



Cofinancé par
l'Union européenne
FEAMPA

**Marché de prestations de services pour la collecte d'échantillons
biologiques, l'estimation de la taille, de l'âge, du sexe et le stade
de maturité d'espèces de poissons de l'océan indien dans le
cadre du projet POPSICLE**

Cahier des Clauses Techniques Particulières (CCTP)

1. Préambule	3
2. Objet du document.....	3
3. Présentation des besoins	3
3.1. Présentation générale.....	3
3.2. Rappels sur les objectifs du projet.....	4
3.3. Description détaillée de la prestation	4
LOT 1 : Collecte d'échantillons biologiques.....	5
1. La Prestation de collecte d'échantillons biologiques	5
1.1. La collecte d'échantillons	5
1.2. La réalisation de mesures biométrique et informations associées à la capture	5
LOT 2 : Estimation de la taille de population reproductrice du Variola louti de la Réunion et Mayotte en utilisant des méthodes génétiques par Close-kin Mark Recapture (CKMR)6	
1. Définition du protocole d'échantillonnage et de la méthode d'analyse	6
2. Estimation de la taille de population reproductrice.....	6
LOT 3 : Estimation des paramètres biologiques (sexe, âge, stade de maturité) par les méthodes génétiques	7
1.Les Livrables	7
2.Contenu de la proposition	8
2.1 Motivation.....	8
2.2 Expérience.....	8
2.3 Contenu	8
2.4 Modalités de paiement	8

1. Préambule

Les éléments fournis dans ce dossier sont la propriété du CNRS. Ils sont confidentiels et ne peuvent en aucun cas être utilisés ou dupliqués pour un usage autre que la réponse à la présente consultation.

2. Objet du document

Ce document décrit les attentes du CNRS concernant des études de génétiques. Les prestations concernent le projet POPSICLE (Population Size of Coastal and Large pelagic FishEs).

3. Présentation des besoins

3.1. Présentation générale

L'évaluation des stocks des ressources halieutiques de l'océan Indien est particulièrement difficile par manque de données historiques sur les captures et les efforts des pêcheries et le manque d'informations biologiques (e.g. structure en taille/âge des captures). Ces évaluations sont primordiales pour établir les mesures de gestion des stocks concernés et ont un impact direct sur les flottilles via notamment le rapport capacité pour le renouvellement des flottilles outre-mer. Les modèles d'évaluation classiques sont, en effet, basés sur ces données et ne peuvent donc pas fournir des informations fiables. Le Système d'Information Halieutique (SIH) a été mis en place en 2012 à Mayotte et les données collectées sur les 10 dernières années ne permettent pas d'utiliser les modèles d'évaluation classique ou même les méthodes utilisant les stocks à Données Limitées (DLS). Quelques projets de recherche ont permis de collecter de nombreuses informations biologiques qui permettent de définir des indicateurs sur l'état des stocks de certaines espèces démersales à La Réunion, e.g. le projet FEAMP / IPERDMX, et à Mayotte, e.g. les projets DEMERSTOCK et ACCOBIOM. Ces apports restent insuffisants pour estimer la biomasse de la population et la proportion exploitée par les activités de pêche. Il devient primordial de mettre en place des méthodes permettant de fournir les informations sur l'état des stocks des espèces de La Réunion et Mayotte, tout en prenant en considération les contraintes locales d'échantillonnage, d'observations et de collecte de données.

Le développement de nouvelles méthodes génétiques et épigénétiques offre des perspectives permettant de répondre à ces enjeux. À partir d'un échantillon d'un individu, il est ainsi maintenant envisageable d'apporter des connaissances scientifiques sur la biologie et l'écologie des espèces (e.g. âge, sexe, population d'appartenance). En échantillonnant une partie de la population, il est aussi désormais possible d'estimer la taille de cette population à partir des liens de parenté génétiques au sein de l'échantillonnage. Parallèlement à ces nouveaux développements, la réduction des coûts des analyses génétiques et la capacité de séquençage en termes de nombre et de rapidité ont évolué de manière exponentielle au cours des dernières années, ouvrant la voie des applications à très larges échelles de ces méthodes.

L'ambition du projet FEAMPA POPSICLE est d'appliquer ces différentes méthodes afin d'estimer la taille de population et d'obtenir les informations sur les paramètres biologiques (âge, sexe, stade de maturité) du Croissant queue jaune (*Variola louti*) à partir d'un simple échantillon de tissu. Avoir cette information est très difficile à l'heure actuelle, car les poissons sont principalement vendus entiers et il est difficile de récupérer les têtes et les viscères.

Les prestations concernent le projet FEAMPA POPSICLE (Population Size of Coastal and Large pelagic FishEs). – porté par Ifremer en partenariat avec le CNRS et Office Français de la Biodiversité (OFB).

3.2. *Rappels sur les objectifs du projet*

Au terme du projet, un point de référence de la taille de population du mérrou croissants queue jaune (*Variola louti*) sera établi. Ce point de référence permettra ensuite un suivi régulier, à faibles coûts et haut niveau de confiance, impossible à atteindre avec les approches classiques et les données disponibles à l'heure actuelle. L'approche proposée dans le projet *FEAMPA POPSICLE* est en rupture avec ces techniques classiques, mais pour autant, semble clairement accessible avec les avancées actuelles dans le domaine de la génétique.

Cinq Work Packages (WPs) sont identifiés dans le projet Flopped et TALE:

- **WP 1 Coordination** : Ce WP a pour objectif de coordonner les actions au sein du projet
- **WP 2 collecte des échantillons biologiques** : En collectant des échantillons biologiques : 250 (otolithes, échantillons de gonades et nageoires) pour l'estimation des marqueurs épigénétiques de l'âge, du sexe et du stade de maturité et 3000 échantillons (de nageoire pectorale) pour l'estimation de la taille de population à partir des liens de parentés (CKMR).
- **WP3 Analyses génétiques et épigénétique** : ce workpackage sera dédié aux analyses génétiques et épigénétiques pour l'estimation de l'âge, du sexe et du stade de maturité d'une part et sur l'estimation de la taille et de la structure de la population d'autre part.
- **WP4: Stratégie de gestion utilisant les indices développés** : En fin de projet, un bilan des résultats sera effectué et restitué aux professionnels et aux gestionnaires sous forme d'ateliers. L'objectif de cet atelier sera d'exposer la méthodologie "Management Strategy Evaluation" qui pourrait être mise en place
- **WP5 Bancarisation, Valorisation / Communication** : Ce WP a pour objectif de rendre disponible en accès libre l'intégralité des données collectées durant le projet. Ces données seront ainsi disponibles en accès libre via le site SEXTANT de l'IFREMER. Les travaux seront aussi valorisés par la participation aux groupes de travail de la CPSOI, APSOI et CTOI et la production d'articles scientifiques..

3.3. *Description détaillée de la prestation*

La consultation concerne trois prestations complémentaires séparées en trois lots :

Lot 1 : Collecte d'échantillons biologique

Lot 2 : Estimation de la taille de population reproductrice d'espèces de poissons de l'océan Indien en utilisant des méthodes génétiques par Close-Kin Mark Recapture (CKMR)

Lot 3 : Estimation des paramètres biologiques (sexe, âge, stade de maturité) par des méthodes génétiques

LOT 1 : Collecte d'échantillons biologiques

1. La Prestation de collecte d'échantillons biologiques

La prestation comprend la collecte d'échantillons et de données sur le croissant queue jaune (*Variola louti*) à la Réunion sur la période 2024-2026. Elle comprend deux parties : La collecte d'échantillons et les mesures biométriques.

1.1. La collecte d'échantillons

Les échantillons pour la génétique (nageoire) doivent être collectés et conservés selon un protocole précis qui sera fourni par le CNRS et ses partenaires, résumé ci-dessous :

- Collecte de tissus : prélèvement sur une nageoire à l'aide d'un emporte-pièce
- Conservation dans l'alcool au congélateur.

Les échantillons collectés seront stockés à l'Ifremer de La Réunion qui organisera acheminement vers le prestataire en charge du génotypage (SNPs, Dart-seq).

Les quantités à collecter seront indiquées dans les bons de commandes. À titre indicatif, il est estimé qu'il sera demandé 1000 échantillons. Les collectes de données et des échantillons nageoire/biométrie devront être effectuées au plus tard pour décembre 2026.

Le flaconnage et les outils de prélèvement seront fournis par le CNRS ou ses partenaires. L'acheminement des échantillons au CNRS ou ses partenaires sera à la charge du prestataire. Dans le cadre de ces échantillonnages, le prestataire pourra avoir accès au laboratoire de l'Ifremer de La Réunion pour réaliser certains prélèvements si besoin.

Si le titulaire souhaite faire sur les poissons des prélèvements d'échantillons supplémentaires à ceux décrits ci-dessus et pour le compte d'un autre établissement que le CNRS ou ses partenaires, le titulaire devra obtenir l'accord préalable du CNRS.

1.2. La réalisation de mesures biométrique et informations associées à la capture

Les mesures biométriques (taille, poids, stade de maturité) et l'acquisition d'informations associées à chaque individu prélevé devront au minimum comprendre :

- Les Données sur la capture :
 - Nom du bateau et immatriculation
 - Date et position de capture
 - Espèce
- Les Données sur l'échantillon :
 - Identifiant des échantillons génétiques
 - Référence photo
- les Données biométriques :
 - Longueur (longueur totale ou à la fourche, ou maxillaire fourche, ...)
 - Poids (entier, étêté, éviscéré, ...)
 - et si possible sexe et stade de maturité

Les données devront être transmises sous forme de tableurs informatiques respectant un formalisme défini par le CNRS pour faciliter la bancarisation des données.

Le prestataire doit soutenir la collecte en collaboration avec les personnels du CNRS et de ses partenaires et s'assurer des réglementations en vigueur pour la collecte d'échantillons biologiques. Le protocole de Nagoya a défini les réglementations relatives à l'Accès aux ressources génétiques et aux connaissances traditionnelles associées et au Partage des Avantages issus de leur utilisation (APA). Dans le cadre de la collecte des échantillons biologiques du projet, une déclaration APA est nécessaire avec une cession au CNRS et ses partenaires. Le fournisseur devra ainsi s'assurer de remplir les obligations de l'APA pour la collecte de ces échantillons. Le prestataire pourra être en support de la collecte des échantillons par le CNRS et ses partenaires.

LOT 2 : Estimation de la taille de population reproductrice du *Variola louti* de la Réunion et Mayotte en utilisant des méthodes génétiques par Close-kin Mark Recapture (CKMR)

Cette prestation concerne l'estimation de la taille de population reproductrice du *Variola louti* de la Réunion et Mayotte en utilisant des méthodes génétiques par Close-kin Mark Recapture (CKMR) du projet POPSICLE. Cette prestation comporte deux étapes : la définition d'un protocole et l'analyse pour l'estimation de la taille de la population reproductrice.

1. Définition du protocole d'échantillonnage et de la méthode d'analyse

Le « close-kin mark-recapture (CKMR) » est une nouvelle méthode d'estimation de l'abondance et d'autres paramètres importants de la population dont l'applicabilité a été démontrée à une espèce de grand pélagique, le thon rouge du Sud (*Thunnus maccoyii* ; Bravington et al. 2016). Cette méthode utilise les liens de parenté entre les individus échantillonnés dans la population pour déterminer la taille estimée de la population de reproducteur. Cependant, cette technique nécessite un travail méthodologique préalable utilisant les informations sur la biologie et la structure de population de l'espèce afin de définir un protocole d'échantillonnage permettant d'obtenir des estimations non-biaisées.

L'objet de cette prestation est donc de définir un protocole pour la collecte du nombre d'échantillons à prélever pour mettre en œuvre la méthode du Close-Kin Mark Recapture;

La première étape de la mise en place du protocole devra suivre la méthodologie suivante :

- faire une revue de la littérature des méthodes CKMR développées et des informations nécessaires pour leur application,
- établir le protocole d'échantillonnage à effectuer pour obtenir des estimations non-biaisées de la taille de population de reproducteurs (nombre d'échantillons à collecter par âge et zone),
- analyser les données de génotypage obtenues par la technologie DART-seq

2. Estimation de la taille de population reproductrice

Des analyses bio-informatiques nécessaires afin de déterminer les liens de parenté entre les individus collectés et l'estimation de la taille de population reproductrice seront réalisées.

Les analyses bio-informatiques seront réalisées par le prestataire et les plateformes de calcul de l'Ifremer pourront être mises à disposition si besoin.

Cette méthode reste préliminaire et la prestation ne permettra peut-être pas d'obtenir des estimations robustes, mais posera les bases afin d'y parvenir.

La prestation comprend donc l'analyse des données et le rapport final d'estimation des liens de parenté entre les individus collectés et la taille de population reproductrice.

LOT 3 : Estimation des paramètres biologiques (sexe, âge, stade de maturité) par les méthodes génétiques

Cette prestation concerne l'estimation de paramètres biologiques tels que le sexe, l'âge et de stade de maturité à partir d'un simple échantillon de tissus et d'analyses génétiques et épigénétiques.

L'âge sera estimé à partir des 250 otolithes analysés via un laboratoire spécialisé. Le sexe et la maturité seront déterminés pour chaque individu par analyses macroscopiques des gonades. Les 250 échantillons de nageoire prélevés seront préparés pour extraire l'ADN afin d'être envoyés pour un séquençage à un laboratoire spécialisé. L'objet de la prestation est d'effectuer les analyses bio-informatiques sur les résultats bruts de séquençage pour identifier les marqueurs permettant de déterminer l'âge, le sexe et le stade de maturité de l'espèce ciblée. Les plateformes de calcul de l'Ifremer pourront être mises à disposition si nécessaire pour ces analyses.

La prestation comprend donc l'analyse des données et le rapport final d'estimation des paramètres biologiques à partir d'analyses génétiques et épigénétiques sur des résultats bruts de séquençage.

1. Les Livrables

Tout au long de la prestation, le titulaire du marché devra rendre des rapports concernant la prestation qui lui est demandée. Ces rapports nommés « livrables » sont décrits dans le tableau ci-dessous. Les livrables suivront les avancées en termes de nombre de collecte d'échantillons. T0 correspond à la date de début de la prestation.

Livable	Date
- Rapport d'avancement des prélèvements d'échantillons et mises à jour du fichier des prélèvements effectués et fourni par le CNRS	T0 + chaque mois le rapport mensuel est transmis pour le mois « M » au plus tard le 5 du mois suivant le mois « M »
- Protocole d'échantillonnage (nombre d'échantillons nécessaire par stade de maturité) pour appliquer les technique	T0 + 6 mois
Rapport final des analyses bio-informatiques effectuées pour estimer les liens de parentés entre les individus collectés et la taille de population reproductrice	Réception des dernières données de génotypages + 6mois
Rapport final des analyses bio-informatiques effectuées pour estimer l'âge, le sexe et le stade de maturité	Réception des données de génotypages + 6mois
- Rapport final des prélèvements effectués	le rapport est transmis au plus tard à T0+ 30mois

2. Contenu de la proposition

Le candidat établira sa réponse dans un document formel, structuré en une réponse globale comprenant les trois lots ou pour chacun des lots selon son choix de candidater aux lots proposés, qui devra au moins comporter les éléments suivants :

2.1 Motivation.

La proposition comportera une présentation de la société, de ses compétences et de ses références dans les domaines concernés par le projet.

2.2 Expérience

Le candidat décrira son expérience dans le domaine de l'échantillonnage et la mise en place de techniques CKMR si possible et au moins son expérience en partenariat scientifique.

2.3 Contenu

Le candidat fournira une proposition basée dans laquelle il présentera au moins :

- Les objectifs de la prestation,
- La démarche (tâches à effectuer),
- Les moyens humains, matériels et logiciels, requis pour l'exécution de la prestation,
- Une ou plusieurs références dans le partenariat scientifique
- Une ou plusieurs références en collecte et analyse de données génétiques
- Proposition Financière sous forme d'un bordereau des prix, ci-joint en annexe à renseigner.

2.4 Modalités de paiement

Le paiement se fera sous la forme de bon de commande selon le bordereau des prix fourni par le prestataire.