



08/02/2018

SUPPORT PÉDAGOGIQUE

ÉCHANTILLONNAGE DES GRANDS
PÉLAGIQUES



Natacha Nikolic

ARBRE (AGENCE DE RECHERCHE POUR LA BIODIVERSITE A LA
REUNION)

Table des matières

1. Généralités.....	2
2. Anatomie.....	5
3. Identification des espèces.....	7
4. Fiche technique.....	12
5. Echantillonnage.....	13
5.1. Biométrie	13
Equipements et Matériels.....	13
Mesures des longueurs.....	13
Mesures du poids.....	14
5.2. Génétique	15
Equipements et Matériels.....	15
Protocole.....	15
5.3. Reproduction	16
Equipements et Matériels.....	16
Protocole.....	16
Stade de maturité sexuelle	16
5.4. Otolithe	19
Equipements et Matériels.....	19
Protocole.....	20
5.5. Estomac	22
Equipements et Matériels.....	22
Protocole.....	22
5.6. Microchimie	23
Equipements et Matériels.....	23
Protocole.....	23
6. Schéma récapitulatif de l'échantillonnage.....	23
7. Préparation des solutions	24
7.1. Formaldéhyde 4%	24
7.2. DMSO-Salt	25
8. Références	26

1. Généralités

Un poisson est appelé pélagique (qui signifie *pélagos* en grec) lorsqu'il vit en haute mer entre la surface et le fond, sans contact avec le fond, ou dans les eaux proches de la surface. Les poissons pélagiques ont souvent le dos foncé (bleu-vert allant jusqu'au noir) pour se confondre avec le bleu de l'eau de surface, et ils ont le ventre clair (souvent blanc-argent) pour se confondre avec la lumière pénétrante quand des individus les regardent d'en dessous.

On distingue les petits pélagiques (sardines, anchois, lançons, harengs, etc.), des grands pélagiques comme les thonidés, les marlins, les espadons, les voiliers et les requins.

Dans ce cours, nous aborderons principalement la pêche des thonidés et des porte-épées.

1.1. Thonidés

La dernière estimation mondiale des captures de thonidés est d'environ 7,7 millions de tonnes par an pour leur capture totale (FAO, 2016). Ces captures proviennent pour la plus grande partie de l'océan Pacifique (voir Figure 1. Exemple de la répartition mondiale de 4 espèces de thonidés les plus pêchées dans les régions tropicales). Une liste des espèces de thonidés principales pêchées dans l'océan Indien vous est fournie ci-dessous avec les noms français, anglais et scientifiques (Table 1).

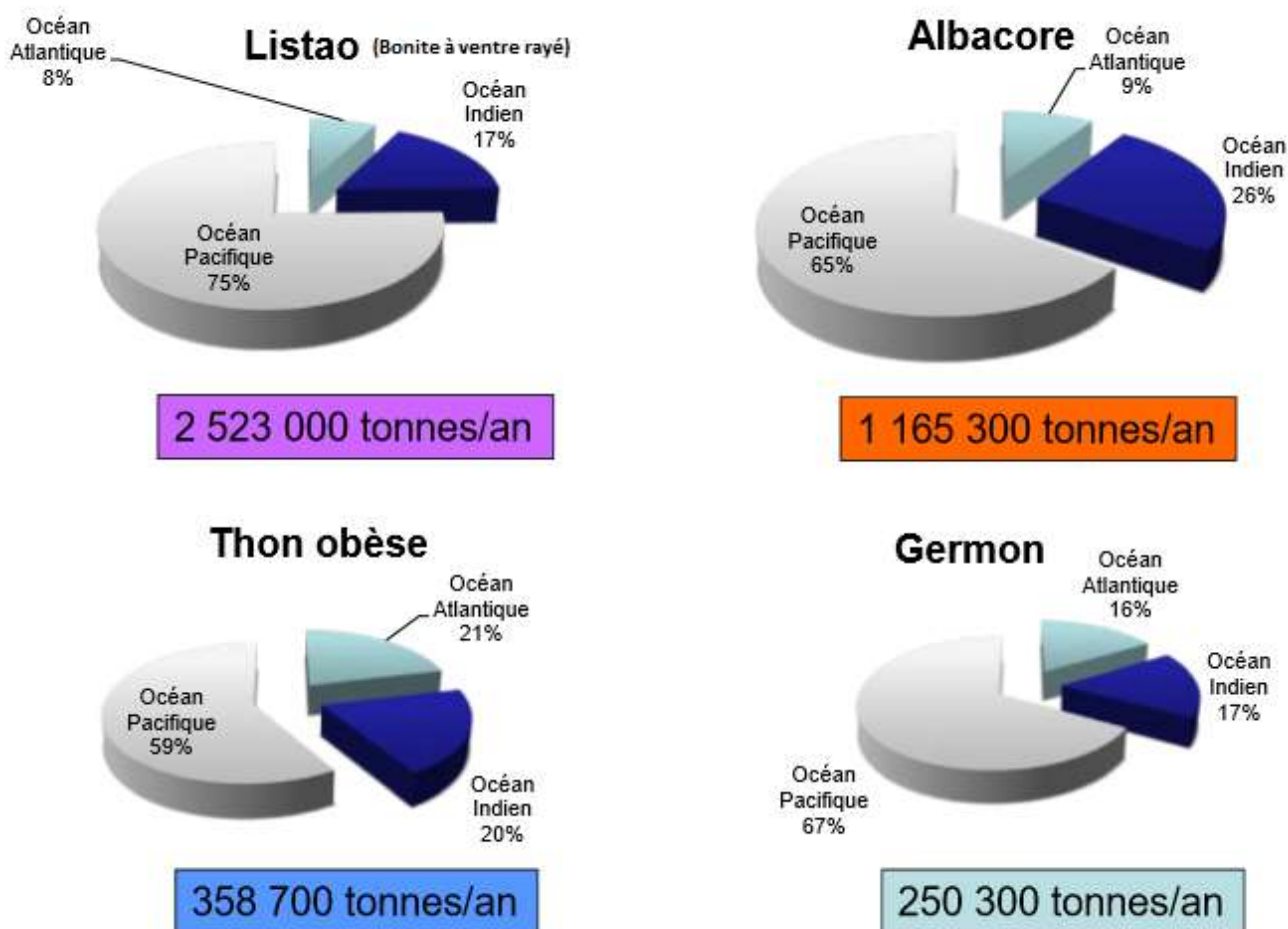


Figure 1. Répartition des pêches thonières mondiales (source : cours de Marc Taquet (IFREMER), CRIOBE).

Table 1. Liste des principales espèces de thonidés pêchées dans l'océan Indien.

Nom Français	Autres noms français	Nom anglais	Nom latin	Code FAO
Thon albacore	Thon à nageoires jaunes; Thon jaune	Yellowfin tuna	<i>Thunnus albacares</i>	YFT
Thon obèse	Patudo; Thon rouge; Thon gros yeux	Bigeye tuna	<i>Thunnus obesus</i>	BET
Thon germon	Thon blanc; Thon bâtard	Albacore tuna	<i>Thunnus alalunga</i>	ALB
Thon banane	Thazard-bâtard; thazard noir	Wahoo	<i>Acanthocybium solandri</i>	WAH
Thon listao	Bonite à ventre rayé; Bonite Kalou	Skipjack tuna	<i>Katsuwonus pelamis</i>	SKJ
Thonine orientale	Bonite de l'Inde; Bonite de la côte ; Bonite à dos rayé	Kawakawa	<i>Euthynnus affinis</i>	KAW
Thon à dents de chien	Thon noir; Bonite à gros yeux	Dogtooth tuna	<i>Gymnosarda unicolor</i>	DOT
Thazards	-	Seerfishes	<i>Scomberomorus spp (commerson et guttatus)</i>	KGX

1.2. Porte-épées

Ces poissons se caractérisent par une excroissance osseuse au niveau du museau appelée rostre. On distingue deux familles : les Istiophoridés (11 espèces) et les Xiphiidés (1 espèce – l’espadon). Depuis les années 60s, les porte-épées ont été de plus en plus exploités. Ces dernières décennies, l’espadon est l’une des espèces les plus pêchées avec plus de 90 millions de tonnes chaque année (Figure 2). Une liste des espèces de porte-épées principales pêchées dans l’océan Indien vous est fournie ci-dessous avec les noms français, anglais et scientifiques (Table 2).

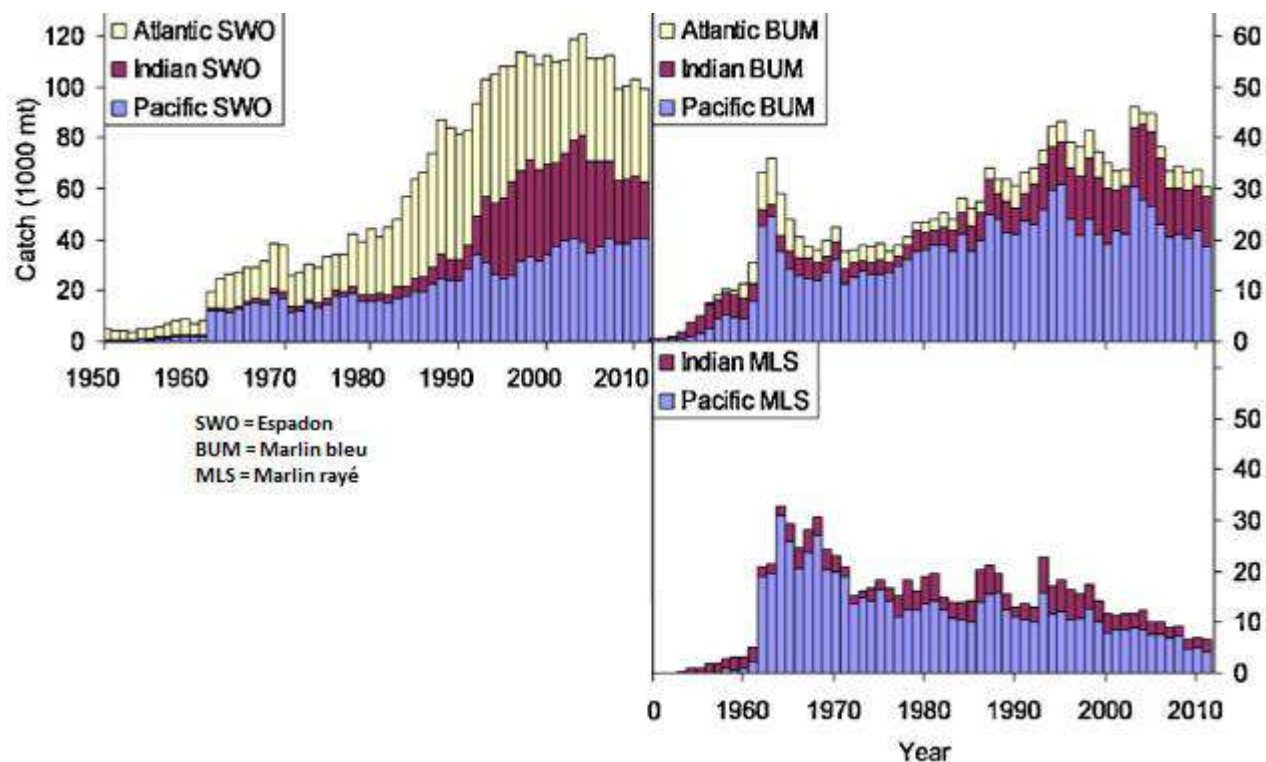


Figure 2. Evolution des pêches d’espadon (SWO), de marlin bleu (BUM), de marlin rayé (MLS) (Punt et al. 2015).

Table 2. Liste des principales espèces de porte-épées pêchées dans l’océan Indien.

Nom Français	Autres noms français	Nom anglais	Nom latin	Code FAO	Taille max (cm)
Espadon	Lamprèr royal	Swordfish	<i>Xiphias gladius</i>	SWO	450
Marlin rayé	Marlin rayé Lamprère	Striped marlin	<i>Kajikia audax</i>	MLS	340
Marlin bleu	Lamprèr	Blue marlin	<i>Makaira nigricans</i>	BUM	430
Marlin noir	Lamprère noir Chameau	Black marlin	<i>Istiompax indica</i>	BLM	460
Voilier de l'Indo-Pacifique	Espadon voilier Voilier Lévantay	Indo-pacific sailfish	<i>Istiophorus platypterus</i>	SFA	320
Makaire à rostre court	Lancier	Shortbill spearfish	<i>Tetrapturus angustirostris</i>	SSP	230

2. Anatomie

2.1. Extérieure

- **Ligne latérale :**

Organe sensoriel qui leur permet de détecter les mouvements (eau et individus, notamment utile pour former des bancs) et les changements de pression.

- **Pinnules :**

Nageoires modifiées réduisant le tourbillon d'eau déplacé par le mouvement de la nageoire caudale. Ils sont présents chez les poissons pélagiques (nageurs puissants) comme les thons, les bonites, les maquereaux, les carangues, etc. Tous les poissons pélagiques n'en possèdent pas, par exemple le marlin ou l'espadon disposent de carènes.

- **Carène latérale :**

Arête modifiée sur le pédoncule caudale qui offre une stabilité de nage notamment chez de nombreux poissons pélagiques rapides.

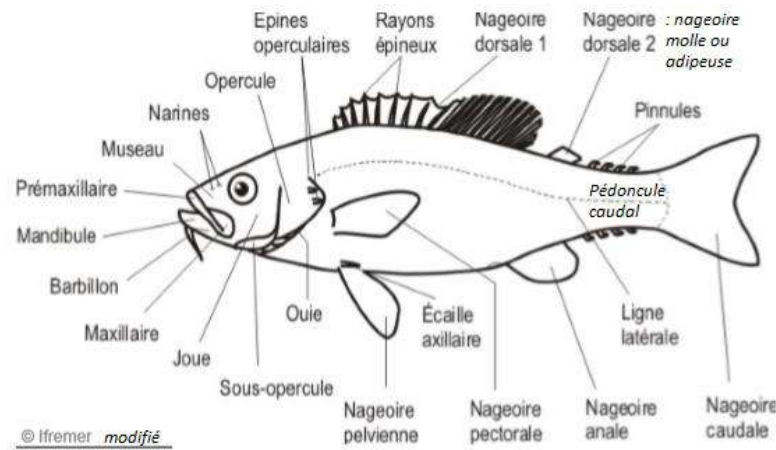


Figure 3. Anatomie extérieure d'un « poisson osseux ».

2.2. Intérieure

- **Cœur :**

Organe musculaire assurant la circulation sanguine.

- **Branchies :**

Organes respiratoires et excréteurs (quatre paires) formés chacun de deux feuillets filamenteux; en circulant sur la branchie l'eau échange oxygène et ammonium avec elle.

- **Estomac :**

Partie dilatée du tube digestif précédant l'intestin, destinée à recevoir les aliments pour les digérer.

- **Cæcum pylorique :**

Conduit du tube digestif où s'opèrent notamment une partie de la digestion ainsi que des fermentations.

- **Intestin :**

Partie du tube digestif allant de l'estomac à l'anus, où se complète l'absorption des éléments nutritifs et où les déchets sont transformés en matières fécales.

- **Vessie natatoire**

Organe rempli de gaz qui contribue à contrôler la flottabilité pour rester à la profondeur voulue dans l'eau sans avoir à gaspiller de l'énergie dans la nage.

- **Foie :**

Viscère sécrétant notamment une substance (bile) contribuant à la digestion.

- **Rate :**

Organe du système circulatoire où sont détruites les impuretés du sang.

- **Rein :**

Organe assurant l'élimination des déchets métaboliques et le maintien de la pression des fluides internes.

- **Orifice uro-génital :**

Ouverture commune des voies génitale et urinaire, permettant l'évacuation de l'urine et des gamètes.

- **Uretère :**

Conduit qui part des reins et transporte l'urine vers la vessie. Ne pas confondre avec l'urètre qui est le canal de sortie de la vessie (fonction excrétrice).

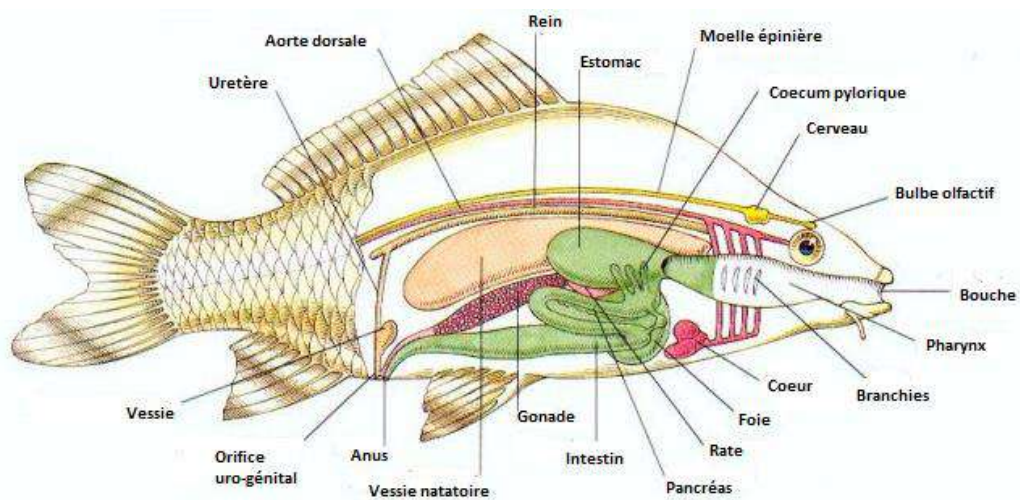


Figure 4. Anatomie intérieure d'un « poisson osseux »
(source modifiée : https://fr.wikipedia.org/wiki/Anatomie_des_poissons)



Figure 5. Organes échantillonnés. Exemple d'un thon germon mâle.

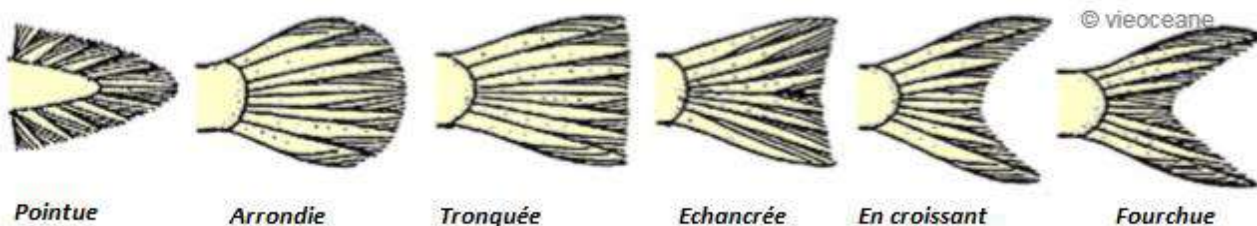
3. Identification des espèces

3.1. Critères d'identification

Un manuel d'identification des espèces capturées principalement par les pêcheurs réunionnais (Evano 2017) permet l'identification des principales espèces de thonidés (page 14), de poisson à rostre (page 20) et de requin (Page 32) régulièrement pêchés dans l'ouest de l'océan Indien. Nous recommandons ainsi la lecture de ce manuel (voir <http://archimer.ifremer.fr/doc/00342/45287/>).

Le manuel d'Evano (2017) rappelle certains de ces critères d'identification.

- Forme de la nageoire caudale



- Forme de la tête et de la bouche.
- Nombre de pinnules, carènes, rayons épineux et mous sur la nageoire, d'écaillés sur la ligne latérale, et de branchiospines.
- Position des nageoires.
- Forme et organisation des dents.
- Forme et taille des yeux et du poisson.
- Couleurs et tâches.

3.2. Exemple d'identification d'espèce

Dans ce rapport, nous présentons des espèces rencontrées par les observateurs et étudiées (donc échantillonnées) par des projets en lien avec les objectifs CTOI (Commission des Thons de l'Océan Indien) et CICTA (Commission Internationale pour la Conservation des Thons Atlantiques). Les images sont issues du protocole d'échantillonnage d'un projet sur la connectivité des espèces de grands pélagiques (CSIRO, AZTI, IRD, et RITF).

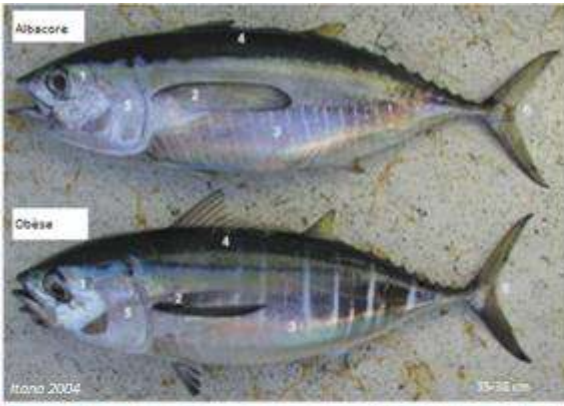
➤ *Thon germon (Thunnus alalunga)*

Facile à reconnaître grâce à sa nageoire pectorale très longue.



Photo : White et al. 2013

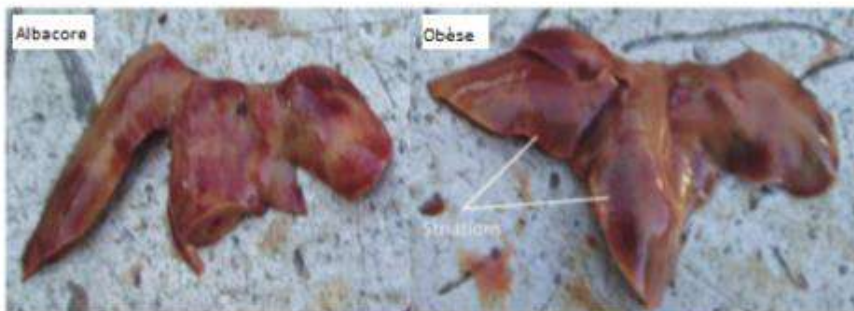
➤ **Thon obèse - patudo (*Thunnus obesus*) et albacore (*T. albacares*)**



	Albacore	Obèse
1		Plus gros yeux
2		Plus longue pectorale allant jusqu'à la deuxième dorsale pour les grands individus
3	Lignes en pointillées plus serrées	Lignes plus régulières et espacées
4	Forme du corps en torpille et plus étroite	Forme du corps plus large
5		Tête plus grande relative à la longueur du corps
6	Fourche plus prononcée	

Foie

Vessie natatoire



Lobe droit plus long et fin

Lobe central plus gros

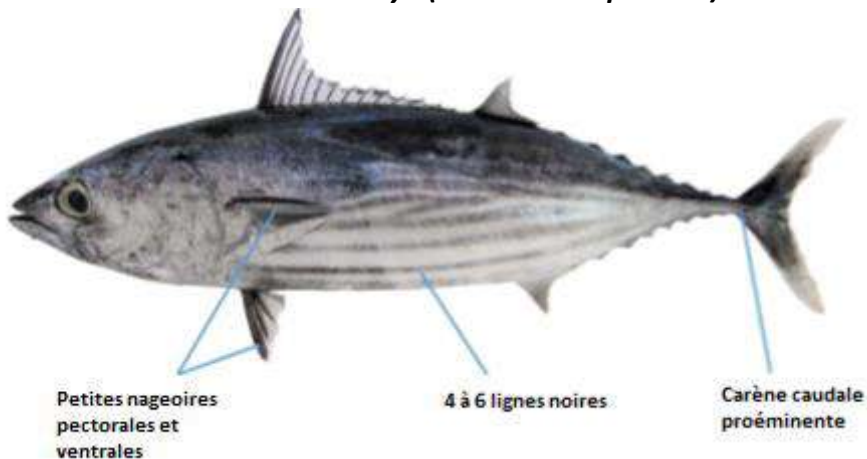
Photos : Fukafuka et Itano 2005



Souvent dégonflée et n'occupe pas toute la cavité antérieure

Visible, gonflée, et occupe toute la cavité du corps

➤ **Thon listao – Bonite à ventre rayé (*Katsuwonus pelamis*)**



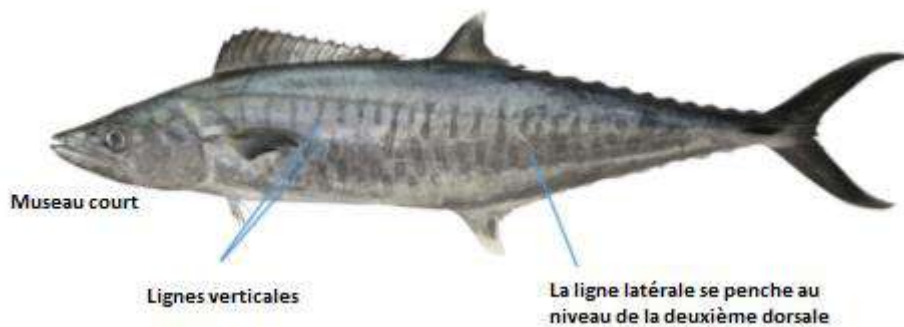
➤ **Thonine orientale - Bonite à dos rayé (*Euthynnus affinis*)**



Photo : White et al (2013) Market fishes of Indonesia

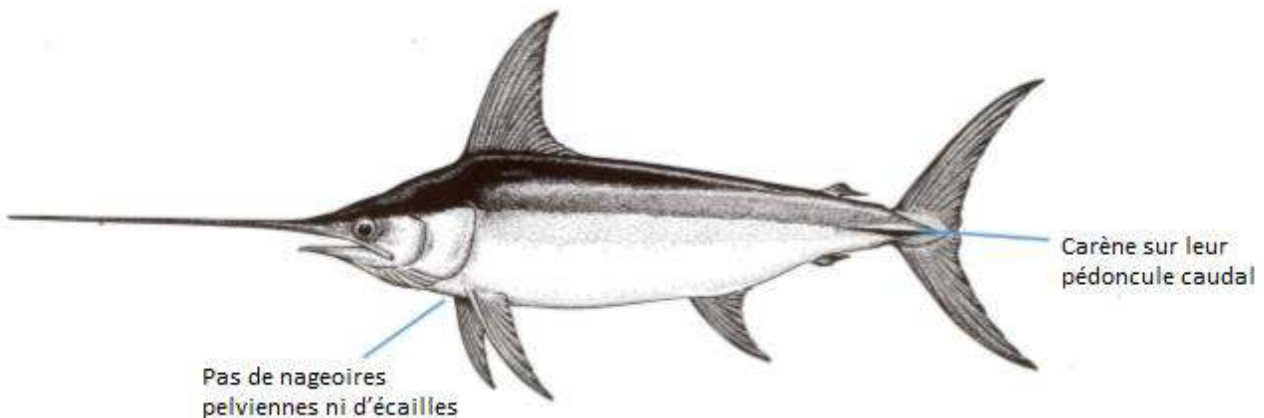
➤ **Thazard (*Scomberomorus commerson*)**

Peut-être confondu avec le Thazard-Bâtard (*Acanthocybium solandri*) mais le Thazard-Bâtard a un museau plus long par rapport à la tête.

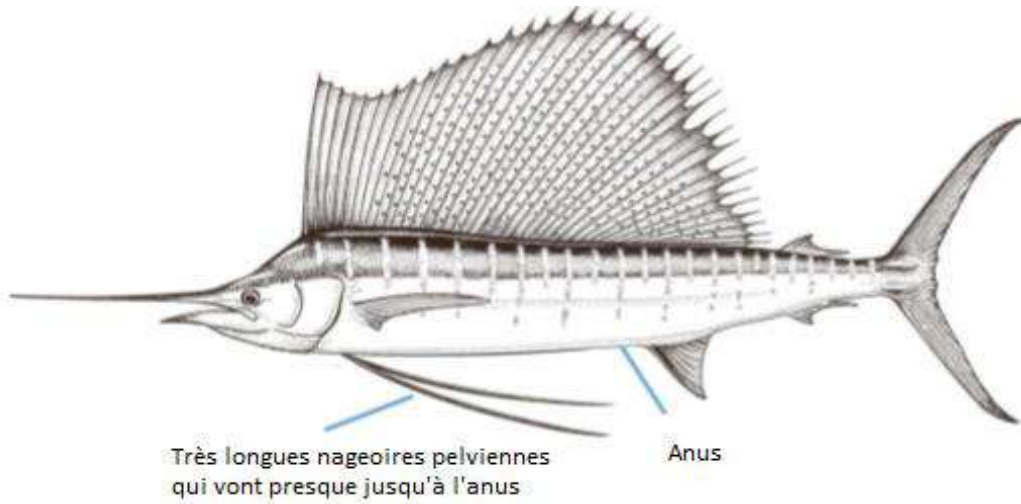


➤ **Espadon (*Xiphias gladius*)**

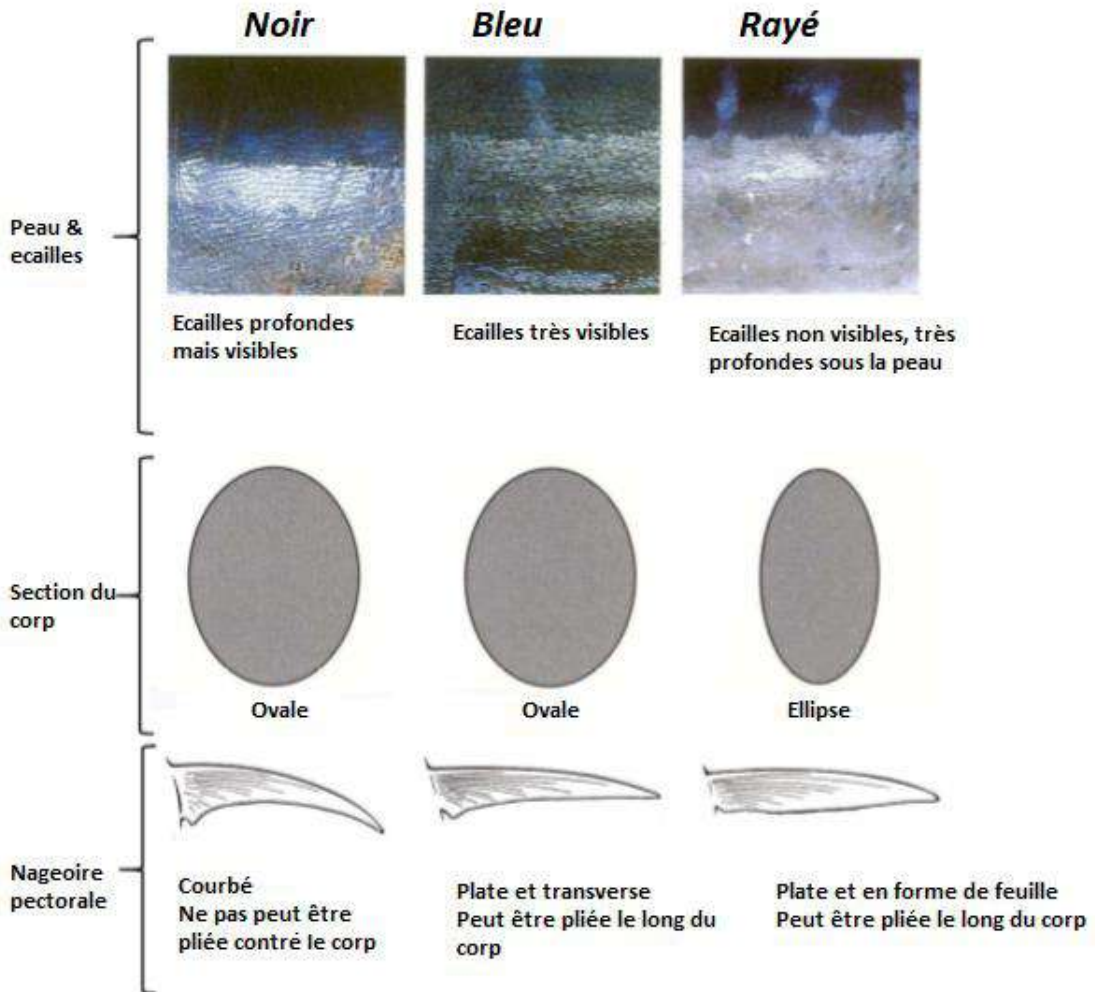
C'est la seule espèce à rostre qui ne possède pas de nageoire pelvienne et possède une carène horizontale de chaque côté du pédoncule caudal au lieu de deux.



➤ **Voilier de l'Indo Pacifique (*Istiophorus platypterus*)**



➤ **Marlin noir (*Istiompax indica*), bleu (*Makaira nigricans*) et rayé (*Kajikia audax*)**

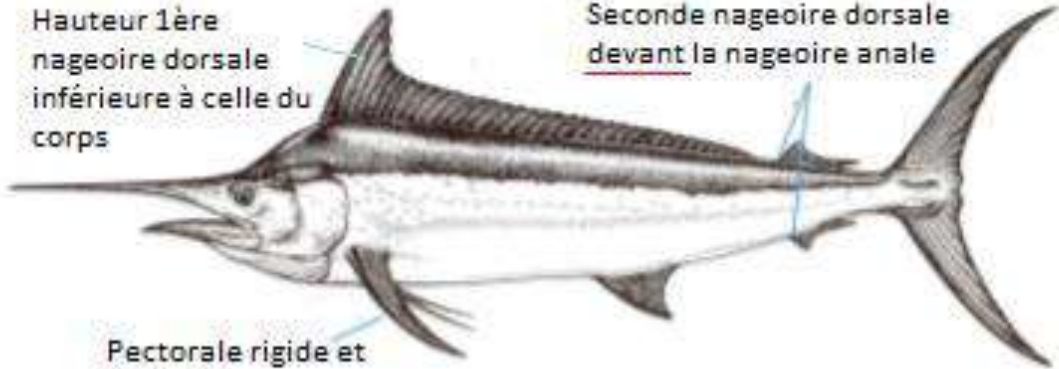


Marlin noir

Hauteur 1ère nageoire dorsale inférieure à celle du corps

Seconde nageoire dorsale devant la nageoire anale

Pectorale rigide et courbée

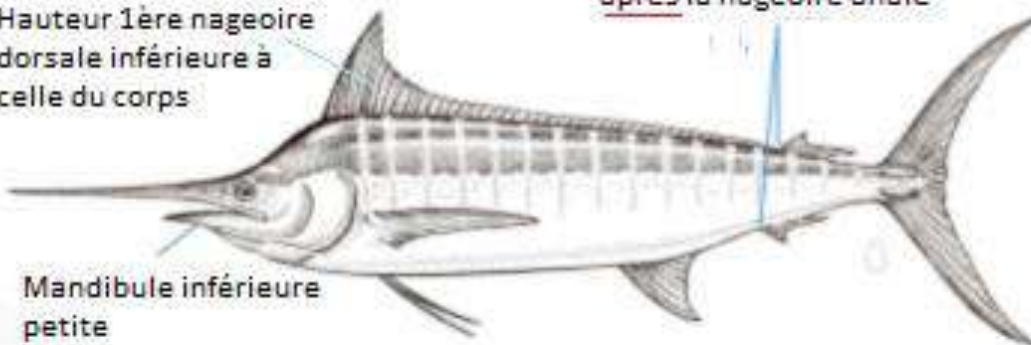


Marlin bleu

Hauteur 1ère nageoire dorsale inférieure à celle du corps

Seconde nageoire dorsale après la nageoire anale

Mandibule inférieure petite

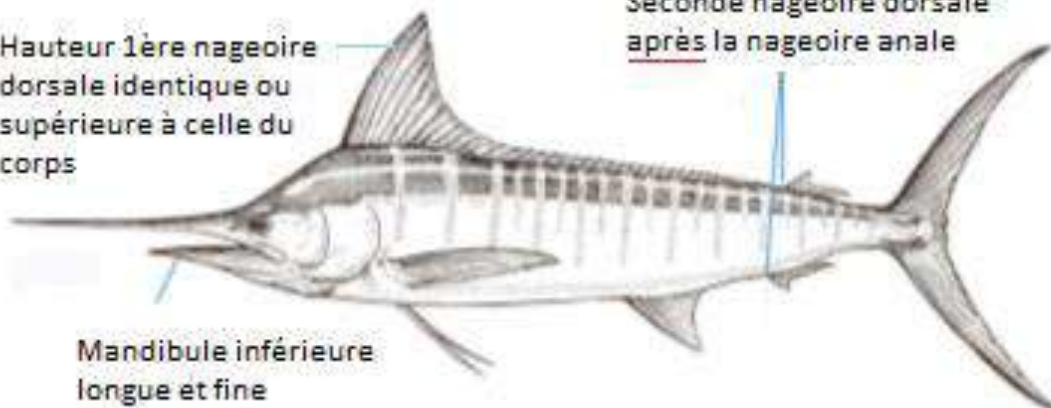


Marlin rayé

Hauteur 1ère nageoire dorsale identique ou supérieure à celle du corps

Seconde nageoire dorsale après la nageoire anale

Mandibule inférieure longue et fine



4. Fiche technique

Avant tout échantillonnage, une fiche technique doit être préparée dans laquelle vous noterez au minima :

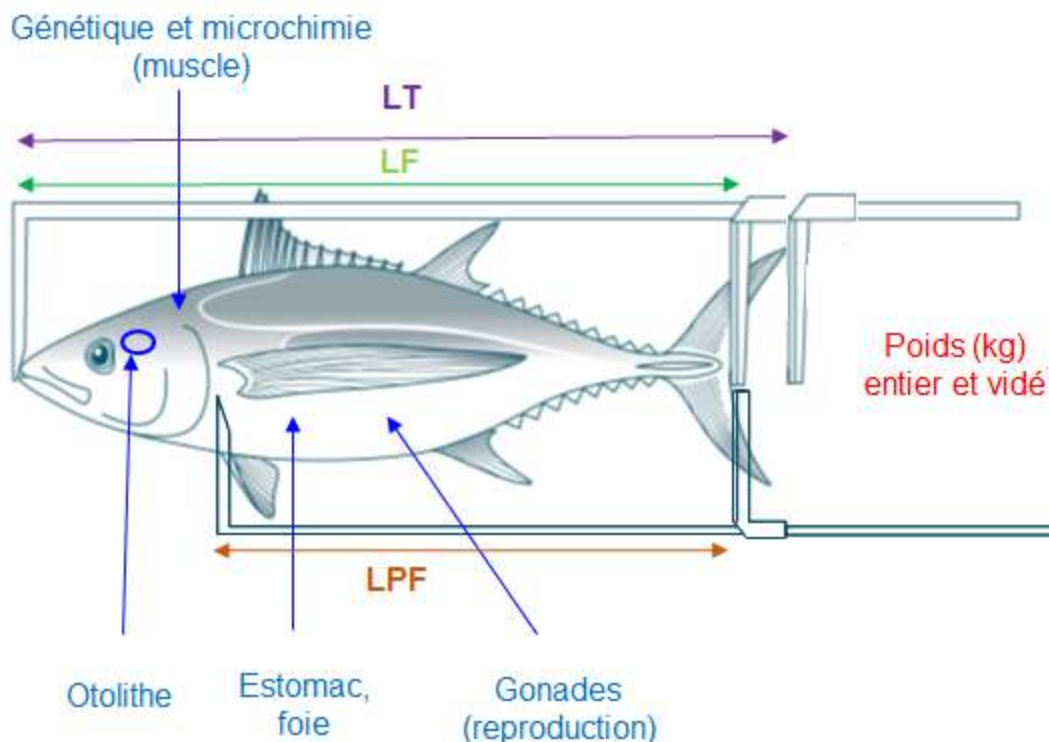
- Numéro de l'échantillon (par exemple le numéro peut être composé des initiales de l'observateur, suivi du code FAO de l'espèce (voir Table 1), suivi du numéro d'échantillon. Pour Natacha NIKOLIC qui fait son premier échantillon sur du thon germon, ce sera NNALB1.).
- Date de l'échantillonnage (jour, mois et année).
- Heure du prélèvement.
- Position géographique lors de l'échantillonnage (latitude et longitude).
- Nom du bateau.
- Type de pêche.
- Nom de l'observateur.
- Détail sur les conditions de prélèvements, si nécessaire.

Exemple de fiche provenant du projet CSIRO, AZTI, IRD, et RITF :

PSTBS-IO Population Structure Study					DATA SHEET			
Lat:		Sampling Date: dd / mmm / yyyy			Recorder:			
Lon:		Landing Date: dd / mmm / yyyy			Sampler:			
Map Grid Ref:		Source of Fish:			Gear:			
Location:					Source of Location info:			
Vessel Name:					Skipper:			
Trip start date: dd / mmm / yyyy					Trip end date: dd / mmm / yyyy			
No	Species Code	Length Code	Length (cm)	Sex	Genetics Vial No.	Otolith Vial No.	Vertebrae Tag No.	Other
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								

5. Echantillonnage

L'idéal pour l'échantillonnage est une salle bien éclairée disposant d'une table facile à nettoyer, un lavabo et de l'eau pour nettoyer ses mains et ses outils, et de la place pour ranger ses boîtes, etc. Malheureusement à bord des bateaux c'est rarement le cas. Essayez donc de vous préparer un plan de travail avant de vous lancer dans l'échantillonnage ainsi que vous munir de tous supports et matériels facilitant vos prélèvements.

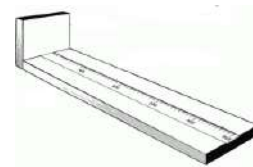


5.1. Biométrie

Pour la mesure des espèces halieutiques, différentes mensurations comme la taille et le poids sont relevées selon les groupes. Nous présentons ici les plus utilisées pour les grands pélagiques. Toujours préciser sur les fiches les unités et les conditions de prise de la mesure.

Equipements et Matériels

- Blouse.
- Pied à coulisse mécaniques de grande dimension.
- Ichtyomètre.
- Mètre ruban « souple » peut être utilisé pour les mensurations « courbes ».
- Peson.



Mesures des longueurs

LT (Longueur totale) : de l'extrémité de la bouche (bout du maxillaire inférieur) à l'extrémité de la nageoire caudale.

LF (Longueur fourche) : de l'extrémité de la bouche à l'extrémité postérieure des rayons caudaux centraux (entre la nageoire caudale).



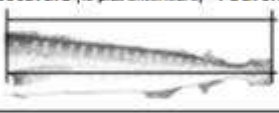

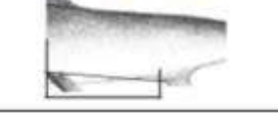
LPF (Longueur pectoral fourche) : de l'implanture de la pectorale à l'extrémité postérieure des rayons caudaux centraux.

La Longueur standard (de l'extrémité de la bouche jusqu'à la base de la queue, au niveau de l'origine des rayons de la nageoire caudale) peut également parfois être demandée.

Des mensurations « courbes » peuvent aussi être demandées mais attention de positionner le poisson à plat. Cette mesure est souvent plus sujette à des erreurs que les mesures rectilignes présentées ici.

L'unité est généralement en centimètres avec un chiffre après la virgule (= mesure au demi-centimètre) et arrondie à la valeur en dessous (ex. 99,9 cm noter 99,5 cm).

D'autres mesures comme celles-ci peuvent être demandées, notamment pour les poissons porte-épées (Projet CSIRO, AZTI, IRD, et RITF) :

Type	Code
Machoire inférieure - Fourche 	LJFL
Orbite (centre oeil) - Fourche 	OFL
Pectorale (la plus antérieure) - Fourche 	PFL
Pectorale - Dorsale 	PDL
Pectorale - Anale 	PAL

Mesures du poids

La mesure du poids est totale (poids entier) et vidée (poids sans les viscères).

L'unité est généralement donnée en kilogrammes avec un chiffre après la virgule.

Le poids est difficile à obtenir à bord des bateaux à cause des phénomènes de balancier par les vagues ou la houle qui faussent les mesures du peson.

5.2. Génétique

Equipements et Matériels

- Blouse.
- Gants.
- Solution de préservation. Selon l'utilisation ultérieure des échantillons, la solution peut être de l'éthanol pur à 95-100 % (et non pas 70 % car il y a une dégradation de l'ADN après 1-2 ans) ou de la solution de DMSO-Salt (Solution de sel au Diméthyle sulfoxide). Si l'ARN doit être préservé, l'idéal est d'utiliser la solution « RNA later » de Thermo Fisher.
- Tubes Eppendorf (2 ml ou 5 ml) remplis (3/4) d'une solution de préservation.
- Boîte pour ranger les tubes.
- 1 boîte de scalpels ou 1 paire de ciseaux de dissection.
- Couteaux en inox.
- Eau ultra pure (milliQ) dans une pissette.
- Stylo feutre permanent.
- Une glacière avec des bacs de glace car les échantillons de génétique ont besoin de rester à environ 4°C (ou moins) les premières 24H. Ensuite mettre les tubes dans un réfrigérateur (4-8°C).



Protocole

- Bien nettoyer le matériel de découpe entre deux prélèvements en le rinçant à l'eau ou en le nettoyant à l'alcool (idéal les deux).
- Prélever un morceau de tissu de préférence du muscle rouge. Ce morceau doit être petit pour que la solution puisse le préserver, environ 50 mg soit 5mm x 5mm x 2mm in dimensions ; le maximum sera de 1 x 0.5 x 0.5 cm. Du sang, du cœur et du cerveau peuvent être prélevé. Eviter de prélever des tissus provenant du rein, de la rate, du foie, de l'intestin et de l'estomac car ces tissus se dégradent plus rapidement. S'il est impossible de prélever un bout de muscle, prélever un bout de nageoire en s'assurant qu'il y a du tissu vivant.
- Placer l'échantillon dans un tube numéroté contenant la solution de préservation (voir ci-dessous).
- Ranger les tubes dans des boîtes avec les informations sur le couvercle (date, nom espèce, nombre de tubes, observateur, type d'échantillon).
- Mettre ensuite les échantillons au frais pour optimiser leur préservation.



Photos : Protocole du projet CSIRO, AZTI, IRD, et RIFT

5.3. Reproduction

Equipements et Matériels

- Blouse.
- Caméra numérique.
- Scalpel.
- Balance.
- Boite plastique.
- Tube à vis de 40-50 ml.
- Stylo feutre permanent.

Protocole

- Prendre une photo des gonades avec une étiquette à côté pour pouvoir classer ultérieurement les fichiers photos selon le numéro des individus.
- Si possible, prenez le poids des gonades (grammes).
- Sur l'une des deux gonades, couper une « rondelle » avec un scalpel d'environ 2 cm. L'échantillon doit être prélevé différemment en fonction de la taille des gonades:
 - (i) Si la gonade est petite prendre toute une section de gonades.
 - (ii) Si la gonade est grande, prendre une section comme un quart de camembert de façon à inclure la lumière du tube (lumen).





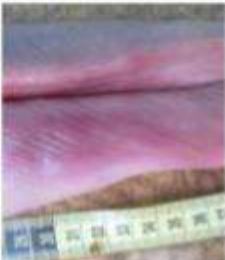

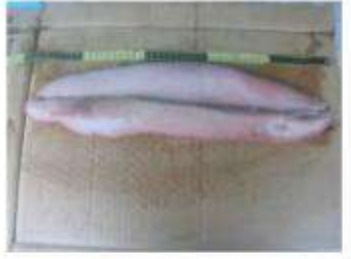





Stade de maturité sexuelle

Cette partie sur les stades de maturité sexuelle a été réalisée à l'aide des protocoles du projet PSTBS-IO (CSIRO, AZTI, IRD et RIFT) ainsi qu'ESPADON et GERMON (IFREMER). Une gonade est un organe reproducteur qui produit les gamètes. Les gonades vont par paire ; il s'agit des testicules chez le mâle et des ovaires chez la femelle.

La détermination du sexe par examen superficiel des gonades n'est pas difficile chez les adultes mûres mais peut s'avérer impossible chez les juvéniles et adultes immatures.

Les ovaires sont généralement tubulaires et granuleuses alors que les testicules sont plats et de couleurs claires (blancs-rosés). De plus, les testicules ont souvent une forme plus aplatie que les ovaires.

Exemple : MÂLES chez le thon albacore (sauf stade repos – espadon)


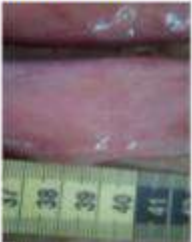













Aspect général	Caractéristiques externe	Caractéristiques interne
		
Stade 1 : IMMATURE - Détermination du sexe est possible. Gonades très minces et aiguisés.		
		
Stade 2 : MATURATION - Forme triangulaire, pas de sperme (liquide laiteux) au centre.		
		
Stade 3 : MATURATION - Le sperme coule quand on presse.		
		
Stade 4 : MATURE - En pleine reproduction, le sperme circule librement.		

Stade 4 : Repos

Les gonades sont très vascularisées, sombres et rouges.
Du sperme résiduel peut être observé.



Exemple : FEMALES chez le thon albacore (sauf stade repos – espadon)

Aspect général	Caractéristiques externe	Caractéristiques interne
		
Stade 1 : IMMATURE - Gonades allongées et élancées		
		
Stade 2 : MATURATION précoce - Gonades agrandies mais ovules individuels non visibles à l'œil nu		
		
Stade 3 : MATURATION tardive - Gonades agrandies mais ovules individuels visibles à l'œil nu.		
		
Stade 4 : MATURE - Ovule translucide, facilement délogé des follicules ou lâche dans la lumière de l'ovaire. Paroi très vascularisée.		
		
Stade 5 : POST-FRAI / ATRESIE - Ovaires mous et vides. Paroi extérieure a commencé à s'épaissir. Les plis ovigères sont individualisés et gris.		

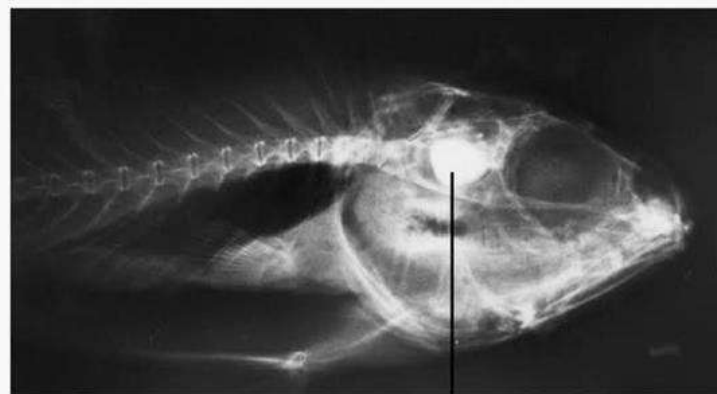
Stade 6 : Repos

Les ovaires sont souvent courbés.
 La paroi externe est très et peu ou pas vascularisée.
 Le tissu interne est brun, orange ou rouge et forme une masse compacte de tissu indifférencié.
 La lumière du tube n'est généralement pas visible.



5.4. Otolithe

Otolithe signifie "pierre d'oreille" et elle se trouve dans le crâne du poisson juste derrière le cerveau. L'otolithe est une pièce calcifiée qui permet au poisson de trouver son équilibre dans l'eau. Il y a 3 paires d'otolithes et la plus grosse, qui est généralement collectée, s'appelle l'otolithe sacculaire, dit aussi la sagittae (voir Figure ci-dessous). Les otolithes ne sont pas reliés au crâne du poisson, mais flottent librement derrière le cerveau, dans les conduits de l'oreille interne.



Sagittae- right side view



Sagitta - ventral view

Source : <http://nmita.geology.uiowa.edu/>

Sciaena bathytatos (Perciform:Sciaenidae)

Equipements et Matériels

- Blouse.
- 1 tube Eppendorf (2ml) étiqueté et vide.
- 1 couteau et 1 scie.
- 1 pince de préférence plastique pour que des analyses de microchimie puissent être effectuées si besoin.
- 1 pilulier rempli d'eau pure (milliQ).
- Pissette contenant eau pure.
- Gants.
- Stylo feutre permanent.

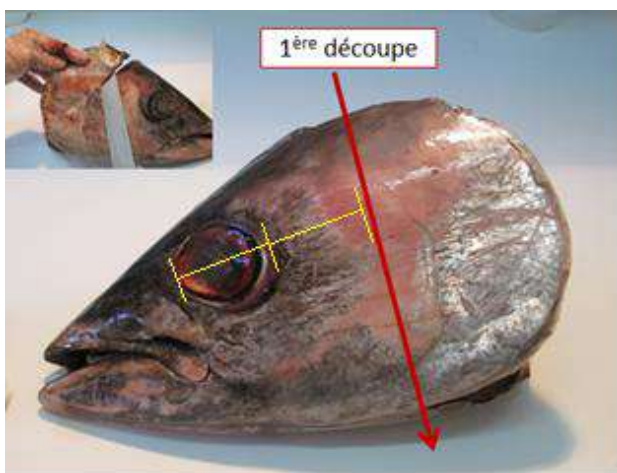
Si vous n'êtes pas en mesure de sortir les otolithes, il suffit de couper la tête comme les images ci-dessous et de congeler la pièce à conserver. Pour cela, mettez la tête dans un sac en plastique et placez une étiquette à l'intérieur et extérieur du sac. Pour plus d'informations sur l'extraction des otolithes, vous pouvez consulter les vidéos ci-dessous :

Nikolic Natacha, Evano Hugues (2016). Otolith removal of swordfish (*Xiphias gladius*). SEANOE. <http://doi.org/10.17882/42794>

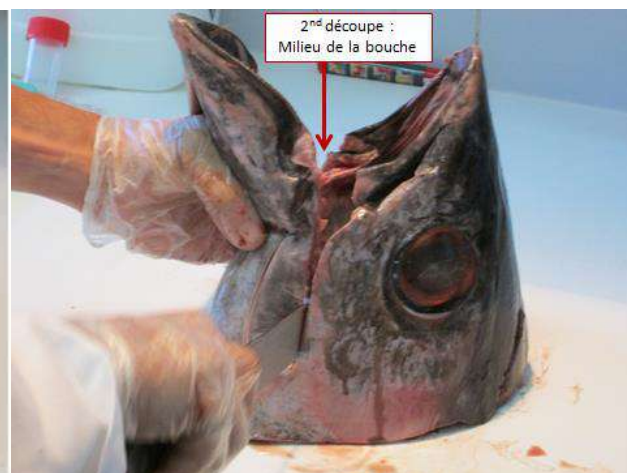
Nikolic Natacha, Evano Hugues (2016). Otolith removal of albacore (*Thunnus alalunga*). SEANOE. <http://doi.org/10.17882/42795>

La première découpe se fait à une distance de l'œil et doit être horizontale au poisson (pas plus de 10° d'écart). La seconde découpe permettra de poser la tête à plat pour faciliter le reste des manipulations.

1)



2)



3) Cette troisième découpe permettra une meilleure précision des coupes suivantes.

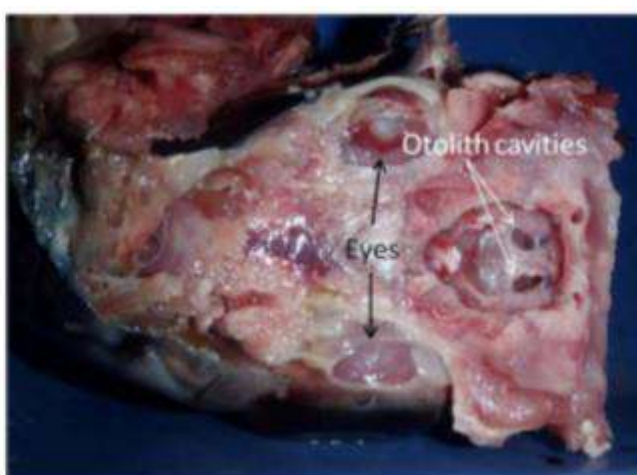
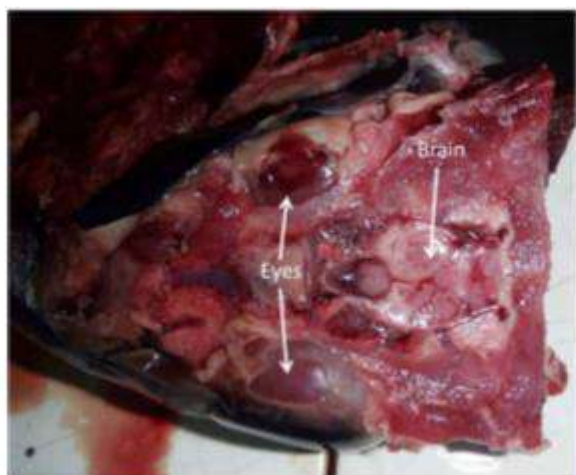
3ème découpe :
Milieu des yeux



4) Si l'extraction ne peut pas se faire à bord du bateau : Ci-dessous la partie de la tête à garder et mettre dans un sac plastique pour être congelé.

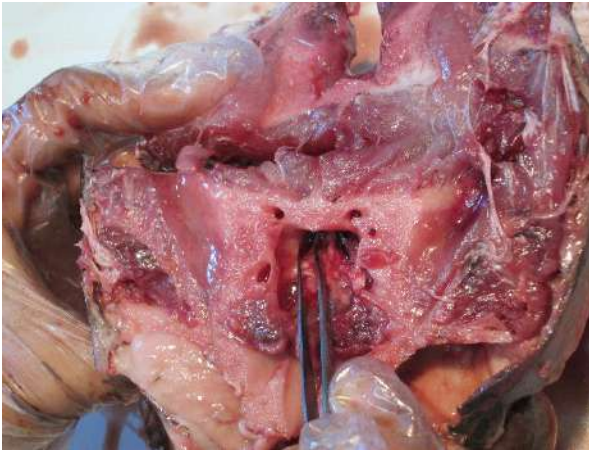


5) Pour extraire les otolithes, couper le sommet du crâne au niveau du bourrelet sus-orbitaire (torus supraorbitalis). Lors de première extraction sur l'espèce, il est préférable de découper légèrement au-dessus du bourrelet et faire des coupes successives jusqu'à voir le cerveau.

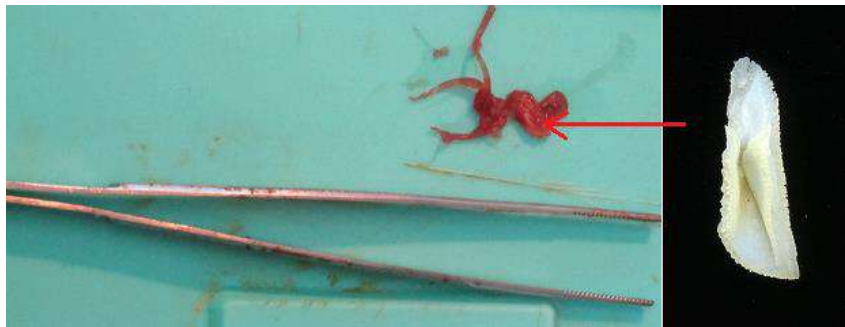


SAMPLING PROTOCOL FOR INDIAN OCEAN POPULATION STRUCTURE PROJECT (CSIRO, IRD, AZTI, KKDP)

6) Enlever le cerveau pour extraire les otolithes qui se trouvent dans les canaux d'ouverture visibles (à l'aide d'une pince).



7) Otolithe dans son canal semi-circulaire (à gauche) et nettoyé (à droite). Enlever délicatement les tissus autour de l'otolithe à l'aide de la pince en mettant l'otolithe dans le pilulier contenant l'eau pure. Rincer l'otolithe à l'eau pure et mettre dans un tube numéroté de 2ml.



5.5. Estomac

Equipements et Matériels

- Blouse.
- Gants.
- Sac plastique (plus de 30cm x 40cm).
- Scalpel.
- Couteau.
- Etiquette de numérotation de l'échantillon plastifiée.
- Stylo feutre permanent.

Protocole

Après l'ouverture de l'animal et le déroulement des viscères, l'estomac est récupéré des analyses ultérieurement sur les contenus stomacaux. Pour cela :

- dégager les adhérences de l'estomac parmi les viscères,
- séparer l'estomac de l'œsophage en le coupant à une certaine distance de l'orifice de l'estomac,
- le sortir de la cavité ventrale en veillant bien à ne pas perdre une partie du contenu de l'estomac,
- le placer dans une poche plastique en ajoutant une étiquette (papier calque) avec la référence du poisson écrite au crayon à papier (et ce, même si l'estomac vous semble vide),
- fermer la poche plastique avec un lien ou avec un nœud et la placer au congélateur (-25 à -20°C).

5.6. Microchimie

Nous détaillerons ici l'échantillonnage pour les analyses de PCB/DDT et métaux lourds.

N.B : Pour les isotopes, les lipides et protéines, l'échantillonnage peut se faire sur du muscle, du foie ou des gonades (se renseigner selon les programmes scientifiques). Des échantillons d'environ 5 g doivent être placés directement dans des tubes de 5 ml (voir plus) et congelés.

Equipements et Matériels

- Blouse.
- Gants.
- Couteau en céramique.
- Sacs plastiques.
- Aluminium (de préférence carboné).
- Stylo feutre permanent.

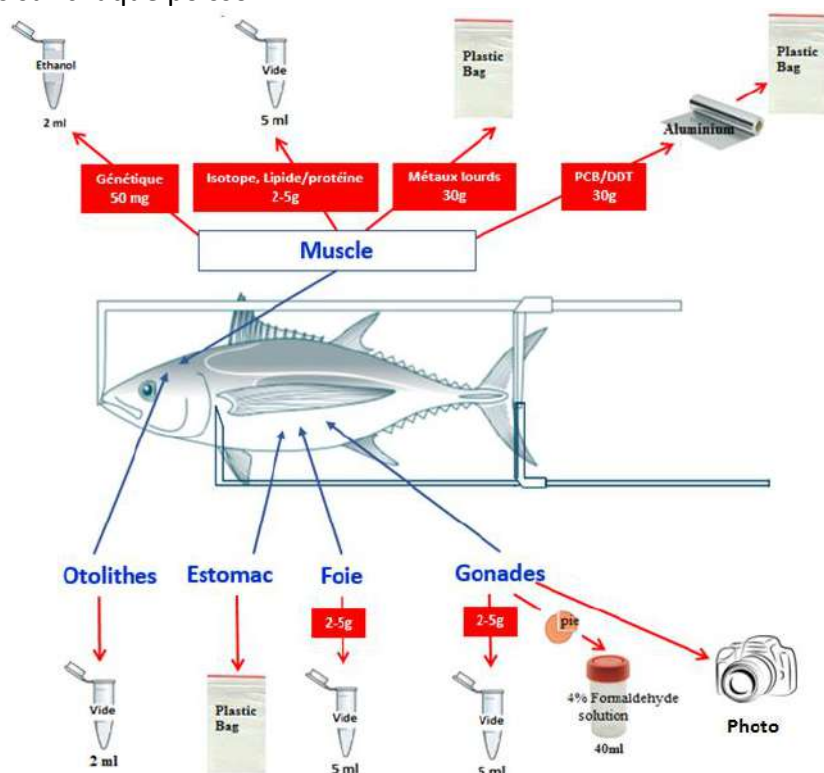
Protocole

Concernant l'analyse des PCB/DDT, un morceau de muscle (30-200 grammes) doit être découpé, emballé dans de l'aluminium, placé dans un sac plastique numéroté et congelé.

Concernant l'analyse des métaux lourds, un morceau de muscle (30-200 grammes) doit être découpé et mis directement dans un sac plastique numéroté puis congelé.

6. Schéma récapitulatif de l'échantillonnage

Ce schéma représentant l'ensemble des prélèvements possible lors d'une campagne d'échantillonnage sur les grands pélagiques pour des programmes scientifiques. À ces prélèvements s'ajoute l'ensemble des collectes biométriques sur chaque poisson.



7. Préparation des solutions

7.1. Formaldéhyde 4%

Quelques règles de base du travail en environnement stérile sont rappelées ci-dessous :

- plan de travail organisé,
- cheveux attachés,
- port d'une blouse en coton et de gants,
- connaissances de l'emplacement des équipements de sécurité (extincteur, douche).

Le formaldéhyde se présente sous la forme d'une solution de 4% ou poudre. Il est irritant pour la peau et les yeux. Les vapeurs provoquent une irritation transitoire et réversible des yeux et des voies respiratoires. Peut provoquer des allergies cutanées. Il est un agent cancérigène que l'on retrouve dans le groupe 1 par le CIRC (Centre International de Recherche sur le Cancer).

Les solutions de formaldéhyde doivent ainsi être stockées dans des locaux bien ventilés, à l'abri des rayons solaires, et à l'écart de toute source d'ignition, de matières inflammables, d'oxydants et de bases. La température minimale d'entreposage d'une solution de formaldéhyde pour limiter sa polymérisation dépend de sa concentration et de la présence d'un inhibiteur comme le méthanol. Ainsi, une solution à 50 % de formaldéhyde sans inhibiteur doit être stockée à 60°C alors qu'une solution à 37 % avec inhibiteur peut être stockée à 15°C. Il est recommandé de prévoir à proximité, à l'extérieur des locaux de stockage, des appareils de protection respiratoire, un poste d'eau à débit abondant, des douches de sécurité et des douches oculaires.

En ce qui concerne les incompatibilités chimiques, le formaldéhyde, composé fortement réducteur, réagira violemment (explosion, incendie, etc.) avec les oxydants forts (ex. peroxyde d'hydrogène, permanganate de potassium), l'acrylonitrile, la soude caustique, le carbonate de magnésium, les oxydes d'azote et l'acide peroxyformique. Le formaldéhyde est également incompatible avec les acides forts, les amines, l'ammoniac, l'aniline, les disulfures, la gélatine, l'iode, la magnésite, le phénol, les tanins et les sels de cuivre, fer et argent. De plus, les solutions de formaldéhyde attaquent l'acier ordinaire.

Le formaldéhyde et ses solutions doivent ainsi être utilisés, dans la mesure du possible, en circuit fermé pour éviter toute exposition par contact cutané ou inhalation.

Equipements et Matériels

- Blouse.
- Gants nitrile.
- PH-mètre.
- Pour un stockage sur le long terme (plus de 2 mois) : Bouteille de verre autoclavée.
- Pour un stockage sur le court terme (moins de 2 mois) : Bouteille plastique désinfectée à l'alcool.
- Bécher en verre autoclavé de 200 ml.
- Bécher de 40-50 ml.
- Lunette de protection plastique.

Produits

Produits commerciaux

Produit	Caractéristique(s)	Référence
Carbonate de calcium	Carbonate de calcium en poudre	HF
Formaldéhyde	Formaldéhyde (37-40%) dit également formol pur	HF

Produits préparés

Code/Abréviation	Produit	Préparation	Flaconnage	Conservation	DLU
Eau pure	Eau pure type I ou II	Direct-Q3 avec lampe UV	Bouteille en verre ou plastique	Congélateur	Après ouverture

Protocole de préparation

L'objectif est d'obtenir une solution de formaldéhyde à une concentration de 4% avec un PH neutre (7-8).

Il existe deux méthodes:

- 1) Formol « pur » du commerce 10 ml (37-40%)
Eau distillée 90 ml
Carbonate de Calcium 1 g
- 2) Formol pur concentré à ~ 37-40% : 100 ml
Phosphate dibasique de sodium (Na_2HPO_4) : 9.4 g
Phosphate monobasique de sodium (NaH_2PO_4) : 4.7 g

Exemple : Pour produire 1 Litre, verser 882 ml d'eau distillée dans la bouteille choisit à cet effet et rajouter 108 ml de Formaldéhyde pur (37-40%) et mettre le PH à 7 (neutre) en rajoutant du carbonate de calcium. Vérifier le PH avec le PH-mètre.

7.2. DMSO-Salt

Quelques règles de base du travail en environnement stérile sont rappelées ci-dessous :

- plan de travail organisé,
- cheveux attachés,
- port d'une blouse en coton et de gants,
- connaissances de l'emplacement des équipements de sécurité (extincteur, douche).

Equipements et Matériels

- Blouse.
- Gants nitrile.
- Becher en verre jusqu'à 500 ml de graduation.
- Balance (au gramme).

- Spatule en verre.
- Bouteille en verre à vis autoclavée, pour conditionnement et stockage final.

Produits

- EDTA 0,5 M et pH = 8,0
- DMSO
- NaCl
- Eau purifiée (milliQ)

Protocole de préparation

- Mélanger 250 ml d'EDTA (0,5 M pH = 8,0) avec 100 ml de DMSO (concentration finale = 20%)
- Ajouter 105 g de NaCl et compléter avec de l'eau purifiée jusqu'à 450 ml.
- Mélanger pendant quelques heures.
- Ajouter 10 g de NaCl et faire tourner la nuit.
- Le lendemain matin, verser dans la bouteille mesurée et le haut de 500 ml (assurez-vous que la marque sur le flacon est de 500 ml).
- Bien mélanger après avoir ajouté l'eau distillée (eau milliQ).
- Une fois terminé, laissez le sel saturé et tomber avant l'utilisation (prend habituellement la nuit) puis utiliser seulement le liquide clair.

8. Références

Produits FAO. (2016). The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 pp.

Evano H. (2016). Manuel d'aide à l'identification des principales espèces pêchées à La Réunion. <http://doi.org/10.13155/45287>

Punt AE, Su NJ, Sun CL. (2015). Assessing billfish stocks: A review of current methods and some future directions. Fisheries Research 166: 103-118.