,23	0,09	
	176	0,20	0,23	0,21		170	0,34	0,23	0,40	
	178	0,02	-	0,02		172	0,32	0,19	0,31	
	186	0,10	-	0,19		174	0,02	-	-	
	188	0,05	-	0,03		176	0,02	0,04	-	
	190	0,02	0,04	0,08		178	0,03	-	0,05	
	192	-	0,08	-		182	0,02	-	-	
	194	0,02	-	0,02		186	0,02	-	0,02	
	204	-	0,08	-		188	-	-	0,02	
	206	-	0,15	-						
RH8	190	-	-	0,01	RH2	184	-	0,08	-	
	194	-	0,62	-		192	0,02	-	0,02	
	196	0,02	-	-		196	-	0,08	-	
	198	0,07	0,27	0,19		204	-	0,04	-	
	200	0,02	-	-		208	0,02	0,04	0,02	
	202	0,05	-	0,03		212	-	-	0,01	
	204	0,08	0,04	0,06		216	0,09	0,23	0,02	
	206	0,02	-	0,02		220	0,07	0,08	0,03	
	208	0,07	0,04	0,05		224	-	-	0,04	
	210	0,08	-	0,09		228	0,52	0,27	0,49	
	212	0,08	0,04	0,05		232	0,05	0,04	0,06	
	214	0,03	-	0,06		236	0,10	0,04	0,09	
	216	0,13	-	0,11		240	0,03	0,04	0,10	
	218	0,05	-	0,13		242	-	-	0,02	
	220	0,08	-	0,07		244	0,05	0,08	0,06	
	222	0,03	-	0,02		248	0,02	-	0,05	
	224	0,08	-	0,02		252	0,03	-	-	
	226	0,03	-	0,01						
	228	0,03	-	0,04						
230	-	-	0,02							
232	-	-	0,03							
234	-	-	0,01							
236	0,02	-	-							
238	0,02	-	-							

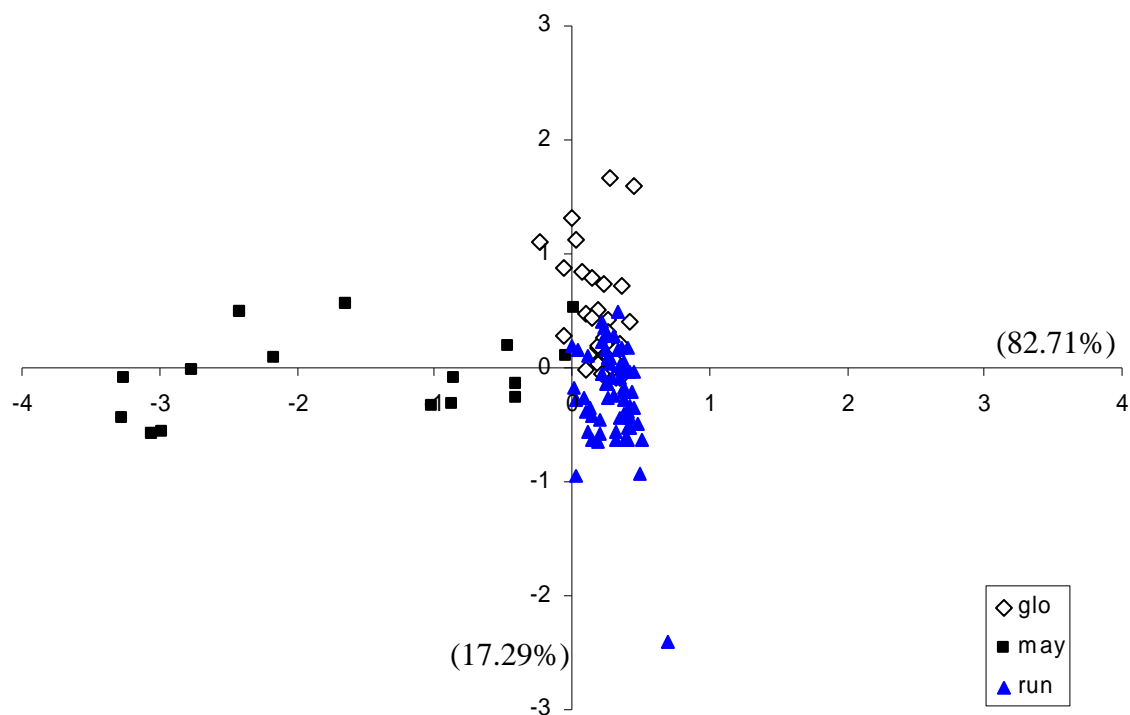


Figure 9. Analyses factorielle des correspondances synthétisant la variance génétique sur la base des fréquences génotypiques en fonction des sites d'échantillonnage.

Ces patrons de différenciation (bien que statistiquement à prendre avec beaucoup de précaution du fait du faible nombre de loci et d'individus à MAY) sont intéressants à deux titres :

- en soi, car ils témoignent d'un isolement actuel de la population de MAY. Les deux autres populations semblent plus connectées mais la Figure 9 montre néanmoins que les deux populations présentent des différences. Les échanges présenteraient-ils des gradients d'intensité? En fonction des courants marins ?
- par contraste avec les résultats mitochondriaux. En effet, les deux marqueurs génétiques présentent des structures complètement opposées : existe-t-il un lien avec une différence de comportement agrégatif de reproduction entre mâles et femelles ? Est-ce plutôt dû à l'histoire de colonisation ?

L'état actuel d'avancement du projet ne permet pas d'aller plus loin dans les interprétations des résultats. Ceci montre cependant bien que la compréhension des patrons de connectivité à l'échelle du SOOI ne pourra se faire que par l'utilisation conjointe de deux types de marqueurs génétiques, et ce sur diverses espèces.

4 Bilan du projet & perspectives

Cette étude préliminaire a permis de tester les protocoles d'échantillonnage en fonction des espèces ciblées, de définir l'approche méthodologiques et de mieux identifier les hypothèses et résultats pouvant être obtenus d'un travail de génétique de populations sur des espèces de poissons récifaux. Du fait du faible nombre d'échantillons et de populations ciblées, les résultats et les scénarios de connectivité présentés dans ce rapport sont à prendre avec une certaine précaution. Néanmoins, ils permettent de visualiser l'intérêt que peut présenter la génétique des populations aussi bien dans la connaissance de l'histoire évolutive des espèces que des échanges actuels entre populations. Continuer l'échantillonnage et l'analyse génétique de ces espèces permettrait donc de préciser l'histoire de colonisation des îles dans le Sud-Ouest de l'Océan Indien, de comprendre l'origine de la biodiversité locale et de resituer La Réunion en terme de biodiversité dans son contexte régional. En outre, l'utilisation d'un second marqueur génétique (de type nucléaire, tels les microsatellites) sur l'ensemble des espèces permet(tra) de mieux quantifier les échanges actuels entre les différentes localités. Travailler conjointement avec différents types de marqueurs et des espèces avec des cycles de vie contrastés permet de dissocier la part intrinsèque et extrinsèque à la biologie et l'écologie de l'espèce dans les patrons de connectivité. Dans le cas de La Réunion, l'utilisation de deux marqueurs dont un marqueur plus fin comme les microsatellites, permettrait d'accroître la finesse des interprétations à l'échelle locale. Travailler sur différents sites autour de l'île et cibler des états larvaires *versus* adultes permettraient de comprendre (1) les relations existant entre les différentes cohortes colonisant la Réunion, et (2) les éventuels échanges entre les différents sites échantillonnés.

La perspective est donc de continuer le projet en agrandissant la couverture spatiale, de l'Afrique du Sud aux Seychelles, de la côte est africaine à l'île Maurice, sur les trois espèces de la présente étude. En effet, augmenter le nombre de sites étudiés permettrait d'accroître la robustesse des interprétations, et faciliterait le dessin de carte de connectivité moyenne sur la zone Sud-Ouest de l'Océan Indien. Par contre, s'il est envisageable d'échantillonner quelques espèces de plus dans le cadre de cette approche, le traitement génétique de l'ensemble des échantillons risquerait de devenir vite ingérable. C'est pourquoi il est important de faire des efforts dans la mise en place d'un réseau fort de coopération avec les organismes de recherche et de gestion des pays riverains qui travaillent sur les mêmes thématiques. C'est dans cette optique que des rapprochements ont été effectués avec les instituts de recherche du Kenya, de Maurice, d'Afrique du Sud.

Enfin, l'apport complémentaire d'un modèle hydrodynamique permettrait d'effectuer des simulations de dispersion larvaire et d'émettre des hypothèses quant à l'influence des courants, et des conditions météorologiques (moyennes et exceptionnelles) sur les flux entre populations. Ce genre de modèle est de plus en plus intégré au dessin des aires marines protégées (James et al. 2002). Une approche couplée permettrait de répondre encore plus précisément aux attentes des gestionnaires.

Remerciements :

Cette étude a pu être réalisée en grande partie grâce au soutien financier du TCO, complété par un financement IFREMER.

Une petite pensée aussi à toutes les personnes qui ont aidé à l'échantillonnage, notamment Hendrick Sauvignet, Julien Wickel et Romain Bochart.

5 Références bibliographiques

- Ahamada S, Bijoux J, Bigot L, Cauvin B, Koonjul M, Maharavo J, Meunier S, Moyne-Picard M, Quod JP, Pierre-Louis R (2004) Status of the coral reefs of the South West Indian Ocean Island States. In: Wilkinson CR (ed) Status of Coral Reefs of the World, Vol 1. Global Coral Reef Monitoring Network and Australian Institute of Marine Science, Townsville: AIMS, p 79-100
- Allison GW, Lubchenco J, Carr MH (1998) Marine reserves are necessary but not sufficient for marine conservation. *Ecological Applications (Supplement)* 8:79-92
- Almany GR, Berumen ML, Thorrold SR, Planes S, Jones GP (2007) Local replenishment of coral reef fish populations in a marine reserve. *Science* 316:742-744
- Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biological Evolution* 16:37-48
- Bellwood DR, Hughes TP (2001) Regional-scale assembly rules and biodiversity of coral reefs. *Science* 292:1532-1534
- Bermingham E, Moritz C (1998) Comparative phylogeography: concepts and applications. *Mol Ecol* 7:367-369
- Bourjea J, Lapegue S, Gagnevin L, Broderick D, Mortimer JA, Ciccione S, Roos D, Taquet C, Grizel H (2007) Phylogeography of the green turtle, *Chelonia mydas*, in the Southwest Indian Ocean. *Mol Ecol* 16:175-186
- Bowen B, Bass A, Muss A, Carlin J, Robertson D (2006) Phylogeography of two Atlantic squirrelfishes (Family Holocentridae): exploring links between pelagic larval duration and population connectivity. *Mar Biol* 149
- Chabanet P, Dufour V, Galzin R (1995) Disturbance impact on reef fish communities in Reunion Island (Indian Ocean). *J Exp Mar Biol Ecol* 188:29-48
- Chabanet P, Tessier E, Durville P, Mulochau T, Rene F (2002) Peuplement ichtyologique des bancs de Geysier et Zélée (océan Indien occidental). *Cybium* 26
- Craig T, Eble JA, Bowen BW, Robertson DR (2007) High genetic connectivity across the Indian and Pacific Oceans in the reef fish *Myripristis berndti* (Holocentridae). *Mar Ecol Prog Ser* 334:245-254
- Daly RA (1915) The glacial-control theory of coral reefs. *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences* 51:155-251
- Durville P, Bosc P, Galzin R, Conand C (2002) Colonization of a fringing reef of Reunion Island by coral fish larvae.
- Colonisation d'un réif frangeant de l'île de La Réunion par les larves de poissons coralliens. *Oceanol Acta* 25:23-30
- Francis RC, Hixon MA, Clarke ME, Murawski SA, Ralston S (2007) Ten Commandments for Ecosystem-Based Fisheries Scientists. *Fisheries* 32:217-233
- Hall TA (1999) BioEdit : a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acid Symposium Series* 41:95-98
- Hewitt G (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* 405:907-913
- James MK, Armsworth PR, Mason LB, Bode L (2002) The structure of reef fish metapopulations: modelling larval dispersal and retention patterns. *Proc R Soc Lond, B* 269:2079-2086

- Jean C (2007) Etude de faisabilité : contribution de la génétique à l'étude de la dynamique régionale des principales espèces de poissons commerciaux présentes dans la Réserve Naturelle Marine de La Réunion, p 24
- Jean C, Bourjea J, Jouen E, Taquet M (2006) Stock structure of the swordfish (*Xiphias gladius*) in the Southwest Indian Ocean: a preliminary study. *Bull Mar Sci* 79:521-526
- Kaunda-Arara B, Rose GA (2004) Effects of marine reef National Parks on fishery CPUE in coastal Kenya. *Biol Conserv* 118:1-13
- Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* 16:111-120
- Kingman JF (2000) Origins of the coalescent. 1974-1982. *Genetics* 156:1461-1463
- Kumar S, Tamura K, Jakobsen I, Nei M (2001) MEGA2: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software. *Bioinformatics* 17:1244-1245
- Marko PB, Lee SC, Rice AM, Gramling JM, Fitzhenry TM, McAlister JS, Harper GR, Moran AL (2004) Mislabelling of a depleted reef fish. *Nature* 430:309-310
- Nei M (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*, Vol. Columbia University Press, New York
- Paulay G (1997) Diversity and distribution of reef organisms. In: *In: Life and death of coral reefs*, Birkeland (Ed.), Chapman and Hall, London, UK, p 298-373
- Pothin K, Lecomte-Finiger R, Chabanet P, Quod JP (2003) Analyse du recrutement exceptionnel d'*Epinephelus merra* de l'Ile de La Réunion à partir des otolithes. In: *d'Ichtyologie SF* (ed) FIB, Paris
- Ramirez MA, Acevedo JP, Planas S, Carlin JL, Funk SM, McMillan WO (2006) New microsatellite resources for groupers (Serranidae). *Mol Ecol Notes* 6:813-817
- Roberts CM, Hawkins JP, Gell FR (2005) The role of marine reserves in achieving sustainable fisheries. *Philos Trans R Soc Lond B* 360:123-132
- Rozas J, Sanchez-DelBarrio JC, Messeguer X, Rozas R (2003) DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19:2496-2497
- Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biological Evolution* 4:406-425
- Salvat B (1990) Menace et sauvegarde des espèces des récifs coralliens. *Cahiers Outre-Mer* 42:489-501
- Schneider S, Roessli D, Excoffier L (2001) Arlequin (v 2.0): Software for population Genetics Data Analysis. Genetics and Biometry Laboratory, Department of Anthropology, University of Geneva, Geneva
- Song CB, Near TJ, Page LM (1998) Phylogenetic Relations among Percid Fishes as Inferred from Mitochondrial Cytochrome b DNA Sequence Data. *Mol Phyl Evol* 10:343-353
- Taberlet P, Meyer A, Bouvet J (1992) Unusually large mitochondrial variation in populations of the blue tit, *Parus caeruleus*. *Mol Ecol* 1:27-36
- Tajima F (1983) Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics* 105:437-460
- Tajima F (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585-595
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22:4673-4680
- Vaha J, Primmer C (2006) Efficiency of model-based Bayesian methods for detecting hybrid individuals under different hybridization scenarios and with different numbers of loci. *Mol Ecol* 15:63-72
- Veron JN (1995) *Corals in space and time: the biogeography and evolution of the Scleractinia*, Vol, UNSW Press, Sydney, Australia, 321pp.
- Wilkinson CR (2002) Status of coral reefs of the world, AIMS, Townsville (Australia), p 378
- Zhu ZY, Lo LC, Lin G, Xu YX, Yue GH (2005) Isolation and characterization of polymorphic microsatellites from red coral groupers (*Plectropomus maculatus*). *Mol Ecol Notes* 5:579-581