

eREF :
**État de référence de la biodiversité en vertébrés
dans les masses d'eaux côtières méditerranéennes à partir de
l'ADN environnemental**



©Laurent Ballesta, Andromède océanologie

Rapport final – Avril 2023

Coordination Université de Montpellier :

DETER Julie et MOUILLOT David

Contact mail :

julie.deter@umontpellier.fr

david.mouillot@umontpellier.fr

Contributeurs :

Acquisition des données : AGEL Noémie (Andromède océanologie), BOCKEL Thomas (Andromède océanologie), BOUBE Tatiana (Andromède océanologie), DETER Julie (Andromède océanologie et UM - MARBEC), GUILBERT Antonin (Andromède océanologie), HOCDE Régis (IRD – MARBEC), HOLON Florian (Andromède océanologie), JUHEL Jean-Baptiste (UM - MARBEC), Franck Pichot (UM - MARBEC), VELEZ Laure (UM – MARBEC)

Traitement, analyse des données et rédaction : BOCKEL Thomas (Andromède océanologie), DALONGEVILLE Alicia (UM – MARBEC et SPYGEN), DEJEAN Tony (SPYGEN), DELARUELLE Gwenaëlle (Andromède océanologie), DETER Julie (UM – MARBEC et Andromède océanologie), Jonathan GRONDIN (SPYGEN), HOLON Florian (Andromède océanologie), MARQUES Virginie (UM - MARBEC), MOUILLOT David (UM – MARBEC), VALENTINI Alice (SPYGEN), VELEZ Laure (UM – MARBEC)

Ce rapport doit être cité sous la forme : **Deter Julie, Agel Noémie, Bockel Thomas, Boubé Tatiana, Dalongeville Alicia, Dejean Tony, Delaruelle Gwenaëlle, Grondin Jonathan, Guilbert Antonin, Hocde regis, Holon Florian, Juhel Jean-Baptiste, Marques Virginie, Pichot Franck, Valentini Alice, Velez Laure et Mouillot David. 2023. eREF : État de référence de la biodiversité en vertébrés dans les masses d’eaux côtières méditerranéennes à partir d’ADN environnemental. Rapport final. 68 pages et annexes.**

Les photographies proposées ne sont pas libres de droits et les crédits respectifs doivent être respectés.

Résumé : Ce projet porté par l’Université de Montpellier en partenariat avec les entreprises Andromède océanologie et SPYGEN vise à recenser la diversité des vertébrés (poissons osseux et cartilagineux) qui pourrait se rapprocher du littoral et remonter des profondeurs dans le contexte exceptionnel de très faibles perturbations (loisirs, pêche nuisances sonores, etc..) en lien avec le confinement strict du printemps 2020. Nous avons profité de cette situation sans précédent pour rééchantillonner des sites visités en 2018 ou 2019 et établir les références d’indicateurs biologiques à la fois sur les sites anthropisés (ports et points forts identifiés dans le réseau IMPACT), les aires marines protégées (AMPs) et la zone mésophotique (50-100 m). Au total **204 échantillons** ont été analysés.

A partir de ces données, **14 indicateurs de biodiversité** (Richesse spécifique, Diversité fonctionnelle, Diversité phylogénétique, Indice « grands poissons », Indicateur crypto-benthique, Ratio démerso-pélagique / benthique, Indicateur « Red List » (UICN), Indicateur non-indigène, Indicateur thermique des poissons, Indicateur élasbranche, Indicateur niveau trophique, Indicateur commercial, Indicateur hautement commercial, Indicateur de vulnérabilité) ont été calculés afin d’évaluer l’état des eaux côtières en matière de biodiversité des poissons. Les résultats sont consultables à travers la plateforme [MEDTRIX](#) dans le projet [PISCIS](#).

Nous montrons que la **richesse spécifique en poissons a augmenté de plus 30 % pendant le confinement** à la fois dans les zones pêchées et dans les AMPs. Cependant, cette augmentation de richesse pendant le confinement ne concernait ni les espèces de poissons menacées (liste rouge de l'UICN) ni la diversité fonctionnelle. Ces résultats suggèrent que le **rétablissement complet de la diversité d'espèces et de la diversité en traits peut nécessiter plusieurs décennies de protection** car le confinement drastique n'a pas offert à court terme un rebond de la biodiversité dans toutes ses dimensions.

Parallèlement, nous avons incrémenté la base génétique de références pour les poissons osseux marins de Méditerranée sur la partie 12S du génome mitochondrial afin de mieux assigner les fragments d'ADN environnemental à des espèces : **178 séquences de 39 espèces supplémentaires ont enrichi la base en 2021**. Toutes les analyses présentées dans ce rapport ont été réalisées à partir de la liste d'espèces générée grâce à cette nouvelle base de références.

Nous avons également travaillé sur les **méthodes d'échantillonnage** en mer afin d'avoir la capacité de proposer le protocole le plus adapté à la question posée. Nous avons montré que :

- une plus grande quantité d'eau filtrée (60 L) apporte une plus grande quantité d'ADN sans risque de colmatage pour le filtre, et qu'il est préférable d'ouvrir la vis de purge d'air pendant quelques secondes en début de filtration.
- les assemblages d'espèces sont très similaires peu importe le moment de la journée sur deux jours consécutifs,
- les méthodes d'inventaire visuel en plongée (UVC) et par ADNe sont complémentaires et nécessaires pour un inventaire exhaustif.
- les communautés sont semblables pour les points fixes et les transects bien que le déplacement de la pompe lors de la filtration permette d'identifier un plus grand nombre d'espèces.
- l'échantillonnage par Niskin est moins efficace que les filtrations *in-situ* pour capturer la diversité spécifique,
- des communautés similaires de poissons sont inventoriées avec un échantillonnage par transect de surface et un échantillonnage par transect au fond (entre -11 et -18 m) bien que ce dernier détecte plus d'espèces de fonds et notamment plus d'élasmobranches.
- sur des sites profonds (au-delà de 60 m au moins) l'échantillonnage en surface ne permet pas de capter les espèces profondes et les assemblages détectés en surface et au fond sont différents.

Nous avons testé une **approche multi-amorces** pour détecter une large gamme d'organismes. L'analyse des communautés bactériennes et/ou eucaryotes par l'ADNe semble intéressante pour caractériser les masses d'eau et établir des indicateurs de référence par type de milieu (zone côtière, zone protégée, estuaire, lagune, zone portuaire etc.), zone géographique et type d'habitat ; mais également pour le suivi des souches bactériennes pathogènes. Nous avons confirmé que l'utilisation d'un **marqueur ciblant spécifiquement les poissons augmente le pouvoir de détection des espèces rares**, et permet donc des inventaires poissons plus complets : le marqueur *teleo*, spécifique aux poissons, permet de détecter un plus grand nombre d'espèces (90 espèces sur les 16 échantillons) que le marqueur généraliste *Verto1* (57 espèces sur les 16 échantillons), et en particulier un plus grand nombre d'espèces rares. Toutefois, la combinaison des deux marqueurs (cout de séquençage doublé) permet un inventaire plus exhaustif que chaque marqueur séparément. Pour les mammifères, les deux marqueurs détectent la présence de la famille Delphinidae uniquement, mais le niveau spécifique ne peut pas être déterminé.

Enfin, un **guide méthodologique** pour le déploiement des méthodes ADNe en milieux marins côtiers et le calcul des indicateurs sera publié au cours du dernier trimestre 2023.

Sommaire

I.	Présentation du laboratoire porteur et des partenaires	1
I.A.	Université de Montpellier – UMR MARBEC.....	1
I.B.	Andromède Océanologie.....	2
I.C.	SPYGEN	3
II.	Introduction	3
II.A.	Contexte.....	3
II.B.	L'ADN environnemental, une nouvelle méthode d'inventaire	4
II.C.	L'opportunité du confinement Covid-19	7
II.D.	Objectifs du projet eREF	7
III.	Méthodologie des analyses ADNe en laboratoire	8
III.A.	Extraction	8
III.B.	Amplification et séquençage	9
III.C.	Analyse bioinformatique.....	9
IV.	Résultats du projet eREF	10
IV.A.	Vers une base de référence exhaustive pour la Méditerranée	10
IV.B.	Sélection et développement d'indicateurs écologiques.....	13
IV.C.	Le développement de l'outil de calcul en ligne des indicateurs sur MEDTRIX.....	16
IV.D.	Évaluation de la qualité écologique des eaux côtières à partir de l'ADNe metabarcoding.....	20
IV.E.	Améliorations méthodologiques	31
IV.F.	Analyse de la biodiversité globale avec différents marqueurs génétiques	47
V.	Mise à disposition des résultats sur la plateforme MEDTRIX	54
VI.	Valorisation des résultats du projet	62
VII.	Conclusion	63
VIII.	Références bibliographiques.....	64
IX.	Annexes	69

I. Présentation du laboratoire porteur et des partenaires

Ce projet porté par l’**Université de Montpellier** repose sur un partenariat avec l’entreprise **Andromède Océanologie** (logistique en mer et plongeurs, responsable logistique : Florian Holon, responsable scientifique : Julie Deter) et l’entreprise **SPYGEN** (Analyses ADN environnemental (ADNe), bio-informatique, développement d’indicateurs de Biodiversité ; responsable logistique : Jonathan Grondin ; responsable scientifique : Tony Dejean).

L’UMR MARBEC est associée depuis janvier 2019 à la **PME Andromède Océanologie** basée à Mauguio (34) pour former le [laboratoire commun InToSea](#) (Innovative Tools under the Sea). Ce présent projet s’intègre dans les objectifs de ce LABCOM qui sont de développer des outils innovants d’étude et de suivi des habitats sous-marins côtiers pour faciliter la prise de décision.

MARBEC, via un projet **Companies on Campus** de l’Université de Montpellier, est associée depuis mi-2019 à la **PME SPYGEN** basée au Bourget du Lac (73) afin de développer les expertises ADNe pour le suivi de la faune marine et mettre en place de nouveaux indicateurs de biodiversité basés sur ces technologies.

Depuis 2021, un **laboratoire commun appelé Diag-ADNe** unit SPYGEN avec l’Université de Montpellier, et plus particulièrement l’UMR MARBEC, et vise à développer le diagnostic des milieux marins par ADNe.

I.A. Université de Montpellier – UMR MARBEC

La structure porteuse du projet est l’**Université de Montpellier – UMR MARBEC**.

L’Unité Mixte de Recherche (UMR) [MARBEC](#), MARine Biodiversity, Exploitation and

Conservation, a été créée le 1^{er} janvier 2015. Ses autorités de tutelle sont l’IRD, l’Ifremer, l’Université de Montpellier et le CNRS. MARBEC est l’un des plus importants laboratoires travaillant sur la biodiversité marine et ses usages avec environ 230 agents, dont 80 chercheurs et enseignants-chercheurs. L’unité est implantée à Sète, Montpellier et Palavas-les-Flots, ainsi que dans l’océan Indien, en Asie, en Afrique et en Amérique du Sud.



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER

MARBEC étudie la biodiversité marine des écosystèmes lagunaires, côtiers et hauturiers, principalement méditerranéens et tropicaux. Ses recherches portent sur différents niveaux d’intégration, des aspects moléculaires, individuels, populationnels et communautaires, aux usages de cette biodiversité par l’Homme. Elle concentre ses efforts sur trois objectifs principaux : (a) décrire la biodiversité marine, comprendre sa dynamique et le fonctionnement des écosystèmes marins, (b) analyser l’impact des pressions anthropiques sur ces écosystèmes et développer des scénarii de réponses au changement global, (c) concilier exploitation et conservation, et répondre aux attentes sociétales (expertise, innovation, remédiation).

Ses activités de recherche sont structurées en huit thèmes scientifiques : (a) Ecologie évolutive et adaptation ; (b) Individus, populations et habitats ; (c) Dynamique et fonctionnement des communautés ; (d) Micro-organismes et interactions avec les macro-organismes. (e) Contaminants : devenir et réponses ; (f) Aquacultures durables ; (g) Systèmes littoraux d’usages multiples. (h) Approche écosystémique des pêches.

I.B. Andromède Océanologie



Andromède Océanologie (<http://www.andromede-ocean.com/>) est une PME créée en 2008 par Laurent Ballesta, Pierre Descamp et Florian Holon.

Les objectifs d'Andromède sont i) de conduire tout type de projets liés à l'étude et à la valorisation de l'environnement marin, ii) coupler science et images et iii) sensibiliser à la richesse et à la fragilité du milieu marin.

Les activités d'Andromède Océanologie s'articulent autour de trois grands domaines avec partout une R&D forte et une innovation permanente :

- **L'image** : expéditions scientifiques, films, livres, photos avec plus de 25 000 clichés de Laurent Ballesta, plongeur et photographe sous-marin internationalement reconnu ;
- **La surveillance biologique et la cartographie des habitats**. Andromède porte ainsi plusieurs réseaux de surveillance de l'état écologique des eaux côtières, en partenariat avec l'agence de l'eau Rhône Méditerranée et Corse (notamment TEMPO sur les herbiers de posidonie ou RECOR pour les récifs coralligènes) ;
- **L'ingénierie en écologie** : gestion et restauration des écosystèmes marins, accompagnement, conseil, expertise...

Parmi les dernières réalisations d'Andromède Océanologie, nous pouvons citer :

- **La surveillance biologique**. Depuis 10 ans nous sommes responsables du développement des réseaux Herbiers de posidonie et Récifs coralligènes à travers les réseaux TEMPO et RECOR.

- Plusieurs **programmes de cartographie des habitats benthiques de Méditerranée** comme le programme "CARTHAM" de cartographie des habitats de sites Natura 2000 en mer pour l'Agence de Aires Marines Protégées, le programme "Petites Iles de Méditerranée" soutenu par le Conservatoire du Littoral pour cartographier les habitats marins autour de petites îles (en Albanie, en Italie, en Tunisie), et le programme 'SURFSTAT' soutenu par l'Agence de l'eau qui permet d'actualiser la cartographie des habitats marins en Méditerranée française tous les trois à six ans. Andromède Océanologie a ainsi réalisé en 2014 la première cartographie complète des habitats marins jusque -80 m de fond sur le littoral méditerranéen français, Corse incluse, avec une précision au 1/10000 ème¹. Cette cartographie est actuellement en cours d'actualisation (réseau SURFSTAT) pour l'Agence de l'Eau; un rendu complet est envisagé en 2023.

- La **plateforme cartographique MEDTRIX** (www.medtrix.fr) qui met à disposition à plus de 2000 utilisateurs les résultats de plus d'une trentaine de projets de surveillance des eaux côtières de Méditerranée et permet d'avoir accès aux cartographies des habitats (projet DONIA Expert) et des pressions/activités côtières (projet IMPACT).



- **La transplantation de 500 m² d'herbier** lors de l'extension en mer de l'anse du Portier (Monaco) et son suivi scientifique pendant dix ans.

- Le développement de **l'application mobile DONIA** (www.donia.fr) qui met à disposition librement les cartographies des écosystèmes auprès des plaisanciers et capitaines de yacht et aide ainsi à un ancrage plus responsable en dehors de ces écosystèmes sensibles.



¹ https://www.eaurmc.fr/jcms/dma_40430/fr/la-mediterranee-devoile-ses-dessous-cartographie-continue-des-habitats-marins

I.C. SPYGEN

Créée en 2011, [SPYGEN](#) est une « Entreprise à Mission » qui a pour objectif d’améliorer le suivi et la conservation de la biodiversité à l’échelle mondiale grâce à l’étude de l’ADN environnemental. Pour mener à bien sa mission, SPYGEN développe des technologies innovantes d’inventaire de la biodiversité (VigiDNA®). Ces méthodes, basées sur la recherche de traces d’ADN dans l’environnement (ADN environnemental ou ADNe), permettent d’améliorer le suivi d’espèces rares ou discrètes et visent à renforcer les opérations de veille environnementale à l’échelle mondiale. Elles sont utilisées pour identifier, à partir d’un échantillon d’eau, de sol, de fèces ou de miel, l’ensemble des espèces d’un groupe taxonomique donné présentes dans le milieu étudié (ADNe Metabarcoding). Elles permettent également le suivi d’espèces cibles (ADNe Barcoding), souvent menacées ou exotiques envahissantes. Ces méthodes sont mises en œuvre dans le cadre d’études réglementaires (études d’impact environnemental) ou de projets de conservation, principalement en milieux aquatiques stagnants et courants. Les technologies VigiDNA® développées par SPYGEN reposent aujourd’hui sur 5 brevets et les scientifiques du pôle R&D sont auteurs de plus de 70 publications scientifiques dans des revues internationales. Les expertises VigiDNA® sont effectuées en collaboration avec des structures spécialisées en ingénierie environnementale qui sont regroupées au sein du réseau VigiDNA® (bureaux d’études, associations, collectivités territoriales, etc.).



En 2021, SPYGEN a lancé, en collaboration avec plusieurs partenaires publics et privés internationaux, la plateforme multi-acteurs Vigilife, qui vise à mettre en place un réseau mondial de surveillance de la biodiversité grâce à ces technologies de l’ADN environnemental et à améliorer nos connaissances sur l’ensemble du vivant.

II. Introduction

II.A. Contexte

La biodiversité marine est fortement menacée dans le monde. Destruction ou dégradation des habitats, surexploitation, pollution, érosion des terres qui engendre une augmentation de la turbidité et de la sédimentation, changement climatique et introduction d’espèces exotiques sont autant de menaces pour les écosystèmes marins côtiers du fait des activités humaines (Hastings et al., 2020; WWF, 2015). La perte de biodiversité à laquelle nous faisons face actuellement impacte le fonctionnement et la résilience des écosystèmes marins en les déstabilisant (Wang and Loreau, 2016). Historiquement, la plupart des sociétés humaines se sont installées à proximité du littoral, et encore aujourd’hui 44 % de la population mondiale se concentrent à moins de 150 km de la côte ([Atlas des Océans des Nations Unies](#)). Densément peuplée, la mer Méditerranée est parmi les régions marines les plus menacées et subit de profonds changements majeurs tant environnementaux que biologiques. Depuis plus d’un siècle, ces perturbations ont provoqué un profond remaniement des assemblages d’espèces ayant pour conséquence, en conjonction avec les modifications environnementales, une altération du fonctionnement des écosystèmes et donc une diminution potentielle des biens et services fournis aux sociétés humaines (pêche, tourisme, etc.) (Coll et al., 2010).

Dans ce contexte, deux Directives Européennes, la Directive Cadre Eau (DCE 2000/60/CE) et la Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin (DCSMM 2008/56/CE) imposent aux Etats membres

de l’Europe la surveillance et l’atteinte du bon état écologique de leurs eaux marines. Le bon état écologique correspond « à un bon fonctionnement des écosystèmes (au niveau biologique, physique, chimique et sanitaire) permettant un usage durable du milieu marin ». Onze descripteurs qualitatifs (annexe 1 de la [DCSMM](#)), communs à tous les États membres de l’Union européenne, servent à définir le bon état écologique : Biodiversité, Espèces non-indigènes, espèces commerciales, réseaux trophiques, eutrophisation, intégrité des fonds marins, changements hydrographiques, contaminants, questions sanitaires, déchets marins, bruit sous-marin.

La surveillance de l’état écologique nécessite à travers les descripteurs cités i) des méthodes d’échantillonnage de la biodiversité qui soient non-invasives, standards, non-destructives, exhaustives (espèces rares ou furtives) et peu coûteuses ; ii) des indicateurs des pressions et menaces exercées sur le milieu échantillonné et iii) des valeurs de références (en l’absence de pressions) pour les mesures de biodiversité afin de connaître leur gamme de variation et de pouvoir fixer des objectifs de gestion à atteindre sur l’état du milieu.

II.B. L’ADN environnemental, une nouvelle méthode d’inventaire

L’ADN est une molécule présente dans les cellules de tous les êtres vivants, depuis les bactéries jusqu’aux macroorganismes les plus complexes. Les êtres vivants laissent également des traces d’ADN dans leur environnement via du mucus, des gamètes ou des excréments par exemple. L’ADN environnemental est le matériel génétique obtenu directement à partir d’échantillons environnementaux (sol, sédiments, eau, air, etc.) et se caractérise par un mélange complexe d’ADN intracellulaire (provenant de cellules vivantes) ou extracellulaire (provenant de ces traces d’ADN) (Taberlet et al., 2018).

De la même façon que la police scientifique est capable d’identifier un coupable grâce à des traces d’ADN retrouvées sur une scène de crime, l’ADNe peut être utilisé pour identifier les espèces présentes dans un environnement. Chaque espèce possède en effet des séquences d’ADN propres, comme une « carte d’identité » ou un « code-barre » génétique. A partir d’un échantillon de plusieurs litres d’eau de mer, on peut ainsi extraire, amplifier et séquencer l’ADNe pour récupérer ces code-barres, qui sont ensuite comparés à une base génétique de références afin d’identifier les espèces qui étaient présentes dans la zone où l’échantillon a été prélevé.

La méthode ADNe est développée depuis le début des années 2000, d’abord en milieu d’eau douce, dans les sols puis dans l’environnement marin. Elle offre aujourd’hui un fort potentiel pour la réalisation de vastes inventaires de biodiversité ainsi que pour la détection d’espèces invasives ou menacées. La technique offre une alternative rapide, sans impact sur l’environnement et souvent moins onéreuse, aux méthodes traditionnelles qui requièrent l’expertise de spécialistes de la taxonomie.

Les inventaires de biodiversité ou les suivis d’espèces en milieu marin peuvent particulièrement bénéficier de la technologie ADNe, du fait de la difficulté d’accès inhérente à l’écosystème marin. Les méthodes classiques de suivis visuels en plongée sous-marine sont souvent coûteuses et lourdes à mettre en place, et les méthodes basées sur la pêche sont invasives pour l’écosystème. L’ADNe permet de détecter des espèces généralement non-recensées lors des suivis visuels, telles que les espèces cryptiques ou craintives, qui tendent à éviter les plongeurs. La technique permet aussi d’explorer des milieux difficilement accessibles telles que les zones profondes mésophotiques (30-150 m) et rariphotiques (au-delà de 150 m).

Les méthodes traditionnelles d’inventaire restent cependant indispensables pour collecter certaines données écologiques (taille des individus, stade de développement, abondance etc.). Utilisée en combinaison avec d’autres méthodes classiques d’inventaire, ou d’autres technologies émergentes telles que les suivis vidéos ou acoustiques ainsi que le deep learning, la méthode d’ADNe offre de nouvelles possibilités pour répondre à un vaste champ de questions écologiques, et pour réaliser des inventaires de biodiversité rapides et fiables à large échelle.

Étant une technique récente, l’ADNe requiert des développements technologiques et méthodologiques sur les différentes étapes du protocole, afin de garantir des données fiables et comparables dans l’espace et dans le temps. Les étapes principales du protocole ADNe sont la collecte des échantillons sur le terrain, l’extraction, l’amplification, le séquençage de l’ADN, et l’analyse bio-informatique des séquences ADN (voir encadré 1). A chacune de ces étapes, des paramètres clés doivent être considérés selon les objectifs de l’étude et les caractéristiques du milieu.

Il existe à l’heure actuelle de nombreuses techniques de collecte des échantillons (échantillonnage de surface ou profond, filtration *in-situ* ou prélèvement d’eau, point fixe ou transect) qui requièrent différents équipements (bateau, pompe, bouteille de prélèvement Niskin, plongeurs, etc.). Selon la technique employée, le volume d’eau filtré, le nombre de répliques et la profondeur de filtration doivent être déterminés en fonction des objectifs. Par exemple, une récente étude indique qu’en milieu tropical (récifs coralliens) un volume filtré de 180L est nécessaire pour obtenir un inventaire exhaustif des espèces de poissons présents sur un site (Stauffer et al., 2021). En milieu tempéré, moins riche en espèces, 20L étaient suffisants pour atteindre la saturation en espèces (Koziol et al., 2019).

A l’étape d’analyse moléculaire (amplification et séquençage de l’ADN), le choix du marqueur et des amorces sont des paramètres clés pouvant influencer les résultats (Zhang et al., 2020). Le marqueur correspond à la séquence d’ADN utilisée pour identifier les espèces. Les amorces sont de courtes séquences d’ADN utilisées pour cibler le marqueur dans l’ensemble de l’ADN présent dans l’échantillon et permettre son amplification. Le couple d’amorces utilisé peut être spécifique pour une espèce (approche Barcoding) ou universel pour un groupe taxonomique donné (approche Metabarcoding ; ex : poissons, mammifères, eucaryotes, etc.). Des études ont montré qu’en fonction des amorces utilisées (dans le cas d’une approche Metabarcoding), le nombre d’espèces identifiées à partir d’un même échantillon d’ADNe pouvait être très variable (Polanco et al., 2021; Zhang et al., 2020).

Que ce soit au niveau de l’échantillonnage ou au niveau de l’analyse moléculaire, l’optimisation des différents paramètres dépend fortement des caractéristiques de l’écosystème à étudier. La biodiversité présente dans la région, le type d’habitat, la profondeur et la circulation de l’eau peuvent par exemple influencer la quantité d’ADN collectée dans un échantillon. Il est donc primordial de mettre au point une méthodologie adaptée à la zone, en déterminant quels protocoles et paramètres sont les plus judicieux.

Encadré 1. Comprendre la méthode de l’ADN environnemental (ADNe)



La méthode ADNe comprend trois étapes clés : (i) la collecte des échantillons d'eau de mer sur le terrain, (ii) , l'extraction de l'ADN en laboratoire, l'amplification du groupe cible et son séquençage, et (iii) le traitement bioinformatique des données pour produire la liste des espèces présentes dans chaque échantillon.

(i) Collecte des échantillons

La collecte des échantillons en milieu marin consiste à filtrer plusieurs litres d'eau de mer. L'eau peut être collectée à l'aide de bouteilles puis filtrée à terre ou dans un laboratoire dédié, ou elle peut être filtrée directement sur le site d'échantillonnage à l'aide d'une pompe qui fait passer l'eau à travers d'un filtre qui retient l'ADN.

Le choix du volume d'eau filtré devra répondre aux besoins de l'étude et à la zone d'échantillonnage. Plusieurs répliques (plusieurs filtres prélevés sur un même site) sont généralement nécessaires pour maximiser le nombre d'espèces détectées. Le nombre de répliques devra également être décidé selon la zone d'études et les objectifs.

Le prélèvement de l'eau peut être réalisé en surface ou en profondeur (proche du substrat afin de maximiser la détection des espèces benthiques et démersales inféodés aux fonds marins). La filtration peut se faire à un point fixe, ou de manière intégrative le long d'un transect dont la longueur et le tracé seront décidés selon les besoins de l'étude.

Le filtre est ensuite rempli d'une solution tampon permettant de conserver l'ADN de façon stable à température ambiante jusqu'à son traitement au laboratoire.

(ii) Extraction de l'ADNe, amplification du groupe cible et séquençage

L'ADN contenu dans le filtre doit être extrait dans un laboratoire adapté en suivant un protocole strict afin de prévenir d'éventuelles contaminations entre échantillons.

Une fois extrait, l'ADN est amplifié par technique PCR (Polymerase Chain Reaction) afin de produire des millions de copies du fragment ciblé. Le choix du marqueur utilisé dépend du groupe taxonomique étudié (eucaryotes, poissons, mammifères, invertébrés), et vise à trouver le meilleur compromis entre résolution taxonomique et détectabilité des espèces les plus rares. Plusieurs marqueurs peuvent être combinés afin d'augmenter la résolution taxonomique. Pour identifier l'échantillon d'origine d'une séquence, un court fragment ADN appelé « tag » est incorporé aux amorces avant amplification en amont du séquençage. Les fragments amplifiés sont ensuite séquencés par une technique de séquençage haut débit.

(iii) Analyse bioinformatique

A l'issue du séquençage, les données brutes sont récupérées sous forme de séquences d'ADN. Ces séquences doivent être analysées par un pipeline bioinformatique pour identifier les espèces auxquelles elles correspondent. Le pipeline bioinformatique est une succession d'étapes faisant intervenir divers logiciels pour trier et filtrer les séquences afin d'en éliminer les éventuelles erreurs, puis les assigner à une espèce.

Pour une approche de metabarcoding, le pipeline bioinformatique permet de passer des données brutes (séquences ADN) à une liste de taxons présents dans chaque échantillon.

Lors de l'étape d'assignation taxonomique du pipeline, les séquences regroupées par similarité sont comparées avec les séquences d'une base de références (par exemple GenBank du National Center for Biotechnology Information (NCBI) ou, si disponible, une base de références locale développée pour la zone géographique étudiée), et elles sont assignées à un taxon. On obtient donc une liste des espèces présentes dans les différents échantillons.

Certaines séquences peuvent ne pas être assignées à une espèce, lorsque l'espèce qui a libérée l'ADN dans l'environnement n'est pas présente dans la base génétique de références, ou lorsque plusieurs espèces ont la même séquence génétique pour la région du génome ciblée. Dans ce cas, l'identification est réalisée au niveau du genre ou de la famille.

II.C. L'opportunité du confinement Covid-19

La pandémie de Covid-19 et le strict confinement de la population qui en a découlé durant le printemps 2020 (du 17 mars au 11 mai 2020) en France ont offert des **conditions exceptionnelles pour l'étude de la biodiversité et le lien entre l'état des écosystèmes et le niveau de pression exercé**. Les déplacements et activités de plaisance en mer ont été fortement limités jusqu'au 15 juin (Arrêté préfectoral [n°104/2020](#) du 2 juin 2020). La fréquentation humaine du littoral était en effet à un niveau minimum qui n'a jamais eu d'équivalent à l'ère industrielle. Les activités touristiques et sportives étaient interdites (y compris sur les plages), et l'activité de pêche était fortement réduite avec une baisse recensée de 34 % du nombre d'heures de pêche pour les bateaux de plus de 12 m en Méditerranée (Ifremer, 2021; Kalaydjian and Bas, 2022). Le trafic de passagers était à l'arrêt et le transport de conteneurs avait diminué de 20 % en moyenne au mois d'avril 2020, de nombreux navires servant alors de stockage flottant au large des ports (Hebrard, 2020). Si l'amélioration de la qualité de l'air a très vite été mesurée, l'influence de ce confinement et de la chute des activités humaines sur la biodiversité n'a pas encore été prouvée (Corlett et al., 2020).

II.D. Objectifs du projet eREF

Ce présent projet (eREF) vise à recenser la diversité des vertébrés (poissons osseux et cartilagineux et mammifères) qui pourrait se rapprocher du littoral et remonter des profondeurs dans le contexte exceptionnel de très faibles perturbations (loisirs, pêche nuisances sonores, etc..) en lien avec le confinement strict du printemps 2020. Nous avons profité de cette situation sans précédent pour retourner sur des sites échantillonnés en 2018 ou 2019 et établir les références d'indicateurs biologiques à la fois sur les sites anthropisés (ports et points forts identifiés dans le réseau IMPACT), les aires marines protégées (AMPs) et la zone mésophotique (50-100 m).

Les quatre objectifs de notre étude sont les suivants :

- 1. Compléter la base génétique de références pour les vertébrés marins de Méditerranée** (poissons osseux et cartilagineux) sur la partie 12S du génome mitochondrial afin de mieux assigner les fragments d'ADN environnemental à des espèces.
- 2. Réaliser un échantillonnage de l'ADN environnemental par filtration d'eau pour y explorer la biodiversité en poissons osseux et cartilagineux en situation de confinement de la population humaine en comparaison aux périodes de déconfinement.** Seront concernés 182 échantillons sur des sites côtiers méditerranéens le long d'un gradient d'impact humain (ports, stations de référence, aires marines protégées, zone mésophotique).
- 3. Mettre au point, évaluer l'état de référence et tester des indicateurs de l'état de santé des masses d'eaux côtières sous différentes contraintes anthropiques.**
- 4. Rédiger un guide méthodologique pour les méthodes ADNe et le calcul des indicateurs.**

III. Méthodologie des analyses ADNe en laboratoire

Suite à l'échantillonnage en mer (décrit plus loin dans le document), l'extraction et l'amplification de l'ADN ont été effectuées dans les locaux de SPYGEN, dans des laboratoires spécifiques pour ce type d'expertise (salles dédiées à chaque étape du protocole, pressions d'air différentielles, traitement UV, renouvellement fréquent de l'air, etc.). Le séquençage de l'ADN amplifié a été effectué par Fasteris, société pionnière dans le séquençage NGS, puis les analyses bioinformatiques ont été réalisées chez SPYGEN.

III.A. Extraction

Les extractions ont été réalisées en suivant le protocole décrit dans Polanco et al. (2020). Dans un premier temps, chaque capsule de filtration contenant le tampon de conservation CL1 a été agitée pendant 15 min sur un agitateur S50 (cat Ingenieurbüro™) à 800 rpm. Le tampon a ensuite été vidé dans deux tubes de 50 ml avant d'être centrifugé 15 min à 15 000 g. Le surnageant a été prélevé avec une pipette stérile, laissant 15 ml de liquide au fond de chaque tube. Ensuite, 33 ml d'éthanol et 1,5 ml d'acétate de sodium 3 M ont été ajoutés à chaque tube de 50 ml et conservés pendant au moins une nuit à -20°C. Les tubes ont ensuite été centrifugés à 15 000 g pendant 15 min à 6°C, et les surnageants ont été jetés. Après cette étape, 720 µl de tampon ATL du kit d'extraction DNeasy Blood and Tissue (Qiagen GmbH) ont été ajoutés à chaque tube. Chaque tube a ensuite été vortexé et le surnageant a été transféré dans un tube de 2 ml contenant 20 µl de protéinase K. Les tubes ont finalement été incubés à 56°C pendant 2 heures. Par la suite, une extraction d'ADN a été réalisée à l'aide de NucleoSpin® Soil (MACHEREY-NAGEL GmbH & Co.) à partir de l'étape 6 et en suivant les instructions du fabricant. Deux extractions d'ADN ont été réalisées par capsule de filtration. L'élution a été réalisée en ajoutant deux fois 100 µl de tampon SE. Les deux échantillons d'ADN ont été regroupés avant l'étape d'amplification et des tests d'inhibition ont été effectués en suivant le protocole décrit dans Biggs et al. (2015). Si un échantillon était inhibé, il était dilué cinq fois avant l'amplification.

III.B. Amplification et séquençage

Les amplifications d'ADN ont été réalisées dans un volume final de 25 µl, en utilisant 3 µl d'extrait d'ADN comme matrice. Le mélange d'amplification contenait 1 U d'AmpliTaQ Gold DNA Polymerase (Applied Biosystems), 10 mM de Tris-HCl, 50 mM de KCl, 2,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de chaque dNTP, 0,2 M de chaque amorce teleo (Valentini et al. 2016), 4 M d'amorce de blocage humain, et 0,2 g/µl d'albumine de sérum bovin (BSA, Roche Diagnostic). Les amorces ont été marquées en 5' avec un tag de huit nucléotides uniques pour chaque réplica. Chaque tag possède au moins trois différences avec les autres tags permettant l'attribution de chaque séquence à l'échantillon correspondant pendant l'analyse bioinformatique. Les tags pour les amorces « forward » et « reverse » étaient identiques. Le mélange PCR a été dénaturé à 95°C pendant 10 min, suivi de 50 cycles de 30 s à 95°C, 30 s à la température spécifique de chaque couple d'amorces et 1 min à 72°C, et une dernière étape d'allongement à 72°C pendant 7 min. Douze répliques de PCR ont été réalisés par échantillon. Après amplification, les échantillons ont été quantifiés par électrophorèse capillaire (QIAxcel ; Qiagen GmbH) et purifiés à l'aide du kit de purification MinElute PCR (Qiagen GmbH). Avant le séquençage, l'ADN purifié a été quantifié à nouveau par électrophorèse capillaire. Les produits de PCR purifiés ont été regroupés en volumes égaux pour atteindre la profondeur de séquençage théorique de lectures par échantillon selon le groupe cible. Les librairies ont été préparées en utilisant le protocole MetaFast (Fasteris). Le séquençage « pair-end » (2 × 125 pb) a été réalisé à l'aide du séquenceur Illumina Miseq avec le kit MiSeq Flow Cell v3 (Illumina) ou avec un séquenceur Nextseq en utilisant le kit NextSeq Mid (Illumina), en suivant les instructions du fabricant. Des contrôles d'extraction et de PCR négatifs (eau ultra-pure, 12 répliques) ont été amplifiés et séquencés en parallèle aux échantillons pour mettre en évidence d'éventuels contaminants.

III.C. Analyse bioinformatique

Après l'étape de séquençage, les séquences ont été analysées à l'aide de programmes implémentés dans le package OBITools (Boyer et al., 2016) en suivant le protocole décrit dans (Valentini et al., 2016). Les deux lectures issues du séquençage ont été assemblées avec le programme ILLUMINAPAIREDEND, en utilisant un score minimum de 40 et en ne récupérant que les séquences jointes. Les lectures ont ensuite été attribuées à chaque échantillon à l'aide du logiciel NGSFILTER. Un ensemble de données distinct a été créé pour chaque échantillon en divisant l'ensemble des données d'origine en plusieurs fichiers à l'aide d'OBISPLIT. Après cette étape, chaque échantillon a été analysé individuellement avant de fusionner la liste des taxons pour l'analyse écologique finale. Des séquences strictement identiques ont été regroupées en utilisant OBIUNIQ. Les séquences pouvant correspondre à des erreurs de PCR et/ou de séquençage (inférieures à 20 pb, comportant moins de 10 occurrences, ou étiquetées « internes » par le programme OBICLEAN) ont été rejetées. L'attribution taxonomique des séquences restantes a été réalisée à l'aide du programme ECOTAG en utilisant la base génétique de références Méditerranée établie dans le cadre de ce projet et la base de références publique internationale (European Nucleotide archive ENA release 142). Considérant l'affectation de quelques séquences aux mauvais échantillons en raison de « tag-jumps » (Schnell et al., 2015), toutes les séquences avec une fréquence d'occurrence < 0,001 par taxon et par librairie ont été supprimées. Nous avons également corrigé l'Index-Hopping (MacConaill et al., 2018) généré par des séquences qui passent d'une librairie à une autre au sein d'un même run d'analyse. Pour cela, nous avons considéré un seuil déterminé empiriquement par lot de séquençage à l'aide de blancs expérimentaux (c'est-à-dire des combinaisons d'étiquettes non présentes dans les librairies de séquençage) et supprimé les séquences en dessous de ce seuil.

IV. Résultats du projet eREF

IV.A. Vers une base de référence exhaustive pour la Méditerranée

La base génétique de référence correspond à un « catalogue de séquences ADN » des espèces auxquelles on va comparer les séquences d’ADNe trouvées dans les échantillons d’eau. Afin de pouvoir identifier une espèce à partir des traces d’ADNe, il est donc nécessaire que sa séquence d’ADN pour le marqueur utilisé ait été au préalable répertoriée dans la base de référence. L’ENA (European Nucleotide Archive) (Leinonen et al., 2011) est la base de référence la plus complète à l’échelle européenne. Le référencement étant le socle de l’efficacité de l’outil ADNe, un important travail de séquençage des espèces méditerranéennes a été réalisé de 2019 à 2020, et la base de référence continue d’être alimentée par de nouvelles séquences au fur et à mesure que les espèces encore non-répertoriées sont échantillonnées.

Pour compléter la base de référence, des échantillons de nageoires ont été prélevés sur des poissons d’aquariums, issus de débarquements de la pêche professionnelle ou capturés en milieu naturel à l’épuisette, dont l’espèce a été identifiée morphologiquement. L’échantillon de tissu a été conservé dans de l’alcool à 96 % avant d’en extraire l’ADN (Figure ci-dessous). Le gène 12S a été ensuite séquencé sur une portion de 675 paires de bases qui contient le fragment teleo utilisé comme marqueur ADNe.



Figure 1. Collecte de tissus pour augmenter la base de référence avec les pêcheurs, lors d’échouages ou avec des vétérinaires.

En 2019, 208 nouvelles séquences de 107 espèces avaient ainsi été ajoutées à la base de référence. **Grâce au projet eREF, 178 séquences de 39 espèces supplémentaires ont enrichi la base en 2021.** Le référencement actuel, combinant les séquences produites par nos partenaires et les séquences disponibles publiquement sur l’ENA, couvre 133 familles et 383 espèces de poissons méditerranéens, soit respectivement 78 % des familles et 60 % des espèces de Méditerranée (Tableau 1). **Pour les espèces côtières de Méditerranée française, on atteint une couverture de 75 %** (Boulanger et al., 2021). La liste complète des espèces référencées et leurs caractéristiques écologiques sont données en annexe 1.

Tableau 1. État de la base de référence du marqueur 12S teleo pour les poissons méditerranéens en Septembre 2021 après ajout des séquences issues du projet eREF

	Nombre total	% Méditerranée	% Med française
Espèce	383	60%	63%
Genre	252	63%	68%
Famille	133	78%	77%
Cryptobenthique	60	50%	60%
Demersal/Benthique	280	59%	65%
Pélagique	103	62%	59%
Espèces menacées (IUCN VU/EN/CR)	62	85%	83%
Espèces commerciales	344	57%	59%
Espèces invasives	68	49%	54%

Certaines espèces partagent la même séquence pour le marqueur teleo (Tableau 2), et ne peuvent donc pas être identifiées au niveau spécifique par l’ADNe. Les séquences partagées identifiées dans les échantillons d’ADNe sont donc assignées au niveau taxonomique supérieur (genre ou famille). Ces cas de redondance taxonomique sont présents pour les espèces génétiquement proches issues d’une divergence récente, appartenant généralement à un même genre. Par exemple, plusieurs espèces de crénilabres ont des séquences teleo identiques et sont donc identifiées comme *Symphodus* sp. dans les échantillons ADNe. Le denté partage sa séquence avec le pagre, les deux espèces sont donc assignées à la famille Sparidae dans les échantillons.

Comme la précision de la méthode ADNe dépend de l’exhaustivité de la base de référence, il est important de connaître la proportion d’espèces qui ont été séquencées dans une région donnée. Le remplissage des bases de référence est en effet très hétérogène spatialement et en fonction des taxons.

Afin d’identifier les zones bien/mal référencées pour les poissons marins et d’eau douce, le laboratoire MARBEC a développé une **application web R shiny, appelée GAPeDNA, pour répertorier l’état de couverture des bases de références à échelle mondiale**. Cette application permet de visualiser la proportion d’espèces séquencées de façon interactive sur une carte. L’utilisateur construit sa propre carte de taux de référencement en choisissant le taxon (poissons marins ou d’eau douce) et le marqueur génétique qui l’intéresse. L’application est accessible à l’adresse <https://shiny.cefe.cnrs.fr/GAPeDNA/>, et est régulièrement mise à jour en ajoutant les nouvelles espèces séquencées.

Tableau 2. Espèces partageant une séquence identique du marqueur *teleo*, nombre d’individus séquencés par espèce et assignation taxonomique des séquences partagées.

Espèce	Nombre de séquences	Assignation
<i>Alosa alosa</i>	2	<i>Alosa sp.</i>
<i>Alosa fallax</i>	1	
<i>Labrus merula</i>	5	<i>Labrus sp.</i>
<i>Labrus viridis</i>	2	
<i>Raja asterias</i>	2	<i>Raja sp.</i>
<i>Raja clavata</i>	4	
<i>Dentex dentex</i>	4	Sparidae
<i>Pagrus pagrus</i>	3	
<i>Spicara flexuosum</i>	1	<i>Spicara sp.</i>
<i>Spicara maena</i>	2	
<i>Spicara smaris</i>	3	
<i>Symphodus cinereus</i>	5	<i>Symphodus sp.</i>
<i>Symphodus mediterraneus</i>	1	
<i>Symphodus melops</i>	1	
<i>Symphodus roissali</i>	2	
<i>Symphodus rostratus</i>	2	
<i>Syngnathus abaster</i>	2	<i>Syngnathus sp.</i>
<i>Syngnathus taenionotus</i>	3	
<i>Syngnathus typhle</i>	2	
<i>Syngnathus typhle rondeleti</i>	1	
<i>Trachurus mediterraneus</i>	5	<i>Trachurus sp.</i>
<i>Trachurus trachurus</i>	1	
<i>Eutrigla gunardus</i>	3	Triglidae
<i>Trigla lyra</i>	2	
<i>Chelidonichtys obscurus</i>	1	Triglidae
<i>Trigloporus lastoviza</i>	2	

GAPeDNA met en évidence une forte hétérogénéité spatiale de la couverture des bases de références (Figure 2). Les zones équatoriales, qui sont particulièrement riches en espèces, présentent un déficit en termes de référencement. La Méditerranée et l’Europe du Nord sont au contraire particulièrement bien couvertes avec près de 40 % des espèces de poissons marins référencées. Pour les poissons côtiers de Méditerranée française, le taux de couverture atteint même 75 % du pool régional d’espèces grâce à la vaste campagne de séquençage menée en 2019-2020.

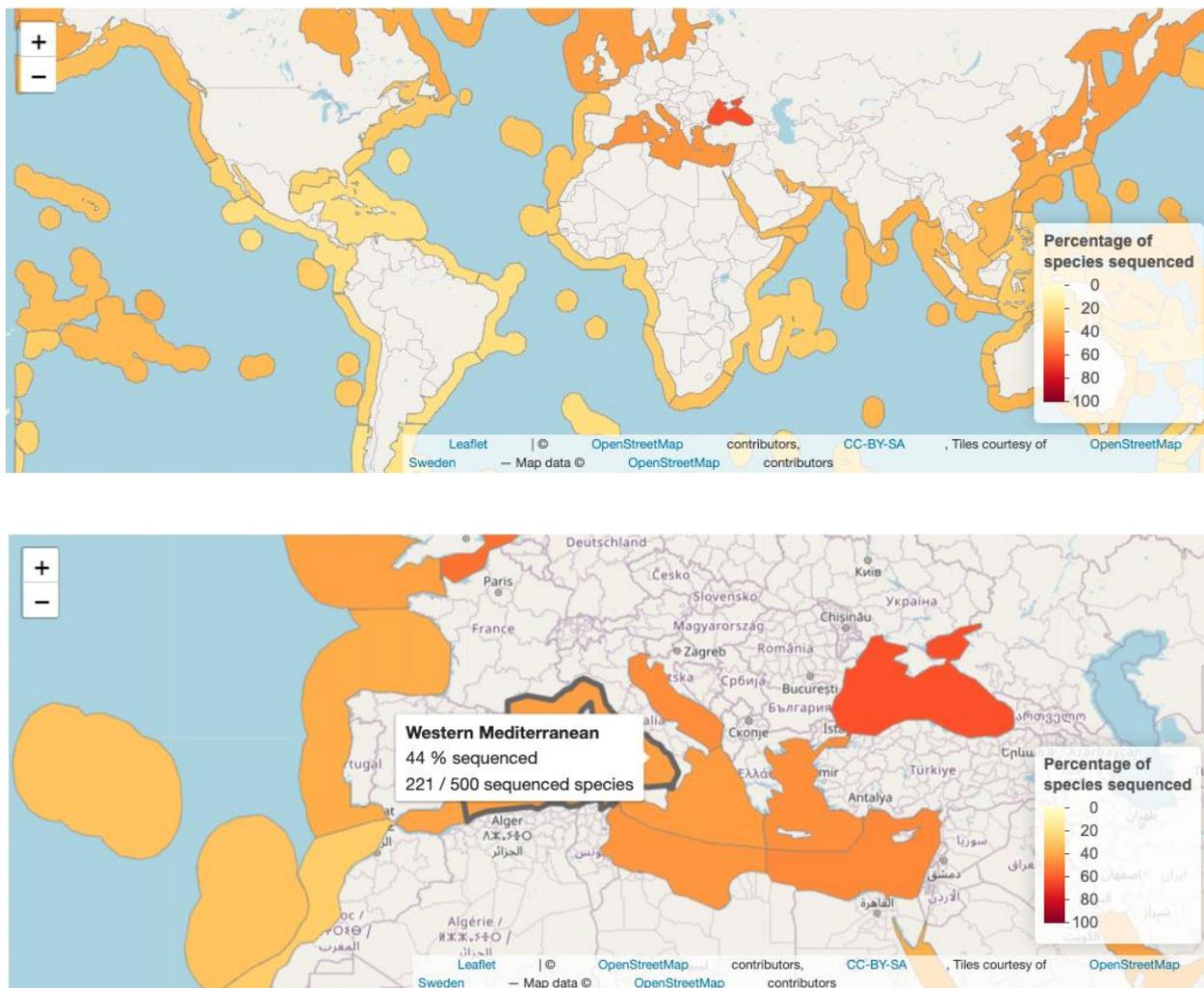


Figure 2. Carte extraite de l'application GAPeDNA v1.1.1 (accès Mars 2022) montrant le pourcentage d'espèces de poissons marins séquencées pour le marqueur génétique 12S *teleo* dans chaque province mondiale (haut), et spécifiquement pour les écorégions de Méditerranée (bas).

IV.B. Sélection et développement d'indicateurs écologiques

Afin de disposer d'un outil de surveillance de la biodiversité marine le plus complet possible, nous avons développé des indicateurs de biodiversité basés sur l'ADNe. **Ces indicateurs sont destinés à évaluer l'état des eaux côtières en matière de biodiversité des poissons.** Ils couvrent différentes composantes des assemblages d'espèces et renseignent sur divers paramètres écologiques importants pour le bon fonctionnement des écosystèmes marins. Une valeur d'indicateur peut être calculée pour chaque site à partir de la liste des espèces générée par l'échantillon d'ADNe.

Les **14 indicateurs** suivants ont été sélectionnés :

- **Richesse spécifique (RS)** : nombre total d'espèces de poissons (osseux et cartilagineux) présentes dans l'échantillon. Il répond donc au descripteur D1 (biodiversité) du bon état écologique de la stratégie pour le milieu marin (DCSMM).
- **Diversité fonctionnelle (DF)** qui caractérise la diversité des traits écologiques (régime alimentaire, croissance, reproduction, taille etc..) au sein d'un site. Il répond au descripteur D1 (biodiversité) de la DCSMM.

- **Diversité phylogénétique (DP)** des poissons osseux qui quantifie la diversité des lignées, c'est-à-dire l'éloignement génétique des espèces présentes dans un site. La diversité phylogénétique informe sur des caractéristiques écologiques partagées par des espèces génétiquement proches. Il répond au descripteur D1 (biodiversité) de la DCSMM.
- **« Large Fish Indicator » (LFI)** quantifie le nombre d'espèces de poissons de récif de grande taille (20 cm ou plus à l'âge adulte). Cet indicateur informe les « target » 6 (Pêches), 10 (Écosystèmes vulnérables) et 11 (Aires protégées) d'Aïchi et l'objectif 14.2 de développement durable des Nations Unies. Il répond donc aux descripteurs D3 (espèces commerciales) et D4 (réseau trophique) de la DCSMM.
- **Indicateur crypto-benthique (CB)** quantifie le nombre d'espèces de poissons benthiques (i.e. vivants sur le fond) au comportement ou à la morphologie cryptique, et de petite taille (mesurant typiquement moins de 5 cm à l'âge adulte). Ces espèces constituent une part importante de la biodiversité, un « maillon » essentiel du réseau trophique et sont rarement comptabilisées par les méthodes classiques d'échantillonnage car trop petites et cachées. CB renseigne les descripteurs D1 (biodiversité) et D4 (réseau trophique) de la DCSMM.
- **Ratio démerso-pélagique / benthique (RDB)** correspond au ratio du nombre d'espèces démersales et pélagiques sur le nombre d'espèces benthiques. Cet indicateur informe sur le réseau trophique de la communauté, et est particulièrement sensible à l'effet des aires protégées. Il répond aux descripteurs D1 (biodiversité) et D4 (réseau trophique) de la DCSMM.
- **Indicateur "Red List" (IUCN)** informe sur le statut de conservation des espèces présentes dans l'échantillon. Cet indicateur quantifie les espèces classées comme vulnérables (VU), en danger (EN) et en danger critique (CR) sur la Liste rouge des espèces menacées de l'IUCN (<https://www.iucnredlist.org/>). Un poids est assigné à chaque statut : 1, 2 ou 3 pour les statuts VU, EN et CR respectivement. L'indicateur correspond à la somme des espèces pondérées par leur statut. Il répond au descripteur D1 (biodiversité) du bon état écologique car en lien avec la capacité des AMPs à préserver les espèces vulnérables.
- **Indicateur non-indigène (NI)** correspond au nombre d'espèces invasives ou exotiques présentes sur le site échantillonné. Il répond donc au descripteur D2 (espèces non-indigènes) du bon état écologique.
- **Indicateur thermique des poissons (TP)** quantifie les changements dans la composition des communautés de poissons qui peuvent être liées à l'augmentation des températures de l'eau de mer. TP représente une température "préférée" de l'assemblage d'espèces de l'échantillon. Cet optimum thermique est calculé pour chaque espèce à partir de son aire de répartition globale. TP est calculé comme la moyenne des optimums thermiques des espèces présentes dans un site. L'indicateur renseigne sur les impacts du changement climatique dans les habitats côtiers. Si TP s'éloigne des températures du site, cela signifie que les espèces ne sont plus adaptées aux conditions locales et sont donc vulnérables aux extinctions locales. Cet indicateur répond au descripteur D1 (biodiversité), plus particulièrement sur l'aspect « adaptation aux conditions climatiques existantes ».
- **Indicateur elasmobranch (EL)** quantifie le nombre d'espèces de raies et de requins détectées dans un site. Ces espèces ont des stratégies d'histoire de vie lentes (taux de fécondité faible et croissance lente) qui les rendent particulièrement vulnérables aux impacts humains. Il répond au descripteur D1 (biodiversité) du bon état écologique.
- **Indicateur niveau trophique (NT)** correspond au niveau trophique moyen de la communauté. Le niveau trophique de chaque espèce est calculé par FishBase en fonction de son régime alimentaire. Il varie entre 2 (espèce 100% herbivore) et 4 (espèce 100% piscivore). NT est la moyenne des niveaux trophiques des espèces présentes dans l'échantillon. Il répond au descripteur D4 (réseau trophique) de la DCSMM.

- **Indicateur commercial (Co)** quantifie le nombre d'espèces de poisson à intérêt commercial dans l'échantillon. Il répond donc au descripteur D3 (espèces commerciales) de la DCSMM.
- **Indicateur hautement commercial (HCo)** quantifie le nombre d'espèces de poisson à fort intérêt commercial, c'est-à-dire ciblées par la pêche professionnelle. HCo répond donc au descripteur D3 (espèces commerciales) de la DCSMM.
- **Indicateur de vulnérabilité (VU)** quantifie la sensibilité moyenne de la communauté à l'exploitation. La sensibilité d'une espèce à l'exploitation est calculée par FishBase à partir de 8 traits d'histoire de vie. Elle prend une valeur entre 1 (espèce très peu vulnérable) et 100 (espèce fortement vulnérable). VU correspond à la moyenne des scores de sensibilités des espèces présentes dans l'échantillon. Cet indicateur répond au descripteur D3 (espèces commerciales) de la DCSMM.

Le calcul des indicateurs et les hypothèses sur lesquelles ils sont basés sont détaillés dans le tableau ci-dessous. Les données de traits des espèces utilisés pour le calcul des indicateurs ont été extraits de la base de données FishMed (Albouy et al., 2015) et de FishBase (Froese and Pauly, 2023).

Tableau 3. Détail du calcul des indicateurs, hypothèses et références associées

Indicateur	Source des données	Calcul	Descripteur DCSMM	HyRéférences	
Richesse spécifique (S)		Nombre total d'espèces dans l'échantillon	D1 (biodiversité)	Richesse spécifique élevée en zones impactées en raison d'une diversité élevée d'espèces à bas niveau trophique	(Boulanger et al., 2021; Loiseau et al., 2021)
Diversité fonctionnelle (DF)	FishMed	Nombre de groupes fonctionnels. Les groupes fonctionnels ont été construits à partir des traits écologiques des poissons en utilisant l'algorithme clustering par recherche rapide et pic de densité basé sur les distances de G'wer entre paires d'espèces (Mouillot et al. 2021)	D1	Les impacts humains affectent les espèces partageant des traits communs. Les AMPs pourraient préserver un plus large espace fonctionnel.	(D'agata et al., 2014; Mouillot et al., 2021)
Diversité phylogénétique (DP)	Fish Tree of Life (Rabosky et al., 2018)	Somme des longueurs de branches de l'arbre phylogénétique construit avec les espèces de poissons osseux présentes dans l'échantillon (Faith, 1992)	D1	La diversité phylogénétique peut capturer des traits écologiques non-mesurés	(D'agata et al., 2014; Rabosky et al., 2018; Winter et al., 2013)
Large fish index (LF)	FishMed	Nombre d'espèces dont la taille moyenne est supérieure à 20cm	D3 (espèces commerciales) et D4 (réseau trophique)	L'exploitation cible les espèces de grande taille. L'effet de la pêche et des AMPs est surtout visible sur la biomasse et l'abondance plutôt que sur le nombre d'espèces	(Claudet et al., 2006)
Indicateur crypto-benthique (CB)	FishMed	Familles de poissons benthiques dont plus de 10% des espèces ont une taille moyenne adulte <5cm (listées dans Brandl et al. 2018)	D1 et D4	Forte diversité des espèces de petite taille en zones impactées en raison d'une pression de prédation réduite	(Boulanger et al., 2021; Brandl et al., 2018)
Ratio démerso-pélagique / benthique (RD)	FishMed	Nombre d'espèces démersales et pélagiques / (nombre d'espèces benthiques + 1)	D1 et D4		
Indicateur "Red List" (IUCN)	Red List of Threatened Species (IUCN, 2021)	Somme pondérée des espèces sur la Liste Rouge de l'IUCN VU=1, EN=2, CR=3	D1	Les espèces menacées sont plus nombreuses en zones protégées	(Loiseau et al., 2021)
Indicateur non-indigène (NI)	Surveillance des espèces envahissantes (Otero et al. 2013)	Nombre d'espèces non-indigènes	D2 (espèces non-indigènes)	Le changement climatique augmente le nombre d'espèces non-indigènes à potentiel envahissant	(Bates et al., 2020; Otero et al., 2013)

Indicateur thermique des poissons (TP)	Basé sur la niche thermique des espèces (Albouy et al., 2013)	Moyenne des affinités thermiques des espèces présentes dans l'échantillon	D1	L'augmentation des températures peut modifier les communautés de poissons en augmentant la survie des espèces thermophiles	(Giakoumi et al., 2017; Guidetti et al., 2014)
Indicateur elasmobranch (EL)		Nombre d'espèces de requins et de raies	D1	Les élasmobranches sont très impactés par les pressions en raison de leur cycle de vie lent. Les espèces mobiles sont peu sensibles à l'effet des AMPs de petite taille	(Dwyer et al., 2020; Juhel et al., 2017)
Indicateur niveau trophique (NT)	FishBase	Moyenne du niveau trophique des espèces présentes dans l'échantillon. Le niveau trophique T d'une espèce est calculé à partir de son régime alimentaire : $T = 1 +$ moyenne pondérée de l'indice trophique des aliments consommés	D4	Les espèces a haut niveau trophique (top-prédateurs et piscivores) sont fortement impactées par les pressions. Les AMPs pourraient protéger l'équilibre trophique des communautés	(De Lope Arias et al., 2016; Graham et al., 2017)
Indicateur commercial (Co)	FishMed	Nombre d'espèces à intérêt commercial	D3	La pêche impacte l'abondance et la biomasse des espèces commerciales, mais pas forcément le nombre d'espèces présentes.	(Guidetti et al., 2014; Sciberras et al., 2015; Thiault et al., 2019)
Indicateur hautement commercial (HCo)	FishMed	Nombre d'espèces à fort intérêt commercial (ciblées par la pêche professionnelle artisanale et industrielle)	D3		
Indicateur de vulnérabilité (VU)	FishBase	Moyenne de la "sensibilité à la pêche" des espèces présentes dans l'échantillon. La sensibilité d'une espèce est un score entre 0 et 100 calculé à partir de 8 traits d'histoire de vie.	D3	Les espèces sensibles à la pêche sont plus impactées par les pressions et répondent plus fortement aux mesures de protection	(Blowes et al., 2020; Cheung et al., 2005)

IV.C. Le développement de l’outil de calcul en ligne des indicateurs sur MEDTRIX

La localisation des sites d’échantillonnage par ADN environnemental ainsi que l’ensemble des indicateurs calculés sont disponibles en visualisation sur la plateforme MEDTRIX, sur le projet PISCIS de suivi des assemblages ichtyologiques (www.medtrix.fr). L’accès est gratuit après inscription (gratuite).

La plateforme cartographique permet de visualiser la localisation des différents sites d’échantillonnage ainsi que la réglementation (Figure 3).

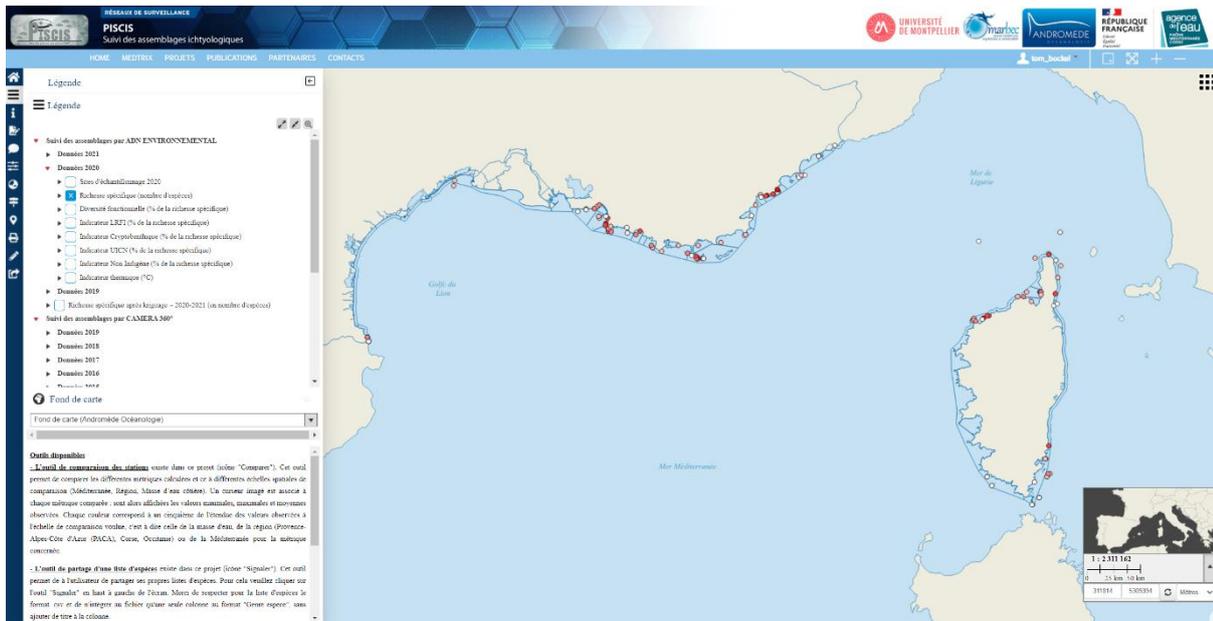


Figure 3. Visualisation sur Medtrix des sites d'échantillonnage par ADN environnemental en 2020.

Ce projet fournit aussi la possibilité de comparer les indicateurs entre les différents sites, et de visualiser la distribution des indicateurs à l'échelle de la masse d'eau et de la région, à l'aide de l'outil « Comparer » qui se trouve dans la barre d'outils à gauche de l'écran (Figure ci-dessous).

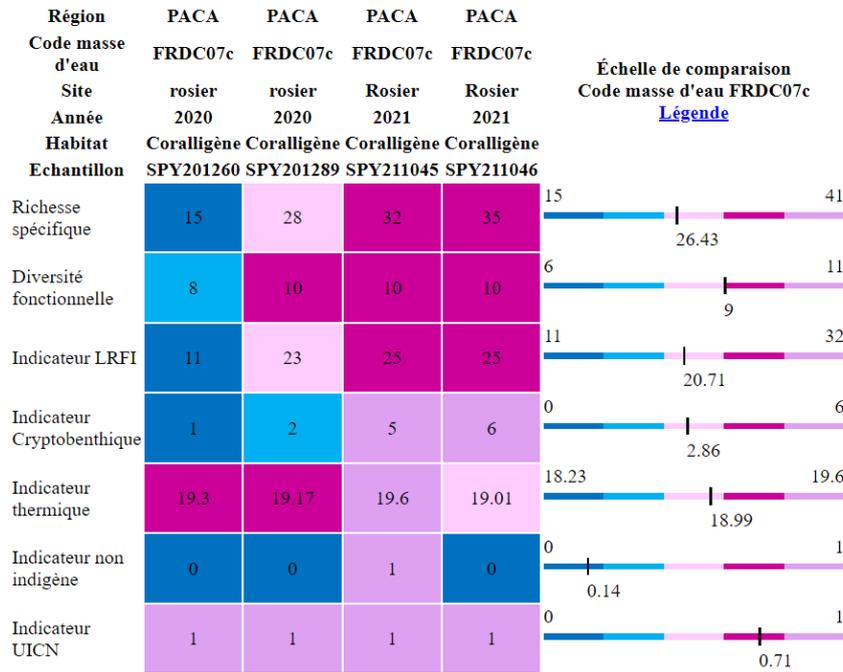
L'outil « Comparer » fournit la possibilité de comparer entre elles les stations de suivi par caméra entre 2015 et 2019 d'une part, et les stations de suivi par ADN environnemental entre 2019 et 2021 d'autre part.

Un curseur imagé (Figure ci-dessous) permet à l'utilisateur de situer la valeur observée au sein de la région, la masse d'eau pour la méditerranée française, par rapport aux valeurs minimales, maximales et moyennes enregistrées dans la zone.

Comparaison des indicateurs



[Enregistrer en PDF](#)



Légende du curseur imagé associé à chaque paramètre détaillé :

Sont affichées les valeurs minimale, maximale et moyenne observées pour chaque paramètre sur tous les éléments Réseaux de surveillance échantillonnés en Méditerranée. Chaque couleur correspond à un cinquième de l'étendue des valeurs observées à l'échelle de comparaison voulue, c'est à dire celle de la masse d'eau, de la région (Provence-Alpes-Côte d'Azur (PACA), Corse, Languedoc-Roussillon (LR)) ou de la Méditerranée pour le paramètre concerné.

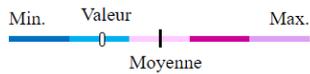


Figure 4. Exemple de comparaison des échantillons sur le site Rosier entre 2020 et 2021, à l'échelle de la masse d'eau.

Ce projet fournit aussi la possibilité à l'utilisateur d'importer sa propre liste d'espèces, à l'aide de l'outil « Signaler ». L'accès à l'outil « Signaler » se trouve dans la barre d'outils à gauche de l'écran. Avec cet outil, l'utilisateur peut renseigner un commentaire (onglet « commentaires ») ou un nouveau site de collecte de données participatif (onglet « Sites participatifs »). L'utilisateur doit alors positionner la localisation du site sur la carte, et renseigner ses caractéristiques. Les caractéristiques principales dont la saisie est obligatoire sont l'auteur, l'e-mail, le site, la date, l'habitat, la profondeur, le type (ADN, Caméra ou autre) et la liste d'espèces. La liste d'espèces doit être au format « .csv » et ne contenir qu'une seule colonne sans entête au format "Genre espèce". L'utilisateur doit effectuer une saisie par échantillon (= par filtre pour ADN ou par système caméra pour vidéo). Un exemple de structure de fichier est fourni en annexe 2.

Une fois le site participatif renseigné, sa localisation apparaîtra directement sur la plateforme MEDTRIX. Les indicateurs calculés sur cette nouvelle liste d'espèce apparaîtront sous 24h sous réserve de format adapté pour la liste d'espèces.

Signaler ←

Formulaire Digitalisation

Sites participatifs

Organisme

Auteur*

Email*

Programme

Longitude

Latitude

Site*

Date* Jour Mois

Heure

Habitat*

Profondeur*

Type*

Liste d'espèce Ajouter/Modifier
(.csv)* Aucun fichier choisi

Code spygen

commentaires

Après enregistrement*

Figure 5. Formulaire de saisie de site participatif

IV.D. Évaluation de la qualité écologique des eaux côtières à partir de l'ADNe metabarcoding

IV.D.1. Données ADNe existantes (préalables au projet)

****En aires marines protégées et proches environs.** Six régions ont été échantillonnées pour l'ADNe en 2018 et 2019 dans le cadre du projet Biodiversa Reserve Benefits avec trois sites par région : au sein de l'aire marine protégée (AMP), à 5 km en dehors, et à 10 km dehors (Boulanger et al., 2021). Les AMPs concernées sont les suivantes : Parc Naturel Marin du Golfe du Lion (11/07/2019) avec la réserve naturelle marine de Cerbère-Banyuls, Parc Marin de la Côte bleue (5/06/2018) avec la réserve de Carry-le-Rouet, Parc National des Calanques (1/07/2019) avec la zone de non-prélèvement de Riou, la réserve marine de Cap Roux (21/06/2018), Parc National de Port-Cros (15/06/2018) avec la réserve de Porquerolles, le cantonnement de pêche de Calvi à la pointe de la Revellata (19 et 20/05/2018). L'échantillonnage est réalisé à l'aide d'une pompe péristaltique Athena® alimentée par une batterie 12V et d'un kit VigiDNA MW1 (SPYGEN) qui intègre les consommables nécessaires et notamment un tuyau, une crépine, une capsule de filtration à très faible porosité (0,2 µm) ainsi qu'un tampon de conservation de l'ADN (CL1). L'échantillonnage se fait par filtration de 30 litres d'eau de mer à un débit d'1L/min, en surface, le long d'un transect, depuis le bateau. Les transects sont réalisés au plus proche de la côte sur une distance de 2 km. La capsule de filtration contenant l'ADNe est ensuite envoyée au laboratoire pour identifier les espèces de poissons présentes sur chaque site. Pour chaque site, deux transects avec deux filtrations simultanées (un filtre de chaque côté du bateau) ont été effectués.

****En zone mésophotique,** deux sites ont été échantillonnés pour l'ADNe lors de l'expédition scientifique Gombessa 5 en Juillet 2019 : Beach Rock de Cassis (fond à -65 m) et le Tombant du Cap Lardier 2 (fond à -70 m). Sur chacun de ces sites, l'ADNe a été échantillonné (duplicat) en surface par la méthode décrite pour les aires marines protégées (voir ci-dessus) mais également au fond, en plongée, à l'aide d'une pompe péristaltique étanche développée pour l'étude et filtrant 30 L d'eau en 30 min. Le plongeur aidé d'un scooter sous-marin s'est déplacé le long d'un transect de 100 m.

IV.D.2. Échantillonnage ADNe du projet eREF en 2020

***En aires marines protégées et leurs environs proches.** Les six régions échantillonnées pour l'ADNe en 2018 et 2019 avec trois sites par région ont été ré-échantillonnées entre le 20 mai et le 4 juin 2020 avec la même méthodologie : Parc naturel marin du golfe du Lion (20/05/2020) avec la réserve de Cerbère-Banyuls, Parc Marin de la Côte bleue (27 et 28/05/2020) avec la réserve de Carry-le-Rouet, Parc national des Calanques (28/05/2020) avec la zone de non prélèvement de Riou, cantonnements de pêche de Cap Roux et de Saint-Raphaël (20 et 21 /05/2020), Parc national de Port-Cros (22/05/2020) avec la réserve de Porquerolles, cantonnement de pêche de la Revellata près de Calvi (03 et 04/06/2020).



Figure 6. Réalisation d’une filtration d’ADNe en surface à bord du Zembretta, annexe du Zembra (navire d’Andromède océanologie) à gauche et depuis un zodiac de la réserve à droite.

***En zone mésophotique**, les deux sites échantillonnés en 2019 ont été rééchantillonnés en mai 2020 (Figure ci-dessous). Sur chacun de ces sites, l’ADNe a été échantillonné (duplicat) au fond, en plongée, à l’aide de la pompe péristaltique étanche développée pour l’étude et filtrant 30 L d’eau en 30 min, sans déplacement. Un troisième site profond (–115 m) a été échantillonné (duplicata) le 20 juillet au large du Cap corse en plongée avec déplacement le long d’un transect de 100 m au niveau des anneaux coralligènes qui ont fait l’objet de l’[expédition Gombessa 6](#).



Figure 7. Filtrations d’ADNe faites à l’aide des prototypes de pompes étanches au fond de manière statique à gauche ou dynamique à droite (positionnement sur un scooter sous-marin). Images extraites des épisodes 1 et 2 de la [série « Confinement et biodiversité »](#) sur la chaîne YouTube [Gombessa Expeditions](#).

***Sur des sites suivis dans le cadre de réseaux de surveillance (RECOR, TEMPO), un port (vieux port de Marseille) et les environs d’une station d’épuration équipées de récifs artificiels (REXCOR)**, 116 échantillons d’ADNe ont été prélevés sur 68 sites entre le 7 mai et le 26 juin 2020 au fond, en plongée avec ou sans déplacement. Le coût des analyses des sites des réseaux de surveillance TEMPO et RECOR échantillonnés en Corse (entre le 5 et 26 juin) ont été financés par le **projet PISCIS** qui avait déjà planifié ces analyses pour 2020.

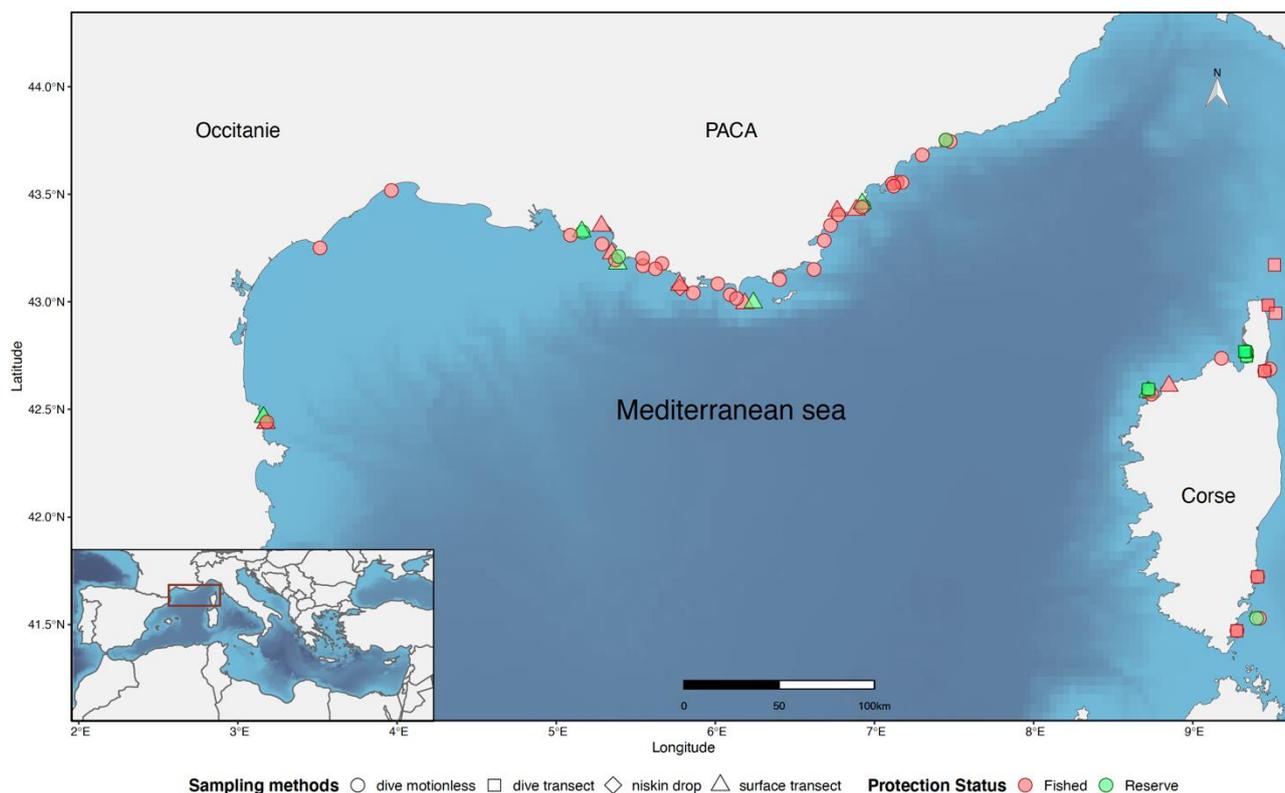


Figure 8. Localisation des 204 échantillons de 2020 (eREF et PISCIS) en fonction de la méthode d'échantillonnage et du niveau de protection de la zone.

IV.D.3. Calcul des indicateurs écologiques basés sur la diversité des poissons

Parmi les 204 échantillons (eREF + PISCIS), six n'ont pas donné de résultats utilisables (nombre de séquences insuffisants) et ont donc été retirés de la base de données.

Nous avons calculé les **14 indicateurs de biodiversité** pour les **198 échantillons d'ADNe** collectés sur l'année 2020 dans **57 sites différents de la région Sud, Occitanie et Corse**. La distribution de ces indicateurs est présentée en Figure 9 et les valeurs moyenne, minimale et maximale sont données dans le tableau ci-dessous.

Toutes les analyses présentées dans ce présent document ont été réalisées à partir de la liste d'espèces utilisant la base de référence de 2021.

Tableau 4. Valeurs moyennes, minimales et maximales par échantillon de 30L obtenues pour les différents indicateurs calculés à partir des données de 2020

Indicateur	Moyenne (\pm sd)	Min - Max
Richesse spécifique (RS)	24.25 (\pm 14.3)	1 - 54
Diversité fonctionnelle (DF)	8.4 (\pm 3.4)	1 - 16
Diversité phylogénétique (DP)	11.4 (\pm 5.2)	1.5 - 21.8
Large fish index (LFI)	17.8 (\pm 9.8)	0 - 40
Indicateur crypto-benthique (CB)	4.4 (\pm 4.3)	0 - 15
Ratio démerso-pélagique / benthique (RDB)	0.64 (\pm 0.26)	0 - 2
Indicateur "Red List" (IUCN)	1.18 (\pm 1.61)	0 - 7
Indicateur non-indigène (NI)	0.21 (\pm 0.46)	0 - 2
Indicateur thermique des poissons (TP)	19.1 (\pm 0.76)	15.7 - 23.6
Indicateur elasmobranchie (EL)	0.51 (\pm 0.92)	0 - 4
Indicateur niveau trophique (NT)	3.4 (\pm 0.17)	2.3 - 3.8
Indicateur commercial (Co)	9.65 (\pm 5.1)	0 - 21
Indicateur hautement commercial (HCo)	4.4 (\pm 2.8)	0 - 10
Indicateur de vulnérabilité (VU)	44.9 (\pm 4.7)	24.7 - 56.9

La **richesse spécifique est très hétérogène** entre les échantillons (de 1 à 54 espèces). Sur l’ensemble des échantillons, **trois espèces non-indigènes** ont été détectées dans 12 sites différents de Corse, de la région Sud et d’Occitanie. Les espèces non-indigènes identifiées sont la grande cicrelle (*Gymnammodytes semisquamatus*), détectée dans 6 échantillons, la blennie pilicorne (*Parablennius pilicornis*), détectée dans 28 échantillons, et la sole du Sénégal (*Solea senegalensis*) détectée dans 7 échantillons. **Neuf espèces de la Liste Rouge des espèces menacées de l’UICN** ont été identifiées : 3 espèces classées “en danger critique” CR (la raie-aigle vachette *Aetomylaeus bovinus*, la raie aigle *Myliobatis aquila* et l’ange de mer *Squatina squatina*), et 6 espèces classées “vulnérables” VU (Tableau 5).

Tableau 5. Liste et statut des espèces de la Liste Rouge des espèces menacées de l'IUCN identifiées dans les 198 échantillons de 2020, et nombre d'échantillons dans lesquels l'espèce a été détectée.

Espèce	Statut IUCN	Nombre d'échantillons
<i>Aetomylaeus bovinus</i>	CR	1
<i>Dasyatis pastinaca</i>	VU	17
<i>Epinephelus marginatus</i>	VU	45
<i>Mola mola</i>	VU	34
<i>Myliobatis aquila</i>	CR	19
<i>Pomatomus saltatrix</i>	VU	1
<i>Scyliorhinus stellaris</i>	VU	1
<i>Squatina squatina</i>	CR	1
<i>Torpedo marmorata</i>	VU	28

Dix espèces d'éla smobran ches ont été identifiées dans 29 des 57 sites échantillonnés : *Aetomylaeus bovinus* (1 échantillon), *Dasyatis pastinaca* (17 échantillons), *Dasyatis tortonesei* (26 échantillons), *Myliobatis aquila* (19 échantillons), *Prionace glauca* (1 échantillon), *Pteroplatytrygon violacea* (2 échantillons), *Scyliorhinus canicula* (5 échantillons), *Scyliorhinus stellaris* (1 échantillon), *Squatina squatina* (1 échantillon) et *Torpedo marmorata* (28 échantillons).

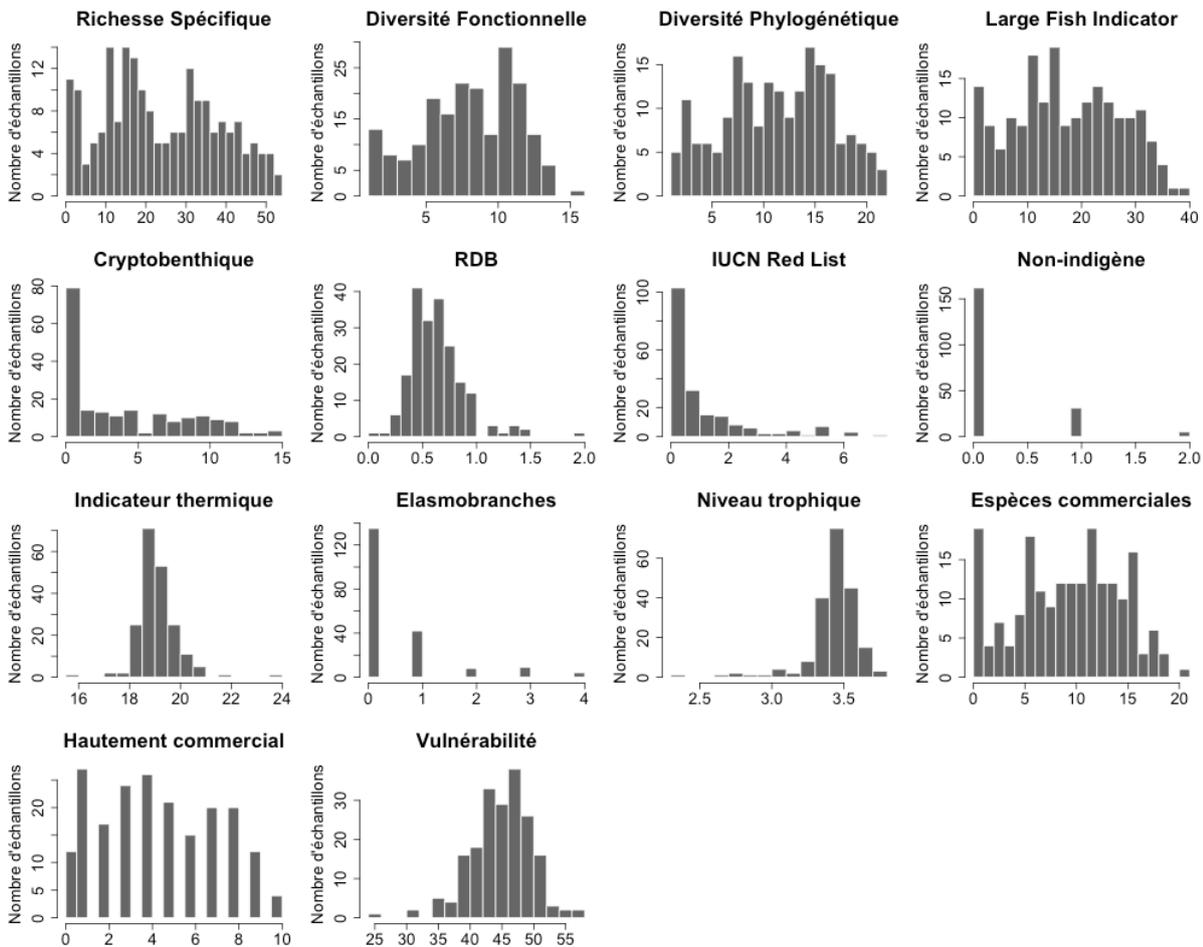


Figure 9. Distribution des 14 indicateurs calculés sur les 198 échantillons collectés en 2020.

IV.D.4. Impact du confinement sur la diversité de poissons

Les modèles de type GLM ont révélé que, lorsque nous contrôlons les facteurs environnementaux, la richesse en poissons est passée d'une moyenne de 25 espèces par échantillon d'ADNe avant le confinement à 33 pendant le confinement dans les zones de pêche, tandis qu'elle est passée de 23 espèces avant le confinement à 35 pendant le confinement à l'intérieur des AMP (Figure 10A). Cette **augmentation importante de la richesse en espèces pendant le confinement humain (+32,6 % dans les zones de pêche et +50,6 % dans les AMP)** suggère que les AMP sur les côtes densément peuplées ne peuvent pas être considérées comme des points de référence pour la biodiversité. En revanche, la quasi-exclusion des activités humaines le long de la côte méditerranéenne française, bien que temporaire, a induit une augmentation majeure de la biodiversité au niveau local et offre des objectifs de conservation ou de restauration plus réalistes en l'absence de zones naturelles.

Cette augmentation de biodiversité n'est pas seulement due aux espèces commerciales (Figure 10B) mais aussi aux espèces non commerciales (Figure 10C) qui sont devenues plus présentes à la fois dans les AMP et dans les zones de pêche pendant le confinement. La principale augmentation (+66 %) a été observée pour les espèces non commerciales dans les AMP avec une richesse moyenne par échantillon de 13 espèces avant le confinement et de 21 espèces pendant le confinement. Pour les espèces de poissons menacées (liste rouge de l'UICN), l'augmentation de la biodiversité pendant le confinement était moins prononcée, non significative et très variable (Figure 10D).

En revanche, le confinement, même si drastique mais de courte durée, n'a pas été en mesure de restaurer certains rôles fonctionnels uniques qui ne sont observés que dans les zones peu impactées. Par exemple, les espèces menacées comme les requins, qui présentent des combinaisons de traits extrêmes, étaient toujours absentes de la plupart des échantillons d'ADNe sous confinement ou protection (Figure 10D). Le confinement humain ne peut donc pas offrir à court terme un rebond de la biodiversité dans toutes ses dimensions.

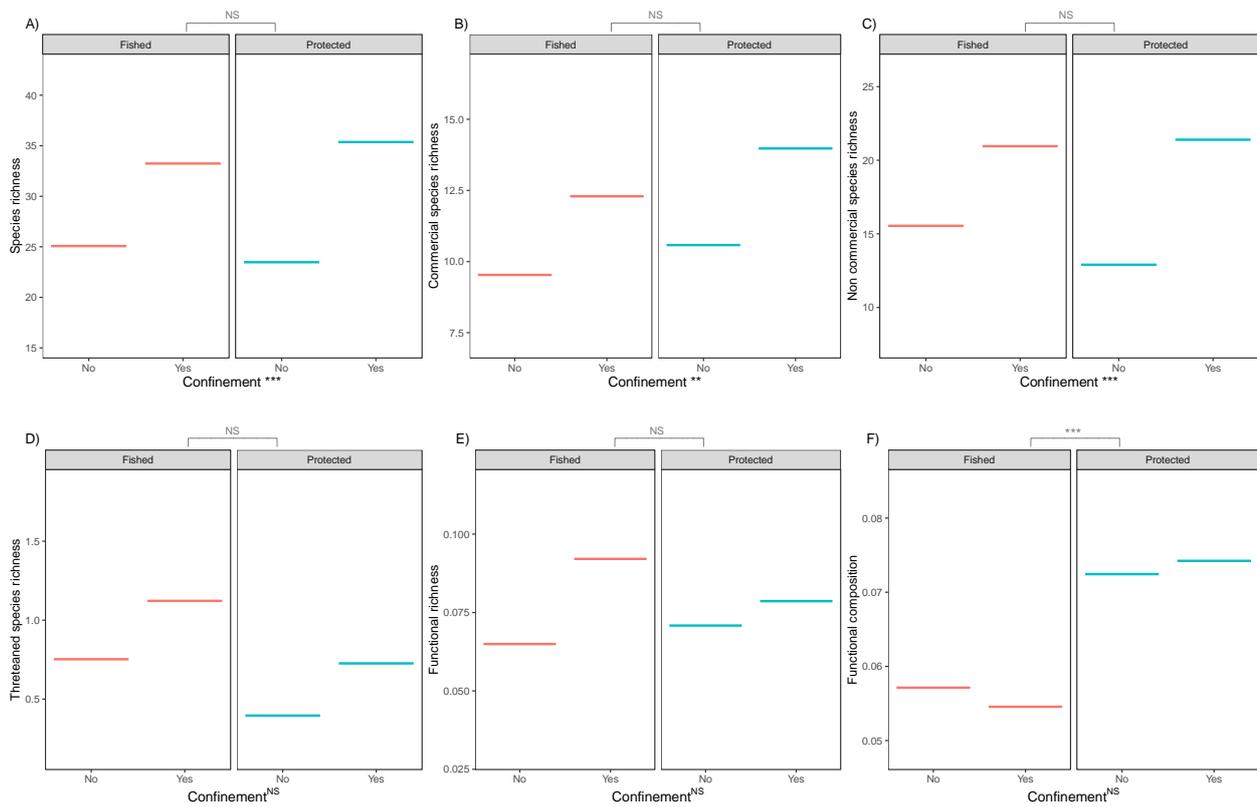


Figure 10. Relations entre six mesures de biodiversité et les effets combinés du confinement et de la protection. Ces relations sont extraites de modèles linéaires généralisés prédisant (A) la richesse totale en poissons, (B) la richesse commerciale, (C) la richesse non commerciale, (D) la richesse menacée ou inscrite sur la liste rouge de l’UICN, (E) la richesse fonctionnelle et (F) la composition fonctionnelle, tout en contrôlant les variables environnementales et l’autocorrélation spatiale. Les rectangles colorés représentent les intervalles de confiance à 95 % des variables réponses, le vert correspondant aux aires marines protégées et le rouge aux zones de pêche environnantes. Les rectangles de couleur uniforme correspondent à la période avant le confinement et les rectangles de couleur en pointillés à la période de confinement. La signification statistique des effets du confinement et de la protection (test ANOVA) est indiquée par NS non significatif, * valeur $p < 0,05$, ** valeur $p < 0,01$, ou *** valeur $p < 0,001$.

Ce résultat est renforcé par l’étude menée à Banuyls-sur-mer où nous avons pu échantillonner après le confinement. La Figure 11 montre que le confinement et l’arrêt temporaire des activités humaines sur la côte n’ont eu qu’un **effet de courte durée** sur la richesse spécifique en poissons. En effet, l’augmentation importante observée pendant le confinement (78 % d’espèces supplémentaires dans l’AMP) a été réduite à 35 % un mois après la fin du confinement. Les mêmes tendances et effets ont été observés pour les espèces non commerciales (Figure 11C). Cependant, nous avons

obtenu un niveau plus élevé, bien que non significatif, de richesse en poissons commerciaux dans les zones protégées que dans les zones pêchées pendant et après la période de confinement (Figure 11B), ce qui suggère un effet plus fort et plus durable du confinement dans les AMP pour les espèces exploitées uniquement.

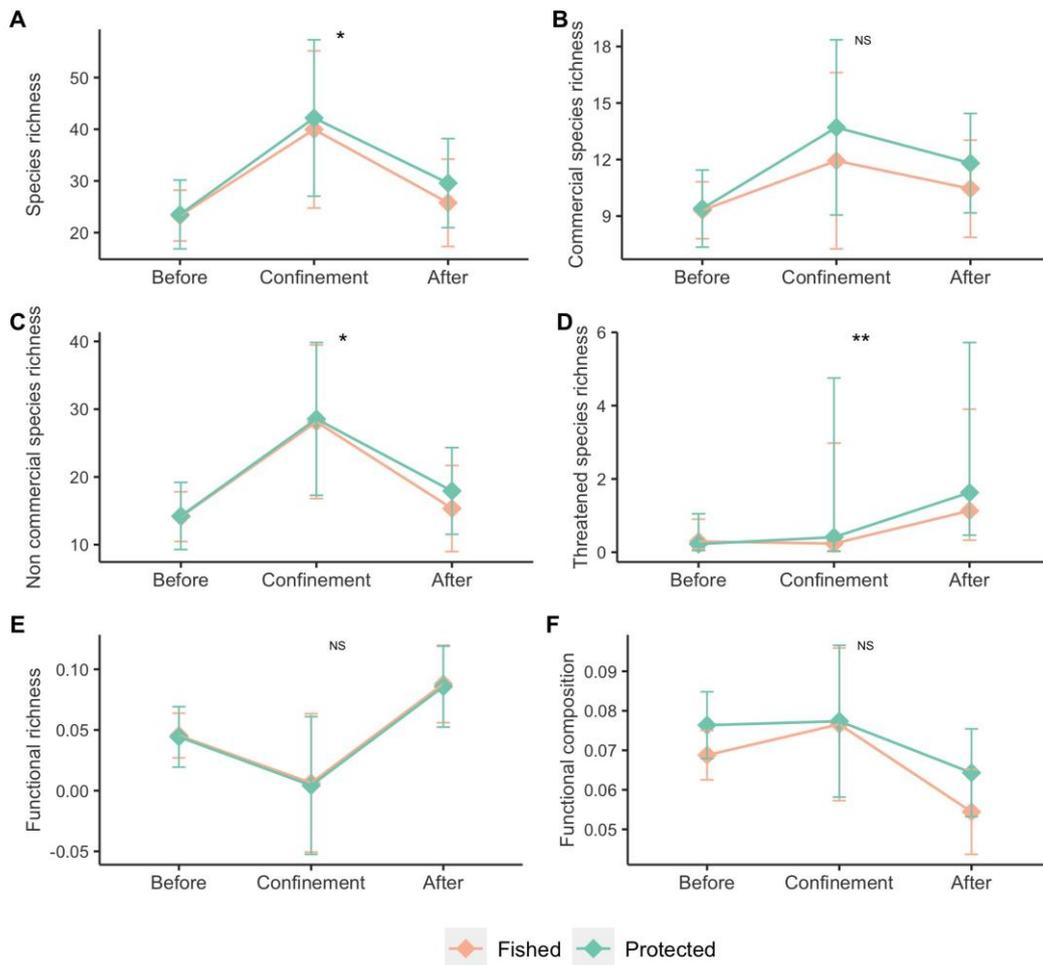


Figure 11. Relations entre six mesures de biodiversité et l'effet de la protection avant, pendant et après le confinement dans la région de Banyuls. Ces relations sont extraites de modèles linéaires généralisés prédisant (A) la richesse spécifique totale en poissons, (B) la richesse commerciale, (C) la richesse non commerciale, (D) la richesse menacée, (E) la richesse fonctionnelle et (F) la composition fonctionnelle, tout en contrôlant les variables environnementales saisonnières et l'autocorrélation spatiale. Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance à 95 % des réponses, le vert correspondant à l'aire marine protégée et le rouge à son extérieur pêché. La signification statistique de l'effet du confinement (test ANOVA) est indiquée par NS non significatif, * p -value $<0,05$, ** p -value $<0,01$, ou *** p -value $<0,001$.

La **richesse fonctionnelle**, c'est-à-dire la gamme de traits des poissons, a suivi le même schéma à l'intérieur et à l'extérieur de l'AMP sans **aucun effet du confinement** (Figure 11E). Nous avons détecté plus d'espèces démersales avant et après le confinement dans la zone protégée que dans la zone de pêche, mais le même niveau pendant le confinement. Cela signifie que certaines espèces exploitées et menacées ne sont présentes que sous un régime de faible perturbation sur la côte méditerranéenne. Par exemple, le mérrou (*Epinephelus marginatus*), espèce vulnérable et protégée, n'a été détecté qu'à l'intérieur de l'AMP de Banyuls avant, pendant et après le confinement, alors

qu'il n'a pas été détecté dans la zone de pêche, même pendant le confinement. Cette espèce est connue pour être sédentaire et dépendante des AMP, de sorte que le confinement était certainement trop court pour promouvoir un changement d'aire de répartition, en particulier pour les mâles de grande taille et très territoriaux. La richesse des espèces menacées (liste rouge de l'UICN) a augmenté de manière significative pendant mais aussi après le confinement, à la fois à l'intérieur et à l'extérieur de l'AMP de Banyuls (Figure 11D), ce qui suggère un long délai pour que ces espèces recolonisent la côte. En particulier, la raie bouledogue (*Aetomylaeus bovinus*), espèce en danger critique d'extinction, n'a été détectée que pendant le confinement dans la zone de pêche. Cependant, les espèces menacées étaient trop rares (0 à 4 espèces par échantillon d'ADNe) pour que l'on puisse tirer des conclusions solides sur leur réaction au confinement humain. **Nos résultats suggèrent que la plupart des espèces menacées ont disparu des côtes méditerranéennes densément peuplées et peu protégées, empêchant leur retour rapide même lorsque les activités humaines cessent.**

Cette augmentation brutale de biodiversité sur une courte durée peut être due soit à une **migration temporaire** de certaines espèces des eaux profondes mésophotiques et rariphotiques, ou des refuges offshore soumis à des perturbations vers les eaux côtières peu profondes, soit à un **déconfinement** des poissons disséminant plus d'ADN dans la colonne d'eau en raison d'une plus grande activité. En effet, certaines études montrent une réduction des mouvements des vertébrés sous pression humaine, plaçant la faune en situation de confinement là où les activités humaines s'intensifient. À leur tour, ces changements dans la composition des espèces ou dans le comportement de déplacement peuvent influencer le fonctionnement des écosystèmes. Pourtant, malgré sa gravité et son ampleur, le confinement forcé a eu peu d'effet sur la présence des espèces menacées et des espèces les plus distinctes en termes de traits fonctionnels. Même si notre étude augmente d'au moins un tiers la richesse de référence en poissons côtiers, ces chiffres sont certainement inférieurs à une base de référence absolue dans des conditions « pristines » qui n'existent plus aujourd'hui, du moins sur les côtes méditerranéennes. Nos résultats sous confinement fournissent donc une base plus réaliste par rapport à laquelle l'érosion ou la restauration de la biodiversité peut être mesurée dans toutes ses dimensions. **Notre étude suggère également que la limitation des perturbations au-delà de la pression de pêche, comme le bruit ou la pollution lumineuse, pourrait aider à restaurer la biodiversité des poissons le long du littoral, même dans les zones protégées.**

IV.D.5. Influence des pressions sur la diversité de poissons

L'objectif de ce chapitre est d'explorer d'éventuelles relations entre les indicateurs de diversité calculés à partir des inventaires d'espèces issus de l'ADN environnemental et les pressions anthropiques, notamment celles modélisées dans le cadre du réseau IMPACT.

Les données utilisées dans cette analyse regroupent l'ensemble des indicateurs calculés sur les échantillons d'ADN environnemental entre 2019 et 2021 (310 échantillons) avec leurs caractéristiques (habitat, année, profondeur, présence d'une AMP) et les valeurs des 13 pressions du réseau IMPACT (Agriculture, Aménagements côtiers, Aquaculture, Pollution par les cours d'eau, Erosion/aggradation côtière, Effluents industriels, Mouillages grandes et petites unités, Pêche professionnelle, Urbanisation, Rejets urbains, Trafic maritime, Tourisme Balnéaire) mises à jour en 2021 à partir du travail de doctorat de Florian Holon (Holon, 2015), au droit de ces sites.

Une variable de fréquentation est ajoutée mesurant le nombre de navires différents passés à proximité (10 km) de chaque point d'échantillonnage ADNe dans les 3 jours précédant chaque date de collecte ADNe.

Différentes méthodes de collecte de données ont été utilisées sur ces échantillons (transects de fond, transects de surface, plongée sans transect, niskin).

La période 2019 - 2020 a vu un épisode de confinement strict en 2020. **Lors du confinement, on observe une légère chute de la fréquentation en navires sur les sites situés hors réserve (échantillons de surface, n = 136)** (Figure 12). Cette tendance n'est pas observée pour les échantillons non réalisés en surface (n = 142).

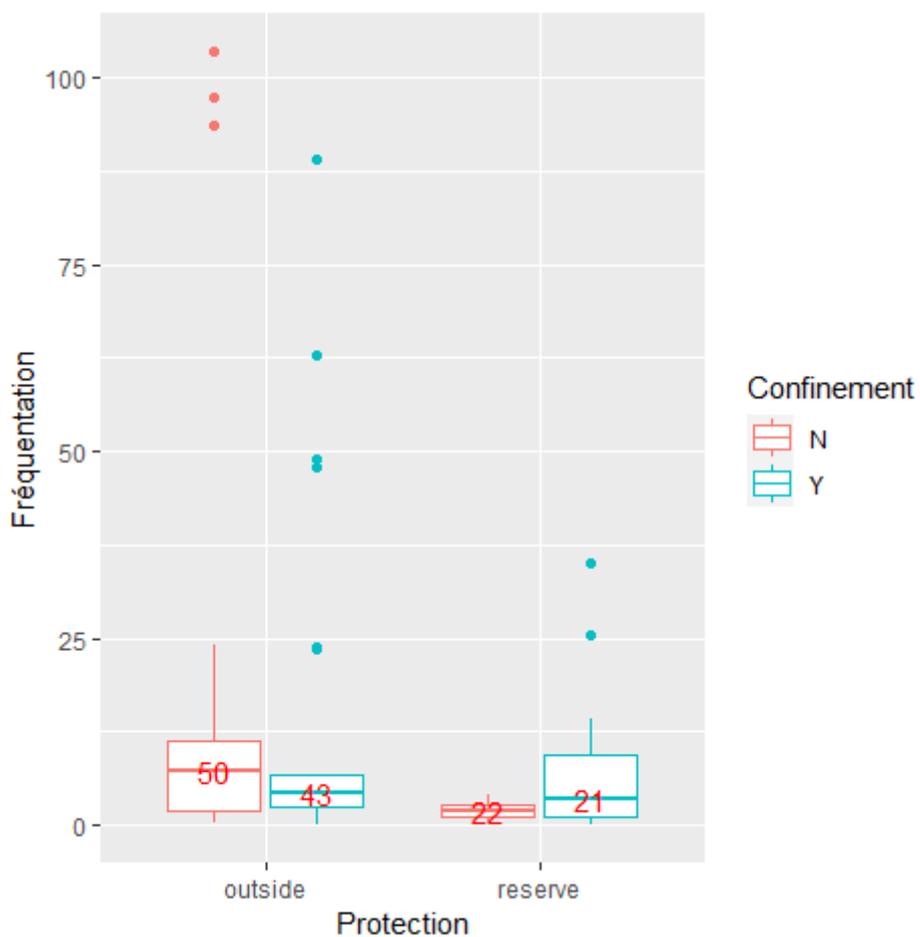


Figure 12. Effet du confinement sur la variable de fréquentation, en lien avec le statut de protection (136 échantillons en surface entre 2019 et 2020).

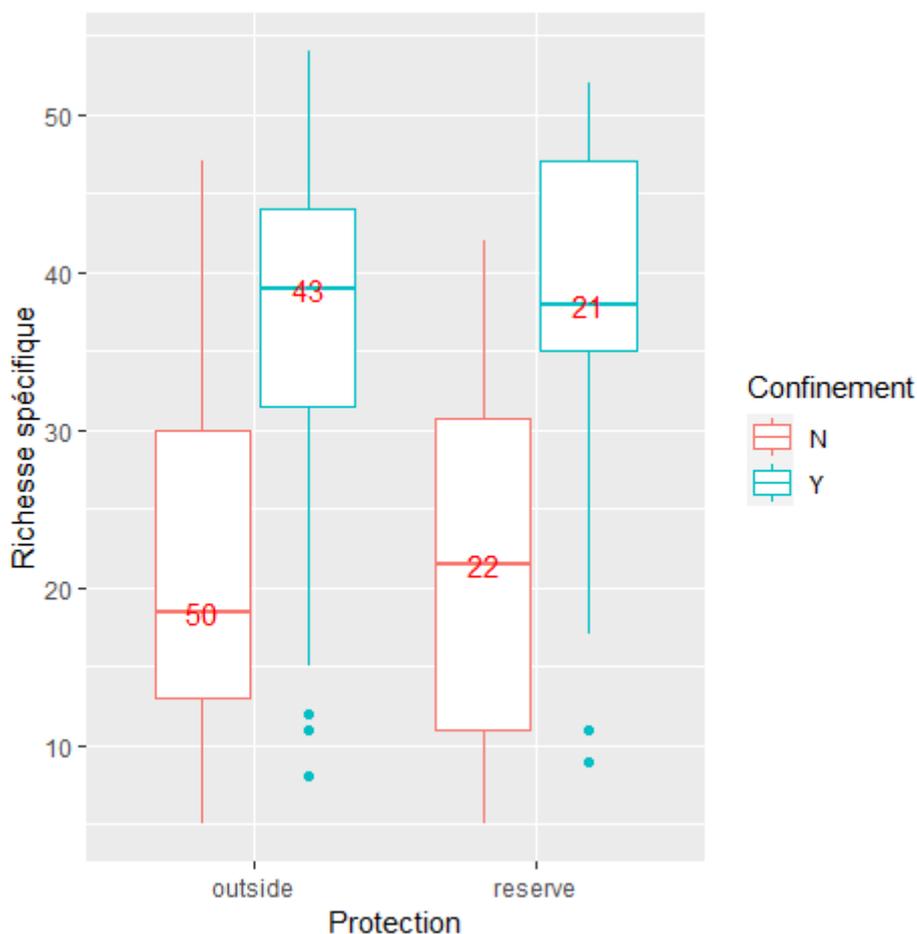


Figure 13. Richesse spécifique pendant et hors confinement dans et en dehors des réserves marines (136 échantillons de surface entre 2019 et 2020).

On observe de plus une **augmentation de la richesse spécifique en présence de confinement** sur les zones situées hors réserve et à l’intérieur des réserves (échantillons de surface, n = 136) (Figure 13). Cette tendance est aussi observée pour les échantillons non réalisés en surface (n = 142).

On regarde pour finir si l’influence des descripteurs de pressions anthropiques sur la richesse spécifique est différente pendant ou en dehors du confinement, à l’aide d’un modèle linéaire généralisé (GLM).

On ne garde pour cette analyse que les descripteurs profondeur, habitat et statut de protection ainsi que les pressions issues de l’agriculture, des aménagements côtiers, des apports des cours d’eau, de l’érosion, du mouillage des grands navires, de la pêche, des rejets urbains et du trafic maritime, les autres descripteurs de pression étant trop corrélés entre eux.

Tableau 6. Résultats des deux GLM expliquant la richesse spécifique d’une part durant le confinement et d’autre part en dehors du confinement, pour les échantillons ADNe de surface entre 2019 et 2020, n = 136). Les variables influentes sont indiquées avec la p-value associée à leur effet respectif (. = p < 0.1, * = p < 0.05, ** = p < 0.01, *** = p < 0.001)

Confinement	% variance expliquée	Variabiles influentes
oui	15	Rejets urbains (.)
non	30	Aménagements côtiers (***), agriculture (**)

Pour les échantillons de surface, les pressions anthropiques expliquent une faible part de la variance de la richesse spécifique, part diminuée de moitié lors du confinement. Alors que les aménagements urbains et l'agriculture sont les pressions qui expliquent le plus la richesse spécifique en temps normal, seuls les rejets urbains persiste comme variable explicative lors du confinement. Cette tendance est aussi observée pour les échantillons non réalisés en surface.

IV.E. Améliorations méthodologiques

IV.E.1. Paramètres d'échantillonnage : distance au substrat, moment de la journée et nombre de répliques

Afin de quantifier l'effet de différents paramètres d'échantillonnage sur les résultats obtenus par l'ADNe spécifiquement dans les eaux côtières de Méditerranée française, nous avons effectué des tests méthodologiques dans la zone de protection renforcée de la Réserve Marine de Cerbère-Banyuls. Cette zone de non-prélèvement est particulièrement riche en poissons et présente des caractéristiques écologiques représentatives de la côte rocheuse méditerranéenne. Elle offre donc un modèle d'étude pertinent pour calibrer une méthodologie d'échantillonnage appropriée à l'écosystème méditerranéen.

Nous avons testé l'effet des paramètres suivants sur les assemblages d'espèces recensés par l'ADNe :

- distance au substrat (profondeur du prélèvement par rapport à la profondeur du fond)
- moment de la journée
- nombre de répliques

Méthode

Echantillonnage

Nous avons prélevé un total de 16 échantillons de 30L d'eau de mer au cours de 4 sessions d'échantillonnage réalisées au même emplacement dans la zone de protection renforcée. Les sessions d'échantillonnage ont été effectuées le 27 et le 29 Juillet 2021, une le matin à 9h, et une le soir à 18h. Au cours de chaque session, deux répliques ont été collectés par des plongeurs à une distance d'environ 50 cm du substrat (entre 9 et 18 m de profondeur), et deux répliques ont été collectés en surface à environ 1 m de profondeur depuis un bateau. Les filtrations profondes et de surface ont été réalisées simultanément le long d'un même transect de 300 m durant 30 min, à un débit de 1 L/min afin de filtrer un volume de 30 L/réplica. Le bateau étant plus rapide que les plongeurs, les transects de surface ont été effectués en plusieurs allers et retours. Toutes les filtrations ont été effectuées avec le même prototype de pompe étanche submersible.

Lors de la dernière session d'échantillonnage, un comptage visuel des poissons a également été effectué par un plongeur scientifique du CEFREM en même temps que la filtration. Ces données ont permis de comparer les espèces identifiées par l'ADNe et par le comptage visuel par UVC (Underwater Visual Census, (Murphy and Jenkins, 2010)).

Extraction, séquençage et bioinformatique

Voir le chapitre III Méthodologie des analyses ADNe en laboratoire.

Analyses

Afin d'évaluer le nombre d'espèces présentes dans la zone d'échantillonnage et le pouvoir de détection de la méthode ADNe, nous avons employé une approche multi-modèles pour estimer

l'asymptote de la courbe d'accumulation des espèces (nombre d'espèces détectées en fonction du nombre d'échantillons). Nous avons considéré cinq modèles d'accumulation (Lomolino, Michaelis–Menten, Gompertz, régression asymptotique et courbe logistique) dont nous avons comparé l'ajustement sur la base de leur poids d'Akaike (Juhel et al., 2020). Nous avons sélectionné le modèle présentant le poids d'Akaike le plus faible et l'avons utilisé pour calculer une asymptote, qui représente une estimation du nombre total d'espèces présentes sur le site. Nous avons construit des courbes d'accumulation des espèces pour l'ensemble des 15 échantillons (16 – 1 vide) et séparément pour les échantillons collectés en plongée et en surface, à l'aide du package R 'vegan' avec 1000 randomisations. Afin d'estimer l'effort d'échantillonnage nécessaire pour atteindre une proportion donnée de l'asymptote, nous avons utilisé le meilleur modèle précédemment sélectionné pour prédire le nombre d'échantillons produisant un nombre d'espèces supérieur à 80 % et 90 % de l'asymptote.

Afin d'évaluer l'effet de la méthode d'échantillonnage et du moment de la journée sur la détection des espèces, nous avons calculé les indicateurs de richesse spécifique, cryptobenthiques, elasmobranches et espèces commerciales par méthode et par moment. Nous avons testé des paramètres "méthode", "moment" et "jour d'échantillonnage" sur ces quatre indicateurs à l'aide d'une analyse de la variance (ANOVA).

Nous avons ensuite testé l'effet de ces mêmes trois paramètres sur la composition en espèces à l'aide d'une analyse de la variance par permutation (PERMANOVA). Pour cela nous avons calculé les distances de Jaccard entre paires d'échantillons à partir de la matrice de présence/absence des espèces, puis nous avons effectué une PERMANOVA avec 1000 permutations avec la fonction *adonis2* du package R *vegan*. Nous avons également testé l'effet des interactions deux-à-deux entre les trois facteurs (méthode, moment et jour). Enfin, nous avons calculé la dispersion-beta pour tester la dissimilarité des variances entre les méthodes et entre les moments de la journée. Pour cela, nous avons utilisé la fonction *betadisper* du package R *vegan*. Finalement, nous avons réalisé des diagrammes de Venn montrant la différence de composition en espèces entre méthodes et moments.

Résultats

Un total de 6 399 204 séquences d'ADN (reads) a été produit, avec une moyenne de 426 614 reads par échantillon (minimum 309 063 et maximum 534 595). Un échantillon contenant un très faible nombre de séquences a été éliminé des analyses. Un total de 109 espèces a été identifié sur l'ensemble des 15 échantillons (Annexe 3), avec une moyenne de 56 espèces par échantillon (minimum 28 et maximum 72).

- Courbe d'accumulation des espèces

La courbe d'accumulation des espèces (Figure 14) montre la variation de la richesse spécifique en fonction de l'effort d'échantillonnage, c'est-à-dire le nombre de nouvelles espèces détectées par réplicat supplémentaire. Les courbes d'accumulation d'espèces par méthode d'échantillonnage (surface ou plongée) montrent une accumulation légèrement plus rapide avec un prélèvement profond (Figure 15).

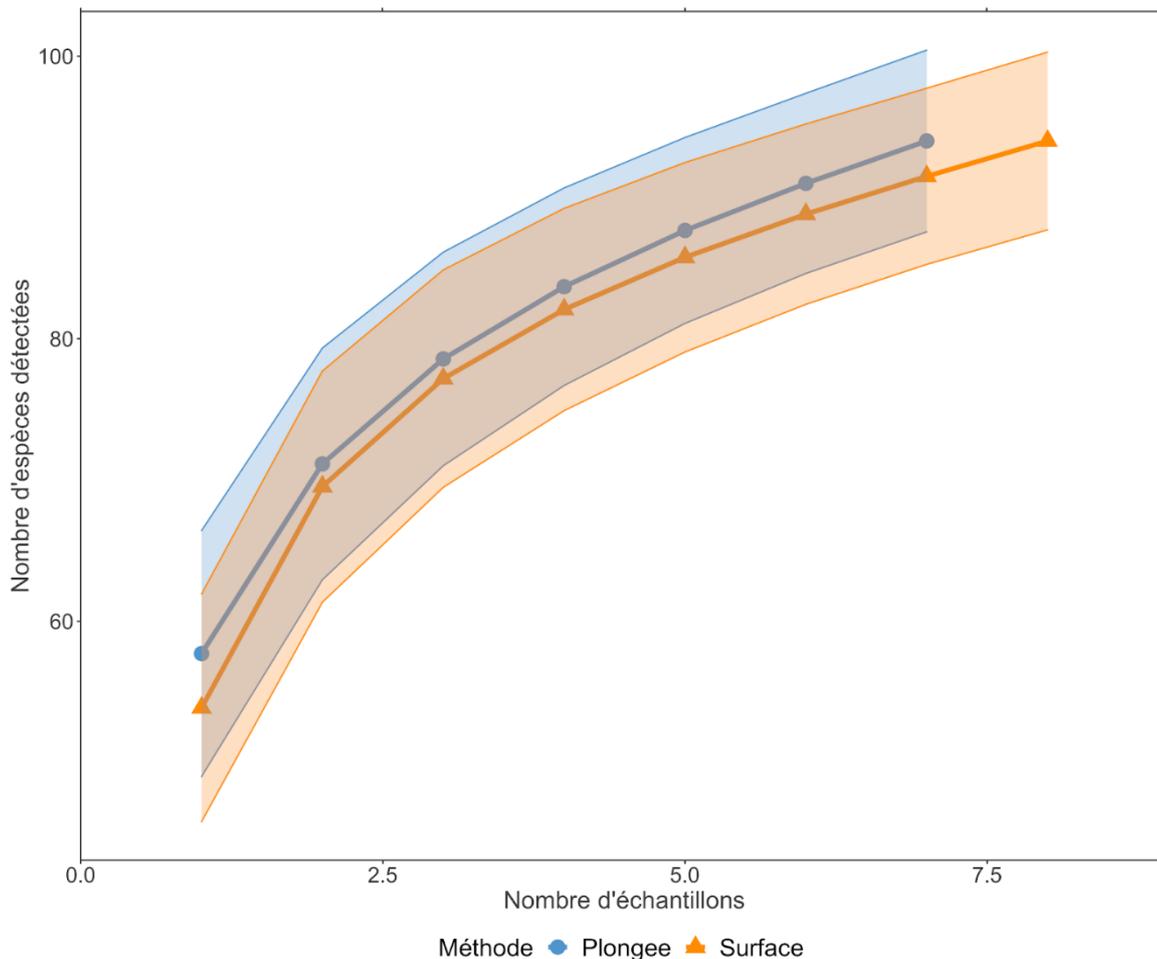


Figure 14. Courbe d'accumulation des espèces montrant la richesse spécifique en fonction de l'effort d'échantillonnage en surface (orange) et en plongée (bleu). L'aire colorée montre l'intervalle de confiance à 95 % calculé à partir des 100 randomisations.

L'approche multi-modèles réalisée sur l'ensemble des 15 échantillons a identifié le modèle Lomolino comme étant le mieux ajusté aux données, et l'asymptote est estimée à 135,9 espèces présentes sur le site (Figure 15). Les 15 échantillons prélevés ont permis d'identifier 109 espèces, soit 80,2 % de l'asymptote. Selon le modèle, 26 échantillons sont nécessaires pour recenser 85 % du total des espèces, et il faudrait 54 échantillons pour en retrouver 90 % et 173 pour atteindre 95 %. Un échantillonnage de 4 réplicas permet d'identifier 63 % de l'asymptote, contre respectivement 59 % et 52 % pour 3 et pour 2 réplicas.

Ces résultats montrent que dans une réserve marine intégrale où la diversité et la densité des poissons est élevée, **de nombreux réplicas (plus de 50 !)** sont nécessaires pour réaliser un **inventaire complet** des espèces. La stratégie d'échantillonnage doit donc répondre à un compromis entre exhaustivité et coût. **Afin de limiter le nombre de réplicas, il peut être envisagé de filtrer un plus grand volume d'eau par échantillon.**

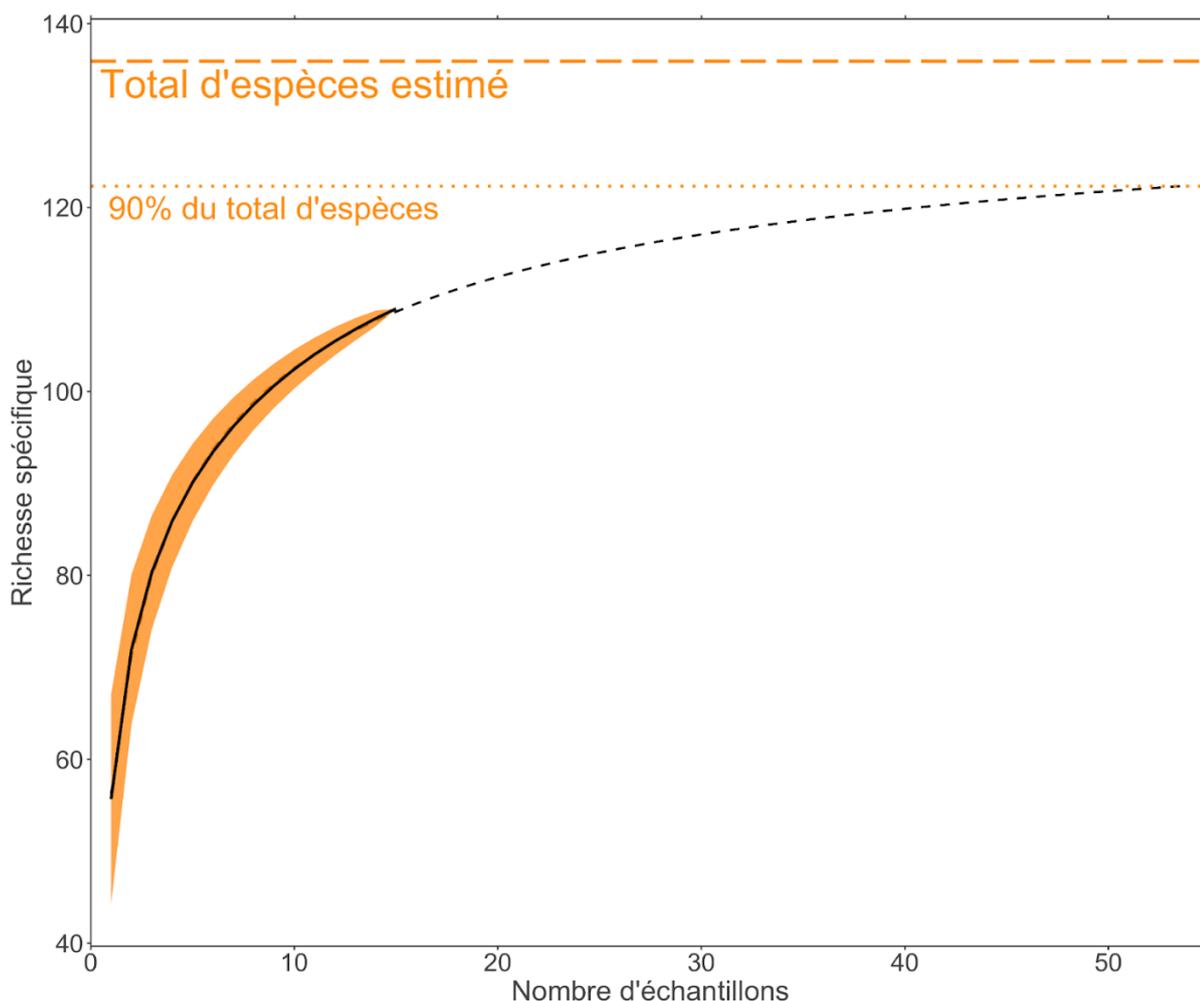


Figure 15. Courbe d'accumulation des espèces (courbe noire pleine) construite à partir des 15 échantillons. L'aire colorée montre l'intervalle de confiance à 95 % calculé à partir des 100 randomisations. La courbe noire en pointillés montre la prédiction du modèle Lomolino ajusté aux données. La droite horizontale orange en pointillés larges montre l'asymptote estimée par le modèle, et la droite orange en pointillés courts représente les 90 % de cette asymptote.

- Effet des paramètres d'échantillonnage sur la détection

Un total de 94 espèces a été identifié sur l'ensemble des 7 échantillons collectés en plongée, et pour les 8 échantillons collectés en surface. Parmi ces espèces, 79 ont été détectées par les deux méthodes, 15 n'ont été détectées qu'en plongée, et 15 n'ont été détectées qu'en surface (Figure 16 **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Parmi les espèces détectées uniquement dans les échantillons de surface, on retrouve des espèces qui évoluent généralement proche de la surface telles que l'orphie (*Belone belone*), le barracuda (*Sphyraena sphyraena*) et les mullets, mais également des espèces benthiques comme des gobies, sole ou raie. Parmi les espèces détectées uniquement dans les échantillons prélevés en plongée, on retrouve de nombreuses espèces benthiques inféodées au fond : gobies, blennies, rascasses, raies et la grande vive (*Trachinus draco*), ainsi qu'une espèce pélagique : la bonite (*Sarda sarda*).

Ces résultats montrent des communautés de poissons similaires entre les deux méthodes d'échantillonnage. Dans ce cas d'étude où la profondeur moyenne des transects variait entre 11.5 et 13 m (et profondeur maximale de 18 m), un échantillonnage en profondeur, au plus près du substrat, permet donc d'identifier plus d'espèces de fond, mais l'échantillonnage de surface est néanmoins suffisant pour identifier un grand nombre d'espèces benthiques.

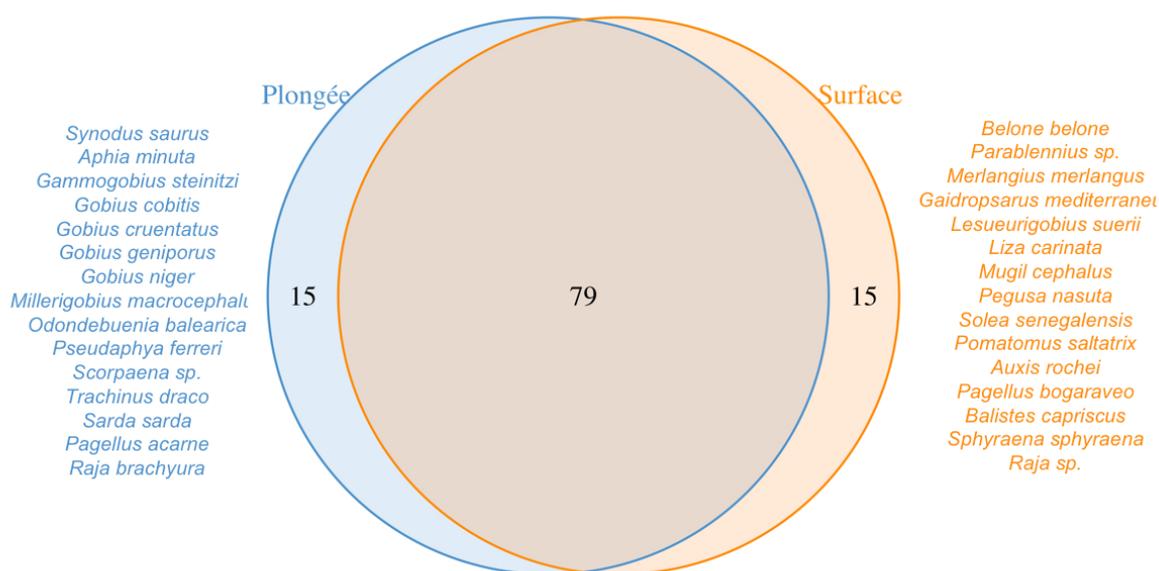


Figure 16. Diagramme de Venn montrant le nombre d'espèces identifiées par l'échantillonnage en plongée et en surface.

Nous avons calculé les indicateurs de richesse spécifique, cryptobenthiques, elasmobranches et espèces commerciales par méthode d'échantillonnage (Figure 17). La richesse moyenne est de 57,7 espèces détectées par échantillon en plongée et 53,9 espèces par échantillon en surface. Pour les cryptobenthiques, une moyenne de 12,6 espèces par échantillon ont été détectées en plongée comme en surface. Pour les élasmobranches, une moyenne de 3,7 espèces par échantillon a été détectée en plongée et 1.6 en surface. Et pour les espèces commerciales, une moyenne de 39,6 espèces par échantillon a été détectée en plongée et 37,2 en surface.

Les ANOVA montrent un effet significatif de la méthode sur le nombre d'élasmobranches (p -value = 0.018), avec plus d'espèces identifiées en plongée qu'en surface. Aucun effet significatif n'a été détecté sur les autres indicateurs.

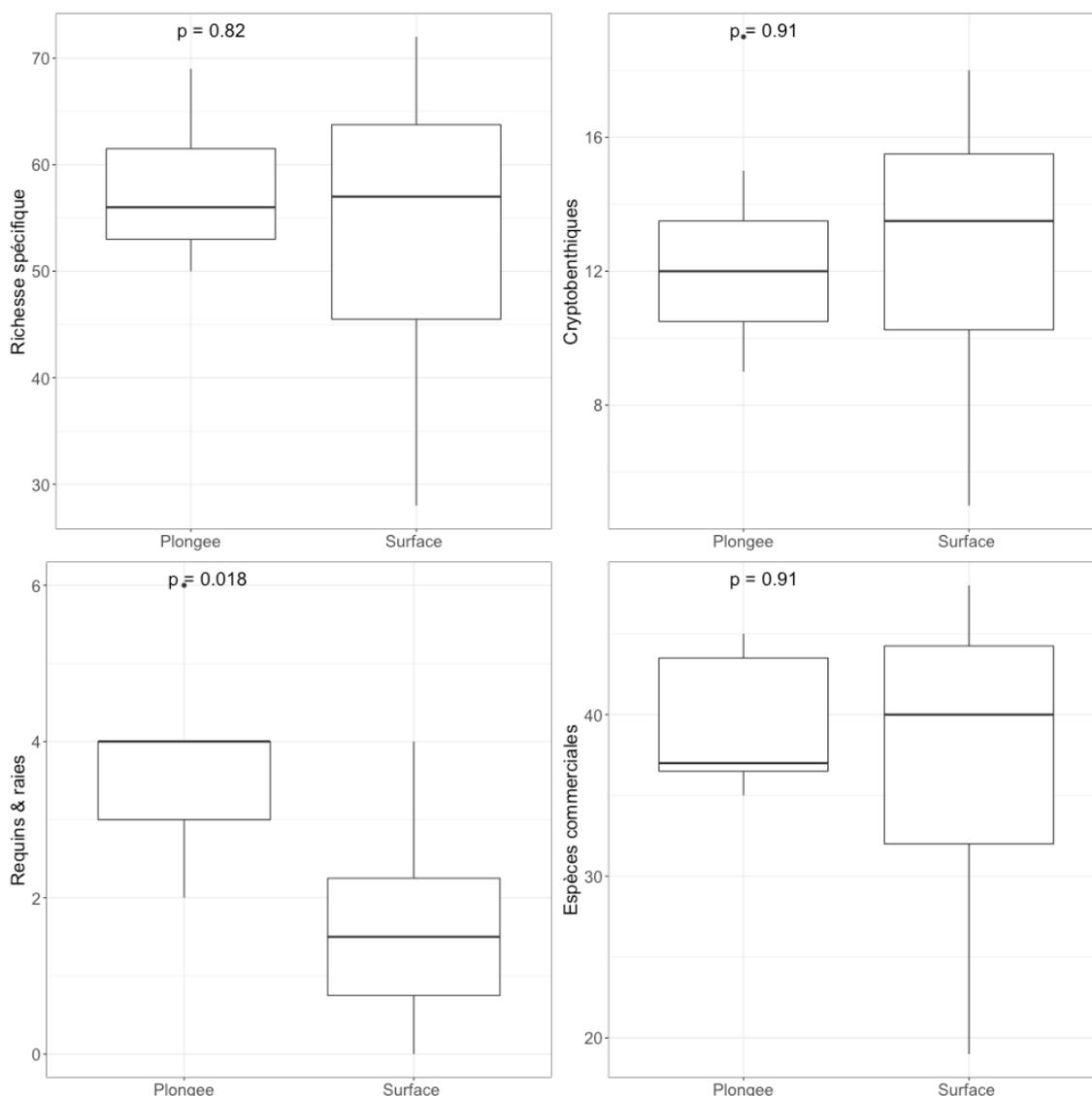


Figure 17. Boîtes à moustache montrant les indicateurs de biodiversité (nombre d'espèces) en fonction de la méthode d'échantillonnage. La p-value indique la significativité du test de Student comparant la moyenne des échantillons entre les groupes.

Concernant le moment de la journée, un total de 99 espèces a été identifié sur l'ensemble des 8 échantillons collectés le soir, contre 94 espèces pour les 7 échantillons collectés le matin. Parmi ces espèces, 84 ont été détectées aux deux moments de la journée, 15 n'ont été détectées que le soir, et 10 n'ont été détectées que le matin (Figure 18). Parmi les espèces détectées uniquement le soir, on retrouve plusieurs espèces mobiles comme les mullets, le maquereau (*Scomber colias*), le barracuda (*Sphyraena sphyraena*) ou le baliste commun (*Balistes capriscus*), que l'on peut supposer se rapprocher des côtes à certains moments de la journée. Au contraire, le thon (*Thunnus sp.*) et la bonite (*Sarda sarda*) n'ont été détectés que le matin.

Ces résultats montrent des assemblages d'espèces très similaires entre les échantillons collectés le soir et le matin. Cela semble indiquer que les communautés de poissons restent semblables au cours de la journée.

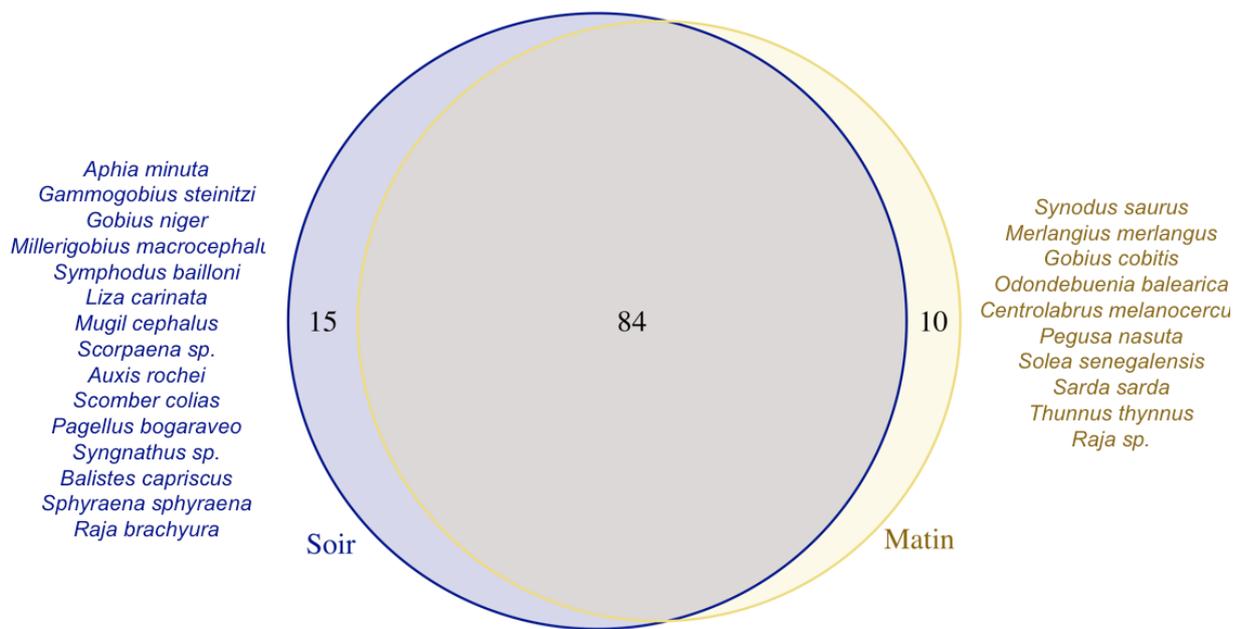


Figure 18. Diagramme de Venn montrant le nombre d'espèces identifiées par échantillonnage le matin et le soir.

La richesse moyenne est de 52,7 espèces détectées par échantillon le matin et 58,2 espèces par échantillon le soir (Figure 18). Pour les cryptobenthiques, une moyenne de 12,1 espèces par échantillon ont été détectées le matin et 13 le soir. Pour les élasmobranches, une moyenne de 2,4 espèces par échantillon a été détectée le matin et 2,8 le soir. Et pour les espèces commerciales, une moyenne de 36 espèces par échantillon a été détectée le matin et 40,4 le soir.

Les ANOVA ne montrent **aucun effet du moment de la journée ni du jour d'échantillonnage sur aucun des quatre indicateurs.**

La PERMANOVA montre un effet significatif de la méthode d'échantillonnage sur la composition en espèces ($R^2 = 0,207$ et $p\text{-value} < 0,001$). L'échantillonnage de surface montre une dispersion-beta plus importante que l'échantillonnage plongée (Figure 19), même si la différence n'est pas significative ($p\text{-value}$ du test de Levene = 0,278). Cela indique une plus forte stochasticité dans les espèces identifiées par l'échantillonnage surface. Pour le moment de la journée, la PERMANOVA ne montre pas de différence significative entre les compositions d'espèces du soir et du matin ($p\text{-value} = 0,504$). La dispersion est également similaire entre les moments de la journée (Figure 19, $p\text{-value} = 0,642$). **La composition en espèces est également similaire entre les deux jours d'échantillonnage** (PERMANOVA $p\text{-value} = 0,336$), et aucune des interactions entre les facteurs n'est significative.

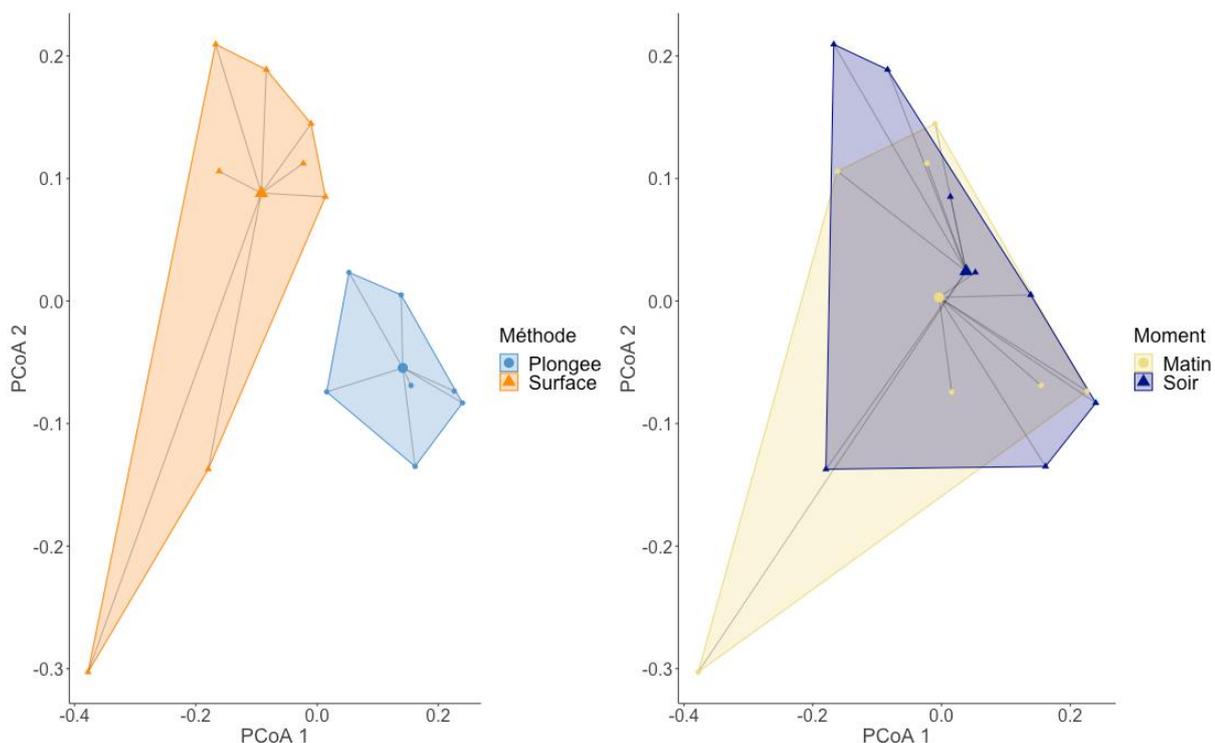


Figure 19. Dissimilarité des compositions d’espèces entre méthodes d’échantillonnage (gauche) et moment de la journée (droite). La dispersion-beta est estimée à partir des distances de Jaccard calculées sur la matrice de présence/absence des espèces.

IV.E.2. Comparaison des inventaires par ADNe et UVC

Nous avons comparé les listes d’espèces issues du comptage visuel (UVC) et de la filtration ADNe en plongée effectuée simultanément le long des mêmes transects (2 filtres). L’ADNe a identifié un total de 76 espèces pour les 2 filtres contre 26 pour le comptage visuel. La liste des espèces identifiées avec chaque méthode est donnée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 7. Comparaison des espèces identifiées à partir d’ADNe ou en plongée (UVC). Les couleurs montrent la correspondance entre les espèces qui sont identifiées au niveau taxonomique supérieur (genre ou famille) par l’ADNe car elles partagent la même séquence du marqueur teleo

ADNe seulement (59 espèces)		Commun (18 espèces)	UVC seulement (7 espèces)	
Non comptées en UVC (35)	Comptées en UVC (24)		Référencées pour l'ADNe (6)	Non référencées (1)
<i>Aetomylaeus bovinus</i>	<i>Boops boops</i>	<i>Chromis chromis</i>	<i>Atherina sp.</i>	<i>Symphodus doderleini</i>
<i>Aidablennius sphyinx</i>	<i>Chelon auratus</i>	<i>Coris julis</i>	<i>Centrolabrus melanocercus</i>	
<i>Anthias anthias</i>	<i>Chelon labrosus</i>	<i>Diplodus annularis</i>	<i>Dentex dentex</i>	
<i>Aphia minuta</i>	<i>Conger conger</i>	<i>Diplodus cervinus</i>	<i>Labrus merula</i>	
<i>Apogon imberbis</i>	<i>Dasyatis marmorata</i>	<i>Diplodus sargus</i>	<i>Pagrus pagrus</i>	
<i>Buenia affinis</i>	<i>Dasyatis pastinaca</i>	<i>Diplodus vulgaris</i>	<i>Symphodus mediterraneus</i>	
<i>Ctenolabrus rupestris</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	<i>Epinephelus marginatus</i>		
<i>Engraulis sp.</i>	<i>Diplodus puntazzo</i>	<i>Mullus surmuletus</i>		
<i>Gammogobius steinitzi</i>	<i>Labrus sp.</i>	<i>Oblada melanura</i>		
<i>Gobius bucchichi</i>	<i>Mola mola</i>	<i>Pseudaphya ferreri</i>		
<i>Gobius cruentatus</i>	<i>Muraena helena</i>	<i>Sarpa salpa</i>		
<i>Gobius geniporus</i>	<i>Myliobatis aquila</i>	<i>Sciaena umbra</i>		
<i>Gobius niger</i>	<i>Oedalechilus labeo</i>	<i>Serranus cabrilla</i>		
<i>Gobius xanthocephalus</i>	<i>Raja brachyura</i>	<i>Serranus scriba</i>		
<i>Istiophorus albicans</i>	<i>Scorpaena notata</i>	<i>Sphyræna viridensis</i>		
<i>Lepadogaster candolii</i>	<i>Scorpaena porcus</i>	<i>Spondyliosoma cantharus</i>		
<i>Lepadogaster lepadogaster</i>	<i>Scorpaena scrofa</i>	<i>Symphodus ocellatus</i>		
<i>Mullus barbatus</i>	<i>Serranus hepatus</i>	<i>Symphodus tinca</i>		
<i>Pagellus acarne</i>	<i>Sparidae</i>			
<i>Pagellus erythrinus</i>	<i>Sparus aurata</i>			
<i>Parablennius gattorugine</i>	<i>Symphodus sp.</i>			
<i>Parablennius incognitus</i>	<i>Syngnathus sp.</i>			
<i>Parablennius pilicornis</i>	<i>Taeniura grabata</i>			
<i>Parablennius rouxi</i>	<i>Torpedo marmorata</i>			
<i>Sardina pilchardus</i>				
<i>Sardinella aurita</i>				
<i>Scomber colias</i>				
<i>Seriola dumerili</i>				
<i>Spicara sp.</i>				
<i>Trachurus sp.</i>				
<i>Tripterygion delaisi</i>				
<i>Tripterygion melanurum</i>				
<i>Tripterygion tripteronotum</i>				
<i>Uranoscopus scaber</i>				
<i>Zebrus zebrus</i>				

Parmi les espèces identifiées par UVC mais pas par l’ADNe, nous retrouvons deux espèces de crénilabres (*Symphodus doderleini* et *S. mediterraneus*) qui ne peuvent être discriminées par l’ADNe car elles partagent la même séquence du marqueur *teleo*. L’ADNe a cependant identifié le genre *Symphodus* dans l’échantillon. Les deux espèces de labre *Labrus merula* et *L. viridis* partagent également la même séquence d’ADNe, de même que le denté (*Dentex dentex*) et le pagre (*Pagrus pagrus*). Si des séquences d’ADN d’une de ces espèces sont présentes dans l’échantillon, elles seront donc assignées au niveau du genre ou de la famille. Ainsi, le labre merle *L. merula* a été identifié visuellement alors que l’ADNe a seulement identifié le genre *Labrus*, et le pagre et le denté ont été comptabilisés par l’UVC alors que l’ADN a identifié des séquences de Sparidae (Tableau 7).

Deux espèces ont été identifiées visuellement mais ne sont pas retrouvées par l’ADNe alors qu’elles sont répertoriées dans la base de référence et ne partagent leur séquence avec aucune autre espèce : les athérines (*Atherina sp.*) et le crénilabre à queue noire (*Ctenolabrus melanocercus*).

A l’inverse, 21 espèces ont été identifiées par l’ADNe mais pas par le comptage visuel alors qu’elles font partie des espèces cibles de l’UVC. Parmi ces espèces, se retrouvent de nombreuses espèces cryptiques telles que les rascasses (*Scorpaena sp.*), le congre (*Conger conger*), la murène (*Muraena helena*) et les syngnathes (*Syngnathus sp.*), qu’il est difficile d’identifier lors d’un transect parcouru à vitesse moyenne de palmage (environ 300 m en 30 min). L’ADNe identifie également plusieurs espèces très mobiles, élusives ou pélagiques, telles que le bogue (*Boops boops*) ou le poisson lune (*Mola mola*), qui ont pu passer dans la zone d’étude et laisser leur trace ADNe sans être observées par les plongeurs. Des espèces de raies rares comme la torpille marbrée (*Torpedo marmorata*) ou menacées comme la raie lisse (*Raja brachyura*, classée “quasi-menacée” sur la Liste Rouge de l’IUCN) et la raie aigle (*Myliobatis aquila*, classée “en danger critique” sur la Liste Rouge de l’IUCN) ont aussi été identifiées par l’ADNe sans être observées. De plus, l’ADNe a permis d’identifier 35 espèces qui ne sont pas ciblées par l’UVC, parmi elles un grand nombre de gobies et de blennies, ainsi que des espèces pélagiques comme la sardine (*Sardina pilchardus*), le maquereau (*Scomber sp.*) ou la sériole (*Seriola dumerili*).

Ces résultats illustrent l’intérêt de la technique ADNe, en particulier dans un milieu riche en espèces telle qu’une réserve marine, pour produire un inventaire d’espèces le plus complet possible. **L’ADNe permet en effet d’inventorier des espèces cryptobenthiques, pélagiques et rares difficilement observables par les plongeurs. L’UVC permet en revanche d’identifier les espèces génétiquement proches partageant la même séquence d’ADN, et d’estimer la taille et l’abondance des individus. La combinaison des deux approches est donc particulièrement intéressante pour inventorier la biodiversité et évaluer l’état des écosystèmes côtiers.**

IV.E.3. Effet du déplacement pendant la filtration

Afin de mesurer l’effet du déplacement au cours de la filtration en profondeur, nous avons testé la différence de richesse spécifique entre des échantillons collectés sur un point fixe et le long d’un transect. Les données analysées comprennent 26 échantillons de 30L d’eau de mer (13 points fixes et 13 transects) collectés autour de la Corse à des profondeurs variant entre -15 et -115 m. La richesse spécifique par échantillon varie de 8 à 46 espèces (moyenne de 25 espèces par échantillon).

Afin de prendre en compte un éventuel effet confondant lié à l’hétérogénéité environnementale entre les sites d’échantillonnage, nous avons inclus des variables d’habitat dans le modèle. Pour cela, nous avons effectué une analyse en coordonnées principales (PCoA) à partir de 11 variables décrivant l’habitat et les conditions environnementales des sites d’échantillonnage : la profondeur, la diversité des habitats, l’habitat principal, la distance à la côte, la distance au port le plus proche, la concentration en chlorophylle A en surface le jour de l’échantillonnage, en moyenne sur le mois

de l'échantillonnage et en moyenne annuelle sur une période de 10 ans, et la température en surface le jour de l'échantillonnage, en moyenne sur le mois de l'échantillonnage et en moyenne annuelle sur une période de 10 ans. Ces variables ont été extraites dans une zone tampon de 500 m autour du point/transect d'échantillonnage à partir de la plateforme MEDTRIX (habitat, distance à la côte, distance au port), la base de données bio-ORACLE (température et chlorophylle annuelles), la base de données EarthData (chlorophylle journalière et mensuelle), et le modèle MARS-3D de d'IFREMER (température journalière et mensuelle). La profondeur a été relevée sur le terrain lors de l'échantillonnage. La PCoA permet de synthétiser la ressemblance entre sites d'échantillonnage dans des axes représentant la variabilité environnementale. Nous avons effectué une PCoA sur les distances de Gower entre sites, calculées à partir des 11 variables d'habitat/environnement. Les quatre premiers axes de la PCoA ont ensuite été utilisés dans le modèle linéaire pour contrôler l'hétérogénéité environnementale.

Nous avons construit un modèle linéaire représentant la richesse spécifique en fonction du déplacement de la pompe et des quatre axes de PCoA. Les facteurs ayant une influence sur la richesse spécifique ont ensuite été sélectionnés par une sélection de modèle par étape sur critère d'Akaike (AIC) en utilisant la fonction *stepAIC* du package R MASS (Venables & Ripley, 2002). Le modèle parcimonieux a été construit à partir des variables sélectionnées par AIC, et l'effet conditionnel de chaque variable a été estimé à partir du modèle à l'aide d'une ANOVA et d'une régression partielle effectuée avec le package R visreg (Breheny and Burchett, 2017).

La sélection sur critère AIC a conservé la variable déplacement ainsi que l'axe 1 de PCoA. Un plus grand nombre d'espèces est détecté dans les échantillons transects (moyenne de 27,8 espèces par échantillon, minimum = 14 et maximum = 46) que dans les échantillons point fixe (moyenne = 22,2 espèces par échantillon, min = 8 et maximum = 35). Le modèle parcimonieux explique 14,6% de la variance, mais aucune des deux variables explicatives n'est statistiquement significative (ANOVA p-value = 0,170 pour le déplacement et 0,178 pour l'axe 1 de PCoA), probablement en raison du faible nombre d'échantillons dans l'analyse (26). La régression partielle estimant l'effet conditionnel de la variable déplacement sur la richesse en contrôlant par l'effet de la variable environnement montre un effet positif de l'échantillonnage sur le nombre d'espèces identifiées (Figure 20). La diversité beta (dissimilarité des assemblages d'espèces) ne diffère pas entre les transects et les points fixes.

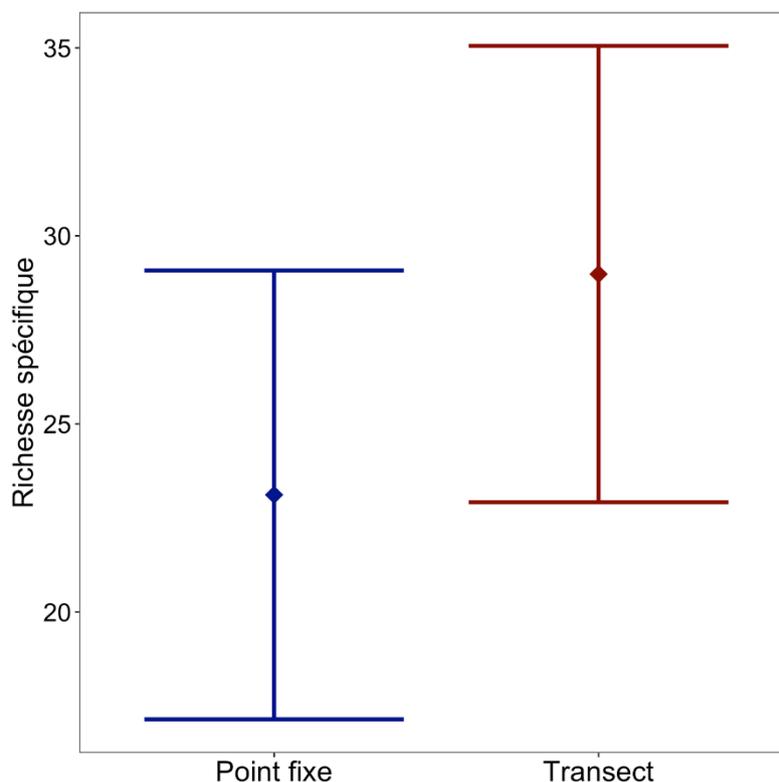


Figure 20. Graphique représentant l'estimation de la richesse spécifique en fonction du déplacement lors de la filtration en contrôlant l'effet de l'environnement et de l'habitat. Régression partielle effectuée à l'aide du package R visreg.

Ces résultats montrent que **le déplacement de la pompe lors de la filtration permet d'identifier un plus grand nombre d'espèces**, probablement car la zone échantillonnée est plus large. Cependant, les communautés sont semblables pour les points fixes et les transects, ce qui indique qu'**un échantillonnage sans déplacement reste représentatif des espèces présentes dans la zone**, mais plus d'espèces sont manquées qu'avec la méthode transect.

IV.E.4. Comparaison de trois méthodes d'échantillonnage : Niskin, surface et fond

Nous avons testé l'efficacité de trois méthodes d'échantillonnage : la filtration de surface à l'aide d'une pompe de surface, la filtration en plongée à l'aide d'une pompe immergée, et l'échantillonnage d'eau par bouteille Niskin (30 L) suivi d'une filtration en surface en sacs stériles. Nous avons testé la différence de richesse spécifique et de composition espèces entre des échantillons collectés par Niskin et en plongée au même emplacement sur deux sites : Cassis et Cap Lardier. Sur chaque site, 3 échantillons de 30L ont été prélevés avec chaque méthode au cours de la campagne Gombessa 5 en Juillet 2019. Un total de 12 échantillons a donc été analysé. Les filtrations en plongée ont été effectuées entre 60 et 70 m de profondeur avec un déplacement des plongeurs sur une centaine de mètres, et les prélèvements Niskin ont été effectués entre -20 et -100 m de profondeur.

Pour la comparaison entre Niskin et filtration de surface, nous avons utilisé un ensemble de 16 échantillons de 30L (9 collectés par Niskin et 7 par transect de surface) prélevés au même emplacement sur deux sites : Cassis et Cap de Nice. Les échantillons de surface ont été filtrés à 1 m de profondeur le long d'un transect d'environ 2 km.

L'échantillonnage par bouteille Niskin permet de détecter en moyenne 7 espèces par échantillon (minimum 1 et maximum 30), alors que l'échantillonnage plongée en détecte en moyenne 17 (min = 13 et max = 21), et la filtration de surface en moyenne 13 (min = 6 et max = 17).

Nous avons réalisé une PERMANOVA pour tester l'effet de la méthode d'échantillonnage sur la composition en espèces, et un test de Student pour tester l'effet méthode sur la richesse spécifique. Le test montre une différence significative de richesse spécifique détectée par l'échantillonnage en plongée et la Niskin (Figure 21; p-value < 0.001). La différence entre la filtration de surface et la Niskin est à la limite de la significativité (p-valeur du test de Student = 0,11).

La PERMANOVA montre une différence significative de composition en espèces entre Niskin et filtration plongée ($R^2 = 0,166$ et p-value < 0,001) et entre Niskin et transects de surface ($R^2 = 0,166$ et p-value = 0,002; Figure 21). L'échantillonnage par Niskin montre une dispersion-beta significativement plus importante que l'échantillonnage plongée (p-value du test de Levene = 0,032; Figure 21) et que la filtration de surface (p-value du test de Levene = 0,044; Figure 21).

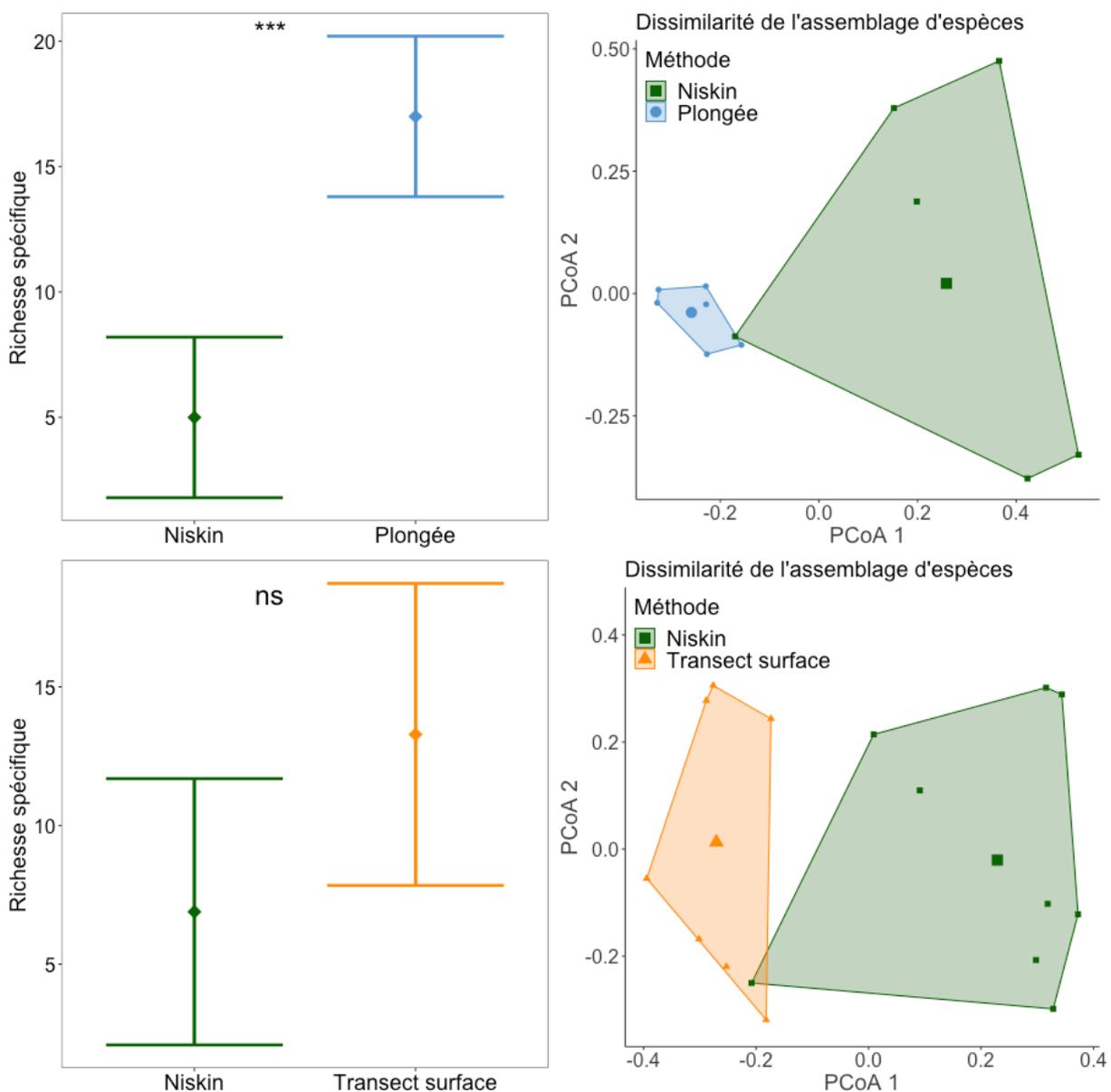


Figure 21. A gauche, graphiques montrant la richesse spécifique par méthode d'échantillonnage : Niskin vs filtration plongée (haut) et Niskin vs transect de surface (bas). La significativité de la différence de moyenne (test de student) est indiquée par ns non-significatif, * p-value < 0.05, ** p-value < 0.01, *** p-value < 0.001. A droite, dissimilarité des compositions d'espèces entre méthodes

d'échantillonnage. La dispersion-beta est estimée à partir des distances de Jaccard calculées sur la matrice de présence/absence des espèces.

Ces résultats montrent que **l'échantillonnage par bouteille Niskin est moins efficace** que les filtrations intégratives en surface ou en plongée pour capturer la diversité spécifique, et la composition entre les réplicas est plus stochastique. **Sur des sites profonds (au-delà de 60 m au moins), l'échantillonnage en surface ne permet pas de capter les espèces profondes et les assemblages détectés sont différents.** Même avec un déplacement limité, **l'échantillonnage en plongée permet d'identifier un plus grand nombre d'espèces**, sans doute en raison de la proximité immédiate du substrat et des espèces les plus benthiques.

IV.E.5. Influence du débit et du volume filtré

Afin de déterminer la stratégie d'échantillonnage optimale pour maximiser la quantité d'ADNe prélevée lors de chaque filtration d'eau de mer, différents prélèvements (3 réplicas par protocole testé - Tableau 8) ont été effectués dans la baie du Lazaret, Seyne-sur-Mer, le 22/07/2021, à proximité d'un site d'élevage de Dorade Royale (*Sparus aurata*). Ce site abrite une densité importante de cette espèce, pouvant atteindre 80 000 individus dans les cages en mer. Afin d'éviter tout biais liés aux changements environnementaux ou aux conditions d'élevage au cours des filtrations, environ 500 L d'eau ont été prélevés en début de matinée dans une piscine à usage unique de 634 L. L'eau a été homogénéisée à l'aide d'une perche tout le long des filtrations.

Le protocole standard utilisé en méditerranée (30 L d'eau prélevés en 30 min à un débit de 1L/min) a été utilisé comme référence pour ces expérimentations.

Dans un premier temps, nous avons testé l'effet du volume filtré, avec comme hypothèse que la quantité d'ADN retenue dans le filtre augmente proportionnellement avec le volume échantillonné, tant que la membrane n'est pas saturée. Pour cela, nous avons filtré 60 L d'eau de mer pendant 60 minutes au débit standard de 1 L/min.

Nous avons ensuite évalué l'effet du débit de filtration, avec l'hypothèse qu'un débit plus lent pourrait permettre de diminuer la pression exercée sur la membrane et ainsi retenir une plus grande quantité d'ADN. Une filtration de 60 min avec un débit de 0.5L/min a ainsi été effectuée. Le débit maximum recommandé par le fabricant étant de 1L/min, nous n'avons pas testé de débits supérieurs.

Enfin, des tests ont été réalisés avec le protocole standard, mais en ouvrant en début de filtration la vis de purge d'air jusqu'à ce que l'eau recouvre l'ensemble de la membrane. L'hypothèse étant la encore que le fait de retirer les poches d'air accumulées dès le début de la filtration pourrait permettre de limiter la pression dans la capsule.

Tableau 8. Résumé des quatre protocoles de filtration utilisés pour les tests méthodologiques

Protocole	Effet testé	Volume total filtré	Débit	Temps de filtration
1	Protocole standard : référence	30L	1L/min	30min
2	Réduction du débit	30L	0.5L/min	60min
3	Augmentation du volume filtré	60L	1L/min	60min

4	Ouverture de la soupape de ventilation	30L	1L/min	30min
---	----------------------------------------	-----	--------	-------

Les extractions ont été effectuées selon le protocole décrit dans «III. Méthodologie des analyses ADNe en laboratoire ».

Les extraits ADN ont ensuite été amplifiés en utilisant des amorces spécifiques conçues pour la détection de *S. aurata*. La qPCR a été réalisée dans un volume final de 25µL, qui comprenait 3µL d'ADN, 12,5µL de SYBR® Green Master Mix (BioRad®), 8.3 µL de ddH2O, 0.5 µL de chaque amorce (10mM) et 0,2 g/µl d'albumine de sérum bovin (BSA, Roche Diagnostic). Chaque échantillon a été analysé en 12 répliques. Une série de dilutions d'ADN de Daurade royale, allant de 10⁻¹ ng/µL à 10⁻⁴ ng/µL a été utilisée comme gamme étalon pour la qPCR. Les tubes contenant les échantillons d'ADNe ont été scellés, puis les standards qPCR ont été ajoutés à la plaque qPCR dans une pièce séparée de la salle d'extraction d'ADNe. Deux contrôles négatifs extraction et un contrôle négatif PCR (eau UHQ) ont été ajoutés et amplifiés avec 12 répliques également. L'analyse qPCR a été réalisée dans une troisième salle, dédiée à l'analyse de l'ADN amplifié avec une pression d'air négative et physiquement séparée de la salle d'extraction de l'ADNe. Le cycle qPCR utilisé est le suivant : 95°C pendant 10 min, suivi de 55 cycles de 95°C pendant 30 s et 55°C pendant 30 s. Les courbes de fusion ont été produites en traçant l'intensité de fluorescence en fonction de la température, lorsque la température a été augmentée de 65 à 95 °C à raison de 0,5 °C toutes les 5 s. Les échantillons ont été analysés avec un appareil de détection par PCR en temps réel BIO-RAD® CFX96 Touch, permettant de mesurer la concentration en ADN dans chaque échantillon.

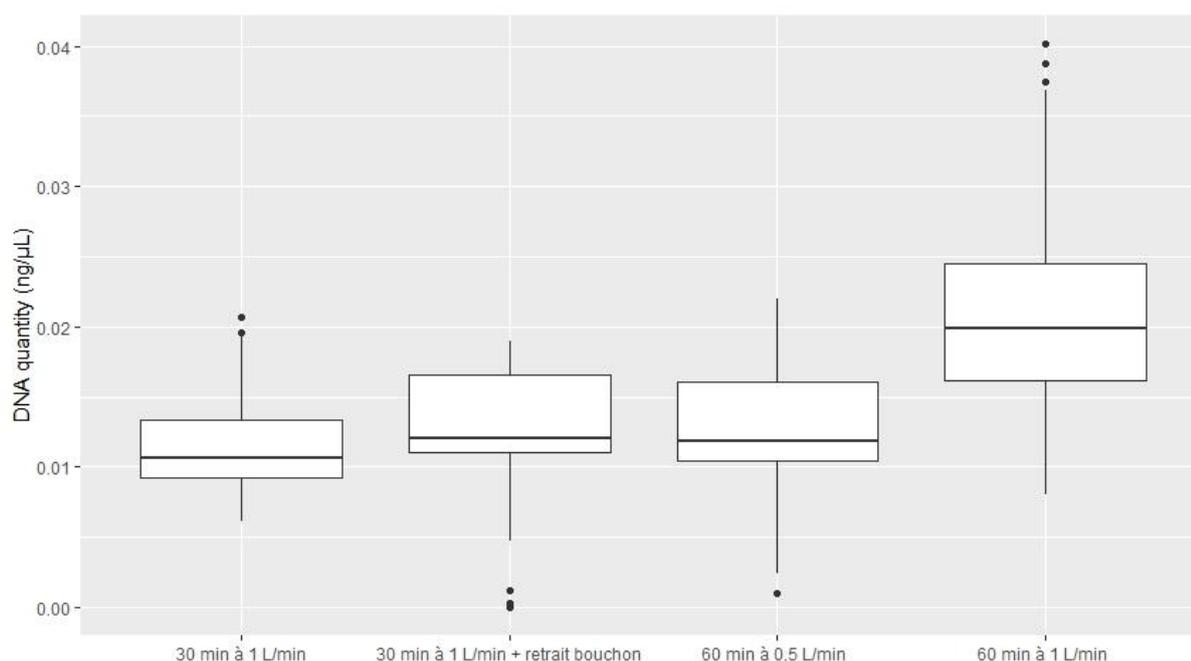


Figure 22. Concentrations d'ADN obtenues en fonction des différents types de filtration testés

Les résultats montrent qu'une augmentation du volume filtré apporte une augmentation significative de la quantité d'ADN détectée. En effet, en prélevant 60L d'eau, on obtient environ 1,8 fois plus d'ADN qu'avec le protocole classique de 30L (Figure 22). Cela indique que la membrane n'est pas saturée avec une filtration de 30L d'eau de mer, même dans un milieu avec une densité d'espèces élevée.

Le fait de diminuer le débit de prélèvement n’a aucun effet significatif sur la quantité d’ADN collectée. En effet, la concentration d’ADN obtenue avec un débit de 0.5 L/min est similaire à celle observée avec le protocole classique de 1L/min.

Pour le test où la vis de purge d’air a été ouverte au début de la filtration, nous n’avons vu aucune différence significative sur la quantité d’ADN collectée. En revanche, des tests effectués dans un milieu d’eau douce avec une grande quantité de matière organique en suspension ont montré que le fait d’ouvrir la vis de purge d’air au début de la filtration augmentait significativement (1,4 fois) la quantité d’ADN collectée (Figure 22). Cela indique que dans un milieu particulièrement riche ou turbide, où la membrane est plus rapidement saturée, l’ouverture de la vis de purge d’air en début de filtration permet de limiter la pression dans la capsule, de maximiser la surface de filtration en contact avec l’eau et de préserver l’intégrité de la membrane.

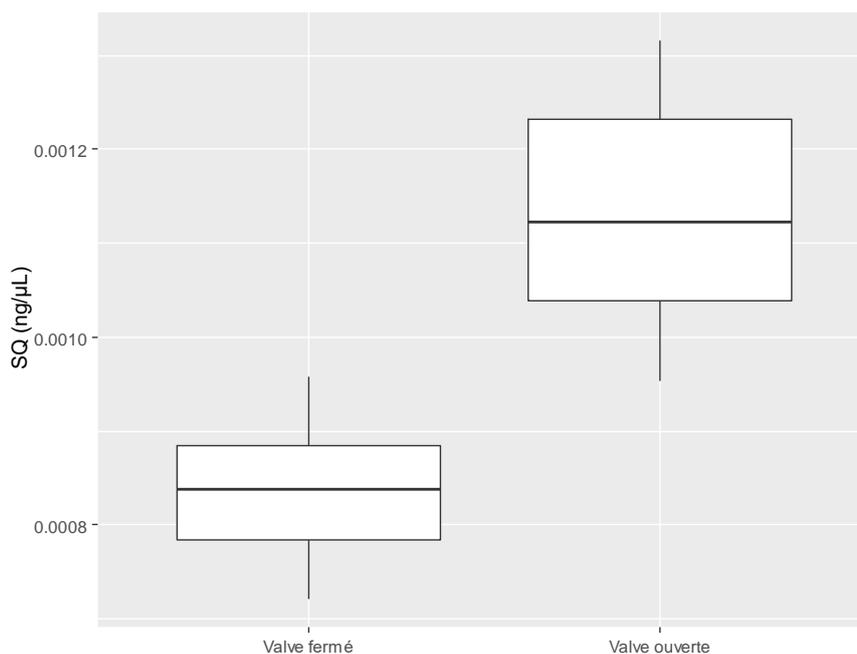


Figure 23. Concentration d’ADN obtenue en fonction de l’ouverture ou fermeture de la valve du filtre en milieu d’eau douce

Les échantillons marins analysés dans le cadre de ce projet ont été prélevés dans un milieu très peu chargé en matière organique, où le risque de colmatage était faible. Cependant, ce **risque de colmatage peut exister dans d’autres sites d’échantillonnage, tels que les zones portuaires, les estuaires ou les lagunes**, ou lorsque les volumes prélevés sont plus importants (par exemple 60L).

Considérant qu’aucun effet négatif lié à l’ouverture de la vis de purge d’air n’a été détecté lors de ces tests, et afin d’avoir un protocole standardisé pour tous les échantillonnages de surface en milieu marin, **nous conseillons d’ouvrir la vis de purge d’air pendant quelques secondes en début de filtration** pour éviter que le colmatage de la membrane filtrante puisse avoir un effet négatif sur la quantité d’ADN prélevée.

IV.F. Analyse de la biodiversité globale avec différents marqueurs génétiques

Nous avons testé une approche ciblant différents groupes taxonomiques afin d’avoir une vision globale de la biodiversité des sites échantillonnés. Pour ce faire, nous avons utilisé une approche multi-amorces (Tableau 9) pour détecter par amplification sélective une large gamme d’organismes : des procaryotes aux eucaryotes, avec des zooms pour les vertébrés. Le deuxième objectif était d’évaluer le pouvoir de détection et la résolution taxonomique obtenue entre deux marqueurs, l’un étant spécifique au groupe et l’autre plus généraliste. L’hypothèse est que l’utilisation d’un marqueur spécifique n’amplifiant qu’un groupe (par exemple les poissons ou les mammifères) permet de détecter un plus grand nombre d’espèces, et en particulier les espèces rares, qu’un marqueur moins spécifique. En effet, un marqueur généraliste amplifie un plus grand nombre d’espèces et le risque que les séquences peu abondantes (espèces rares ou excrétant peu d’ADN) ne soient pas détectées est donc plus important. La taille du fragment peut également jouer un rôle dans la détection, puisque la dégradation de l’ADN diminue la probabilité d’obtenir des séquences longues. En revanche, un fragment plus long peut augmenter la résolution taxonomique, c’est-à-dire la capacité à différencier des espèces génétiquement proches qui ont une séquence identique sur un marqueur court.

Nous avons comparé l’utilisation de deux marqueurs pour faire l’inventaire des poissons osseux et cartilagineux :

- *teleo* (Valentini et al., 2016) qui est spécifique aux poissons osseux et cartilagineux.
- *Vert01* (Riaz et al., 2011), qui amplifie en plus les mammifères (marins et terrestres), les reptiles et les oiseaux.

Ainsi que deux marqueurs pour faire l’inventaire des mammifères marins :

- *Vert01* (Riaz et al. 2011), qui amplifie l’ensemble des vertébrés.
- *Mamm01* (Taberlet et al., 2018), qui est spécifique aux espèces de mammifères.

Tableau 9. Caractéristiques des cinq marqueurs génétiques testés pour étudier différents groupes taxonomiques dans les échantillons ADN. *Pb* = paires de bases ; *Tm* = température d’hybridation des amorces.

Marqueur	Gène cible	Longueur du fragment	Taxons amplifiés	Tm	Séquençage	Référence
<i>teleo</i>	12S	64 pb	Poissons, élasmobranches	50	Miseq (2x125 bp)	Valentini et al., 2016
<i>Vert01</i>	12S	97 bp	Tous les vertébrés	55	Miseq (2x125 bp)	Riaz et al., 2011
<i>Mamm01</i>	12S	57 bp	Mammifères	50	Miseq (2x125 bp)	Taberlet et al., 2018
<i>Euka02</i>	18S	110 pb	Tous les eucaryotes	45	Miseq (2x250 bp)	Guardiola et al., 2015
<i>Bact02</i>	16S	295 pb	Tous les procaryotes	45	Miseq (2x250 bp)	Taberlet et al. 2018

Pour effectuer ces tests, à la fois sur la biodiversité totale et sur le choix des marqueurs pour l’analyse de deux groupes cibles, nous avons analysé 16 échantillons d’ADNe collectés sur 8 sites couvrant la façade Méditerranéenne et la Corse (Tableau 10). Tous les échantillons ont été prélevés dans des zones de non-prélèvement de zones protégées.

Tableau 10. Caractéristiques des huit sites (zones de non-prélèvement de pêche) sur lesquels ont été prélevés les 16 échantillons utilisés pour les tests méthodologiques. ZNP = zone de non-prélèvement de pêche.

Site	Région	Transect	Réserve	Latitude	Longitude	Profondeur moyenne (m)	Date
Calvi	Corse	Surface	Cantonnement de pêche de Calvi	42,577	8,709	8	Mai 2018
Saint-Florent	Corse	Plongée	Cantonnement de pêche de Saint-Florent	42,769	9,326	15-20	Juin 2020
Banyuls	Occitanie	Surface	Reserve Naturelle Cerbere-Banyuls	42,462	3,161	8	Mai 2020
Calanques	PACA	Surface	ZNP île du Riou	43,175	5,398	13	Mai 2020
Cap Roux	PACA	Surface	Cantonnement de pêche de Saint-Raphaël	43,461	6,923	-	Mai 2020
Porquerolles	PACA	Surface	Parc national de Port-Cros	42,996	6,232	-	Mai 2020

IV.F.1. Diversité des communautés bactériennes (procaryotes)

- Méthode

En utilisant les 16 échantillons (8 sites, avec 2 réplicas par site) décrits dans le paragraphe précédent, nous avons étudié les communautés bactériennes présentes dans chaque échantillon à l’aide d’un marqueur ciblant les organismes procaryotes (*BactO2* ; Tableau 9). Nous avons analysé la diversité des communautés et comparer leur composition entre les échantillons à l’aide d’une analyse de positionnement multidimensionnel (MDS) permettant d’étudier la dissemblance entre communautés.

- Résultats

L’analyse MDS montre une **similarité de la composition des communautés bactériennes entre les deux réplicas d’un même site, mais des communautés différenciées entre les sites** (Figure 24). Les sites géographiquement proches n’ont pas une communauté bactérienne plus similaire que les sites éloignés (Figure 24). Dans tous les échantillons à l’exception de ceux de Banyuls, la communauté bactérienne est largement dominée par les protéobactéries.

Ces résultats montrent que **l’échantillonnage d’eau de surface permet de différencier les communautés bactériennes présentes dans un site**. Nous n’observons **pas de gradient latitudinal ou longitudinal** à l’échelle de cette étude, ce qui semble indiquer que les communautés bactériennes sont différenciées par les conditions locales. Des caractéristiques telles que la température, la chlorophylle, les nutriments présents pourraient être à l’origine de la différence de composition bactérienne. L’analyse des communautés bactériennes par l’ADNe pourrait être intéressante pour caractériser les masses d’eau et établir des indicateurs de référence par type de milieu (zone côtière, zone protégée, estuaire, lagune, zone portuaire etc.), zone géographique et type d’habitat ; mais également pour le suivi des souches bactériennes pathogènes.

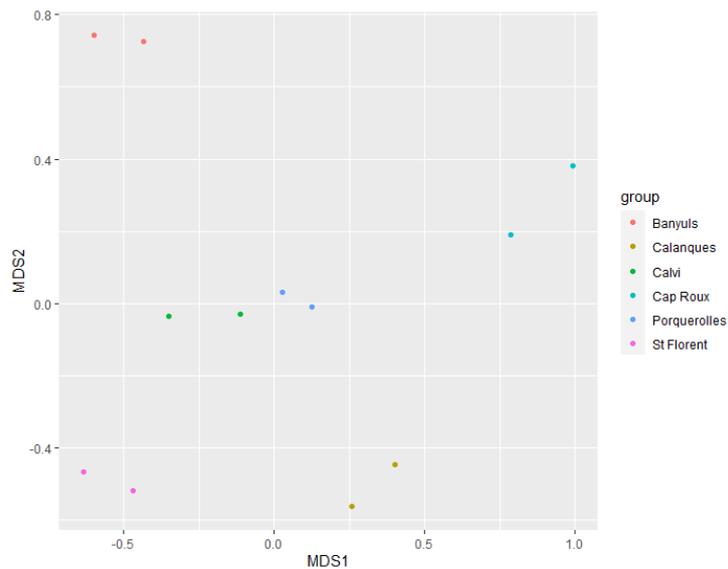


Figure 24. Résultat de l’analyse de positionnement multidimensionnel (MDS) des échantillons par similarité des communautés bactériennes détectées par ADNe. Le graphique montre le positionnement des 16 échantillons sur les deux premiers axes MDS générés à partir des distances de Bray-Curtis entre les communautés bactériennes.

IV.F.2. Diversité des communautés eucaryotes

- Méthodes

Nous avons étudié les communautés eucaryotes présentes dans chaque échantillon à l’aide d’un marqueur ciblant l’ensemble des eucaryotes, c’est-à-dire tous les organismes à l’exception des bactéries et des archaea (*Euka02* ; Tableau 9). Comme pour les procaryotes, nous avons analysé la diversité des communautés, et comparer la composition de ces communautés entre les échantillons à l’aide d’une analyse MDS permettant de représenter la dissemblance entre communautés. Cette analyse visait à tester la pertinence de la méthode ADNe par filtration de surface pour caractériser les communautés écologiques marines au sens large.

- Résultats

Sur l’ensemble des échantillons, la diversité eucaryote est dominée par les taxa appartenant aux règnes des chromistes et des métazoaires. Parmi les métazoaires, la diversité est dominée par le Phylum des Annélides (vers annelés), exclusivement représenté par les polychètes, et des Arthropodes, très largement représenté par la Classe des Hexanauplia, qui comprend les copépodes et cirripèdes (Figure 25). De nombreuses espèces de mollusques, en particulier des gastropodes et des bivalves, et de cnidaires (ascidies et hydrozoaires) ont également été identifiées par le marqueur *Euka02*.

La détection de nombreuses espèces d’organismes benthiques sessiles tels que les mollusques, arthropodes, annélides et cnidaires indique qu’une filtration d’eau de surface est efficace pour détecter ce type d’espèces dans des petits fonds côtiers allant de 7 à 15 m de profondeur. Le site de Saint-Florent, qui a été échantillonné en plongée au plus près du substrat, ne semble pas se différencier plus particulièrement des autres sites échantillonnés en surface. **La différenciation**

géographique des communautés benthiques suggère que l’analyse des communautés eucaryotes par l’ADNe pourrait être intéressante pour caractériser les milieux et établir des indicateurs par zone géographique.

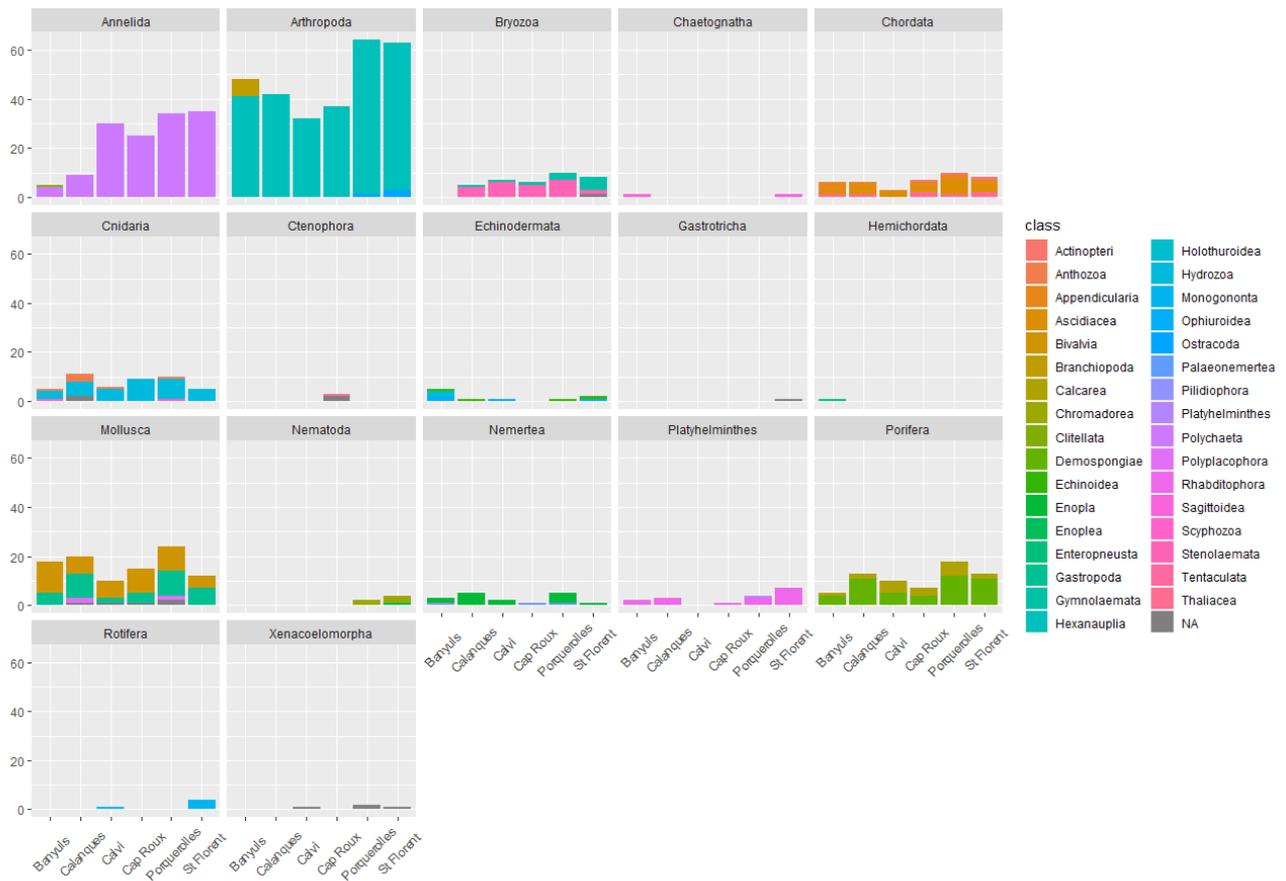


Figure 25. Nombre d’espèces détectées pour chaque Classe d’eucaryotes par site. Les panneaux correspondent aux Ordres.

L’analyse MDS montre une **différenciation des communautés eucaryotes entre les échantillons, et un positionnement des échantillons dans l’espace MDS selon leur position géographique** : Corse / PACA / Occitanie (Figure 26). Les échantillons collectés dans une même région se regroupent, ce qui indique que les communautés eucaryotes sont plus similaires entre sites géographiquement proches qu’entre des sites plus éloignés. Les deux répliques d’un même site ont une composition très semblable, à l’exception du site des Calanques et de Banyuls pour lesquels les deux répliques montrent une plus forte dissimilarité (Figure 26). Ce résultat peut s’expliquer par le caractère très généraliste du marqueur *Euka02* : le très grand nombre d’espèces amplifiées augmente l’effet stochastique de la détection d’une espèce en particulier, surtout dans des milieux riches en biodiversité.

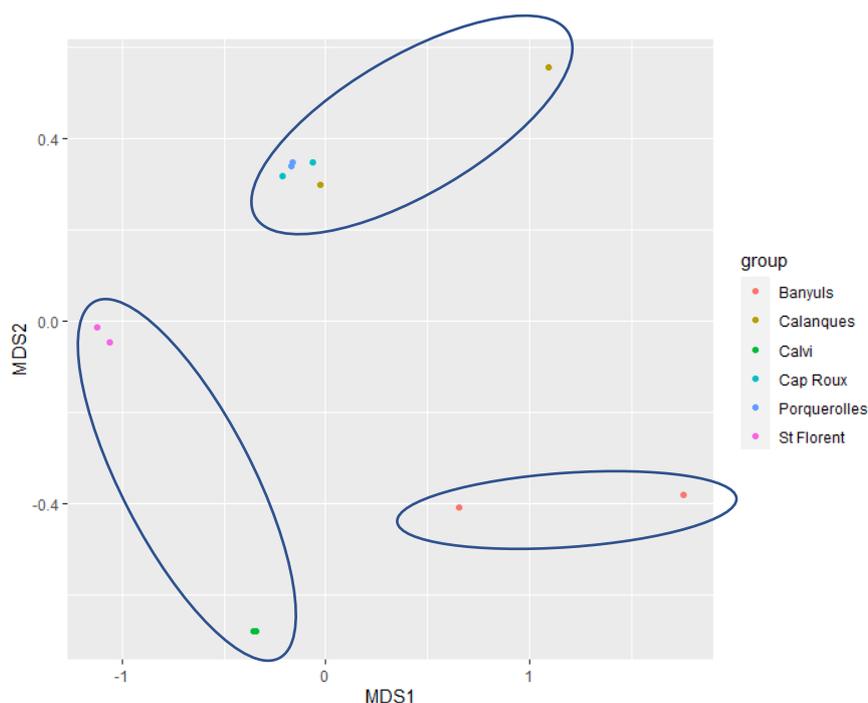


Figure 26. Résultat de l’analyse de positionnement multidimensionnel (MDS) des échantillons par similarité des communautés eucaryotes détectées par ADN. Le graphique montre le positionnement des 16 échantillons sur les deux premiers axes MDS générés à partir des distances de Bray-Curtis entre les communautés eucaryotes. Les ellipses indiquent le regroupement des échantillons par région (PACA, Occitanie, Corse).

IV.F.3. Diversité des poissons osseux et cartilagineux en fonction du marqueur utilisé

- Méthode

Nous avons évalué le pouvoir de détection et la résolution taxonomique de deux marqueurs pour l’inventaire des poissons osseux et cartilagineux : le marqueur *Teleo*, spécifique aux poissons, et le marqueur *Vert01*, amplifiant tous les vertébrés. Pour éviter tout biais lié à des différences dans la base de références, nous avons restreint nos bases de références aux espèces pour lesquelles la séquence était référencée pour les deux marqueurs.

- Résultats

Un total de 107 espèces a été détecté avec les deux marqueurs dans les 16 échantillons, parmi lesquelles 40 ont été identifiées à la fois par *Teleo* et par *Vert01*, 50 ont été détectées uniquement par *Teleo* et 17 uniquement par *Vert01* (Figure 27). Parmi les taxons identifiés uniquement par *Vert01*, on retrouve notamment le denté (*Dentex dentex*) et le pagre (*Pagrus pagrus*) qui ont une séquence identique pour le marqueur *Teleo* et sont donc identifiés au niveau de la famille Sparidae avec ce marqueur. De même, les chinchards *Trachurus trachurus* et *T. mediterraneus* sont discriminés par *Vert01* alors qu’ils sont identifiés au niveau du genre *Trachurus sp.* avec le marqueur *Teleo* car ils partagent la même séquence. A l’inverse, les mullets *Chelon labrosus* et *C. ramada* sont discriminés par *teleo* mais sont identifiés au niveau du genre par *Vert01*.

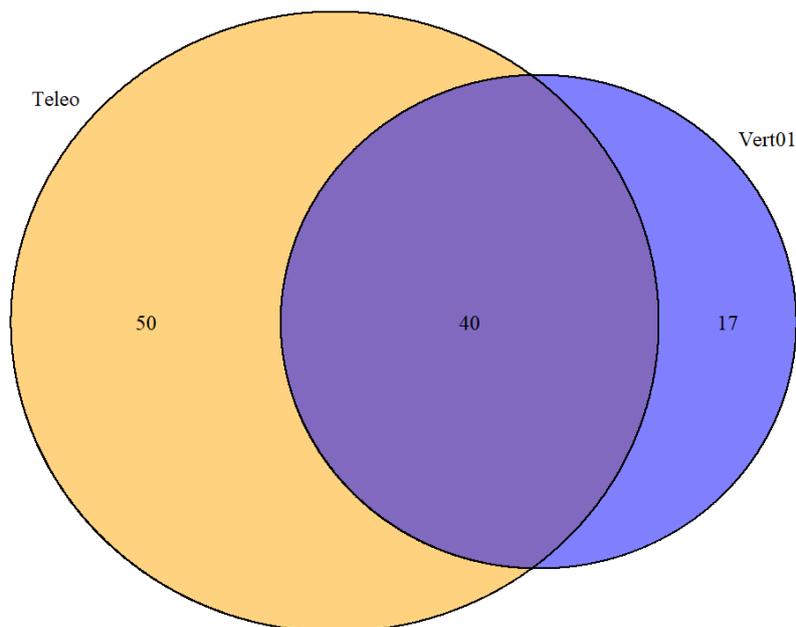


Figure 27. Diagramme de Venn représentant le nombre d'espèces détectées par les marqueurs *teleo* (jaune) et *Vert01* (bleu) sur l'ensemble des 16 échantillons.

Parmi les espèces détectées uniquement par *teleo*, on retrouve des espèces rares telles que le mérrou brun (*Epinephelus marginatus*) et le poisson lune (*Mola mola*). De plus, aucune espèce d'élaémobranchie n'a été détectée avec le marqueur *Vert01* alors que 15 espèces de raies et de requins ont été identifiées par *teleo*. L'ordre des Tétraodontiformes, qui comprend uniquement le baliste de Méditerranée *Balistes capriscus* dans nos données, n'est détecté que par le marqueur *teleo*. De même l'ordre des Myctophiformes (poissons lanternes vivant en profondeur) n'est détecté que par *teleo* (Figure 28). Ce résultat peut s'expliquer par la rareté de ces taxa. L'ordre des Pleuronectiformes (poissons plats) n'est à l'inverse détecté que par *Vert01*, il s'agit d'un taxon identifié au niveau de la famille Soleidae dans un seul site (Figure 28).

Comme attendu, le marqueur *teleo*, spécifique aux poissons, permet de détecter un plus grand nombre d'espèces (90 espèces sur les 16 échantillons) que le marqueur généraliste *Vert01* (57 espèces sur les 16 échantillons), et en particulier un plus grand nombre d'espèces rares. Cela confirme que l'utilisation d'un marqueur ciblant spécifiquement les poissons augmente le pouvoir de détection des espèces rares, et permet donc des inventaires poissons plus complets. L'utilisation de *Vert01* permet de discriminer certaines espèces proches qui partagent la même séquence *teleo*. Ainsi, la combinaison des deux marqueurs permet un inventaire plus exhaustif que chaque marqueur séparément, mais le coût du séquençage est alors doublé. Le choix d'une stratégie multi-marqueurs ou d'un marqueur unique répond donc à un compromis entre le coût et la précision souhaitée pour l'inventaire.

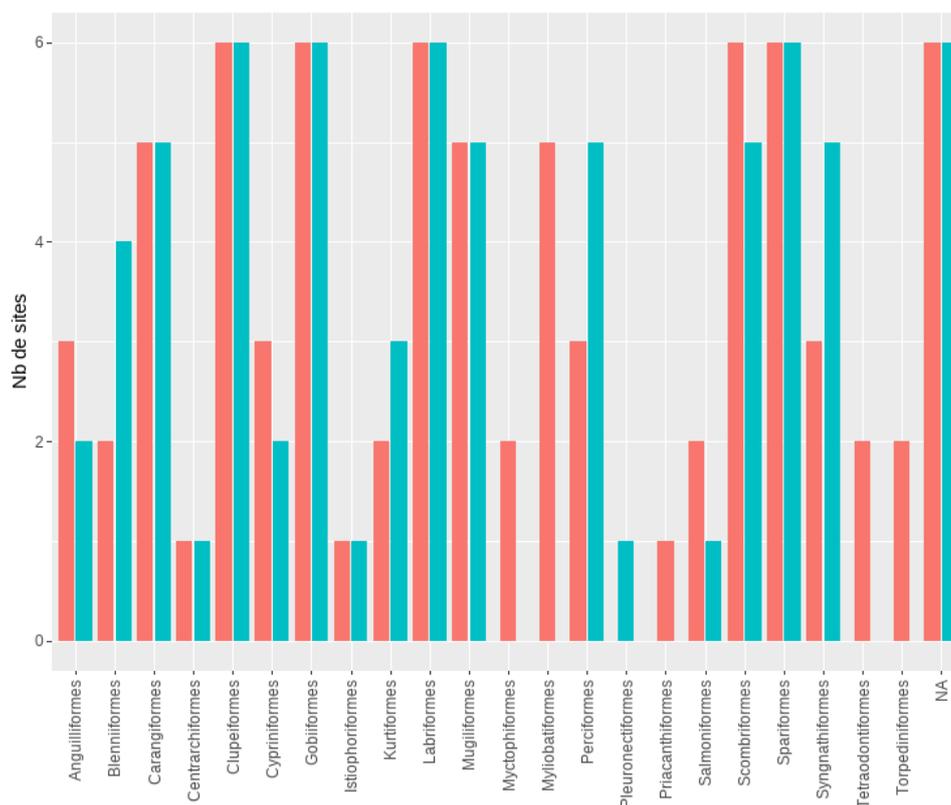


Figure 28. Diagramme en bâtons montrant pour les différents Ordres de poissons le nombre de sites (sur 8) dans lesquels au moins une espèce de l'Ordre a été détectée, en rose par le marqueur teleo et en bleu par le marqueur Vert01.

IV.F.4. Diversité des mammifères marins en fonction du marqueur utilisé

- Méthode

Nous avons évalué le pouvoir de détection et la résolution taxonomique de deux marqueurs pour l’inventaire des mammifères marins : le marqueur *Mamm01*, spécifique aux mammifères, et le marqueur *Vert01*, amplifiant tous les vertébrés. Pour éviter tout biais lié à des différences dans la base de références, nous avons restreint nos bases de références aux espèces pour lesquelles la séquence était référencée pour les deux marqueurs.

- Résultats

Les deux marqueurs détectent la **présence de la famille Delphinidae uniquement**, mais le niveau spécifique ne peut pas être déterminé en raison de l’homogénéité du gène de la 12S pour les différentes espèces de Delphinidae. Les résultats montrent une très grande hétérogénéité dans la détection de ce taxa. Ceci peut être expliqué par l’extrême rareté de l’ADN de ces espèces, qui entraîne une **détection aléatoire, quel que soit le marqueur choisi**.

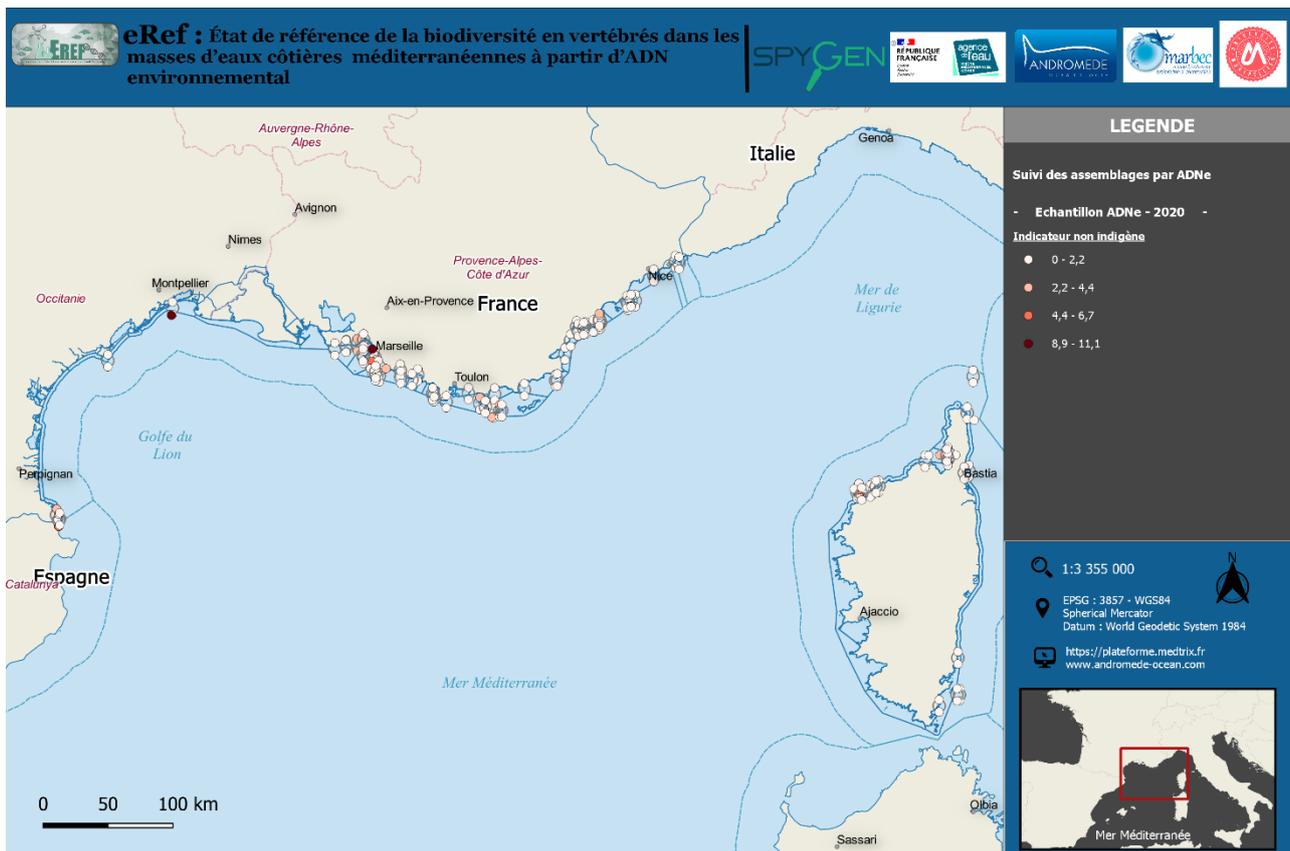
Tableau 11. Détection de Delphinidae dans les 16 échantillons selon le marqueur utilisé. Le nombre représente le nombre de lecture du séquenceur.

	Echantillon	Vert01	Mamm01
Banyuls-sur-mer	SPY200468		
	SPY200474		
Calanques	SPY181699	436	
	SPY192310	183	
Calvi	SPY181149	420	89
	SPY181150		
Cap Roux	SPY200806		386
	SPY200807		46
Porquerolles	SPY201239		143
	SPY201241	135	130
St Florent	SPY201216		
	SPY201263	95	

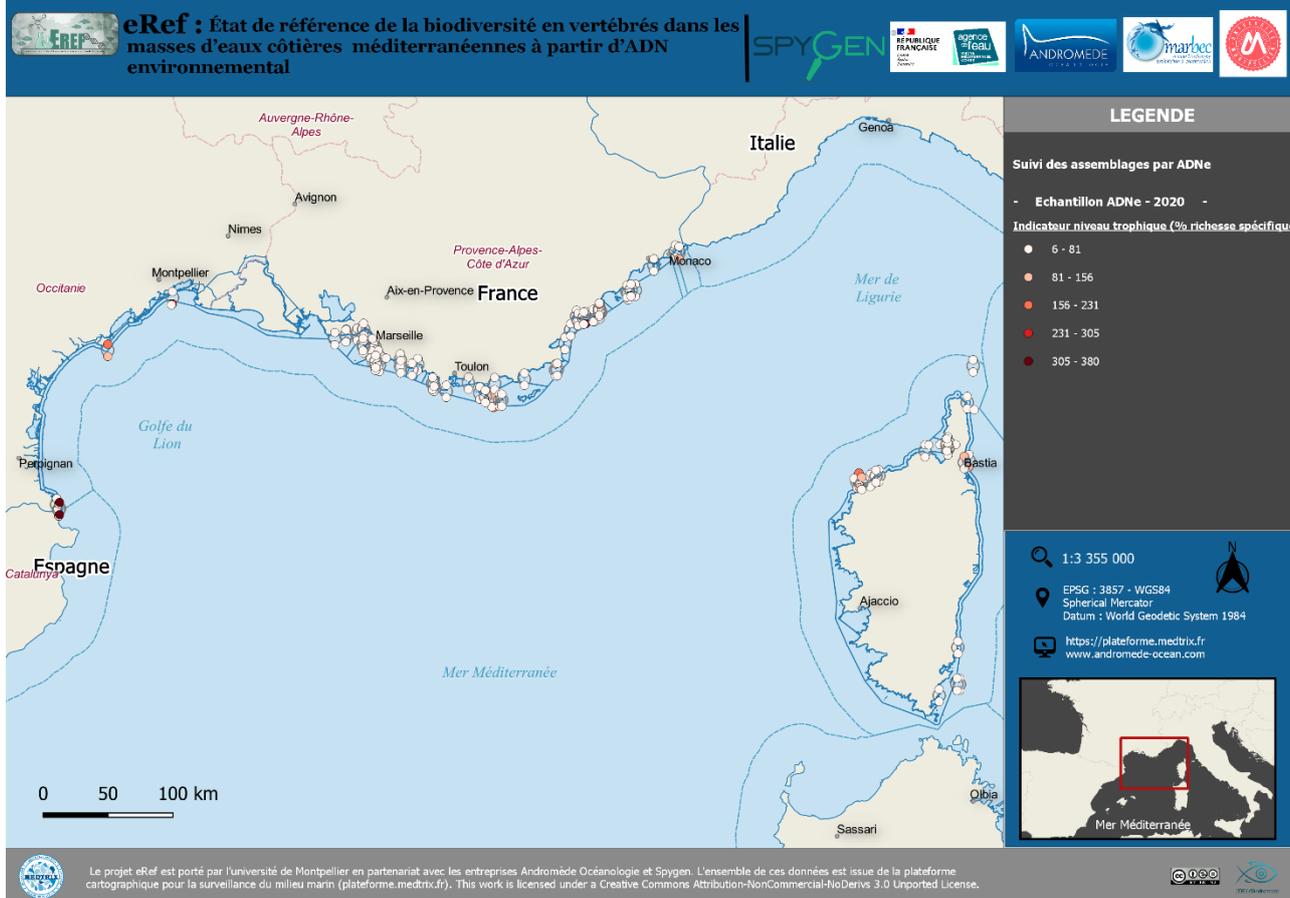
Une autre campagne de détection des mammifères marins avec l’ADNe a été menée dans le périmètre du Parc Naturel Marin d’Iroise (PNMI) en 2019 et 2020, dans le cadre du projet CetADNe (SPYGEN, 2021). Dans cette campagne, trois sites ont été choisis comme « témoins positifs », avec des prélèvements effectués dans des secteurs où des grands dauphins, marsouins communs ou phoques gris étaient visibles. Cette étude a permis de démontrer l’efficacité de la méthode pour la détection de mammifères marins, tout particulièrement concernant les espèces discrètes et difficiles à observer comme le marsouin commun, et pour l’analyse des espaces vitaux occupés par les espèces a priori présentes tout au long de l’année, grands dauphins et phoques gris. Cependant, cette étude a confirmé la difficulté liée à l’identification des espèces de la famille des Delphinidae. En effet, cette famille a une origine très récente et est issue d’un événement de radiation rapide qui rend la distinction des 11 espèces de cette famille difficile sur presque tous les gènes du génome mitochondriale (Amaral et al., 2012). Des études sont en cours pour trouver des amorces plus spécifiques et résolutive pour cette famille (Jean-Luc Jung, pers. comm.).

V. Mise à disposition des résultats sur la plateforme MEDTRIX

Les résultats du projet (une carte par indicateur) sont consultables (cartes ci-dessous) sur la plateforme MEDTRIX au sein du projet PISCIS qui regroupe les données de surveillance des communautés de poissons par ADNe en Méditerranée.

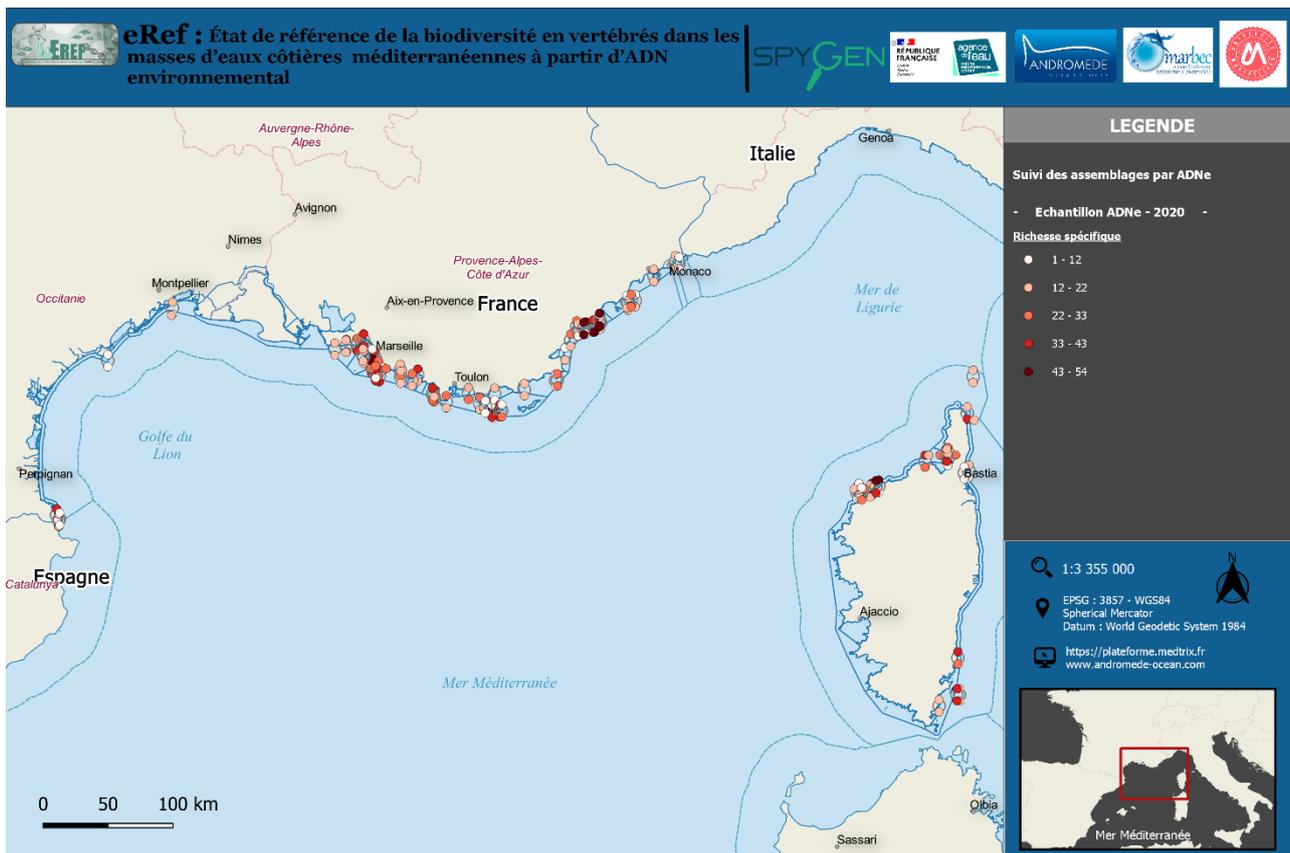


Le projet eRef est porté par l'université de Montpellier en partenariat avec les entreprises Andromède Océanologie et Spygen. L'ensemble de ces données est issue de la plateforme cartographique pour la surveillance du milieu marin (plateforme.medtrix.fr). This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported License.

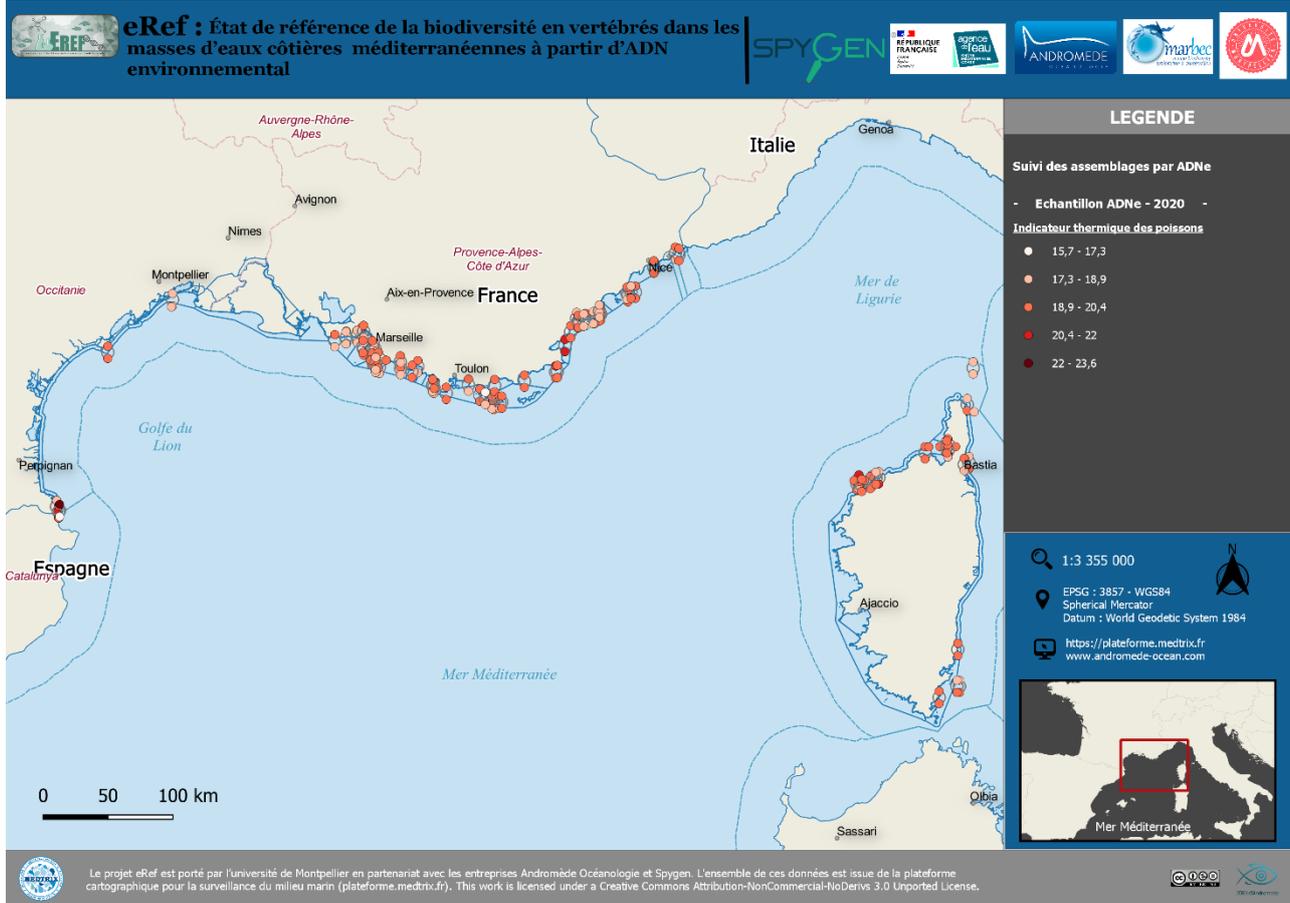


Le projet eRef est porté par l'université de Montpellier en partenariat avec les entreprises Andromède Océanologie et Spygen. L'ensemble de ces données est issue de la plateforme cartographique pour la surveillance du milieu marin (plateforme.medtrix.fr). This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported License.

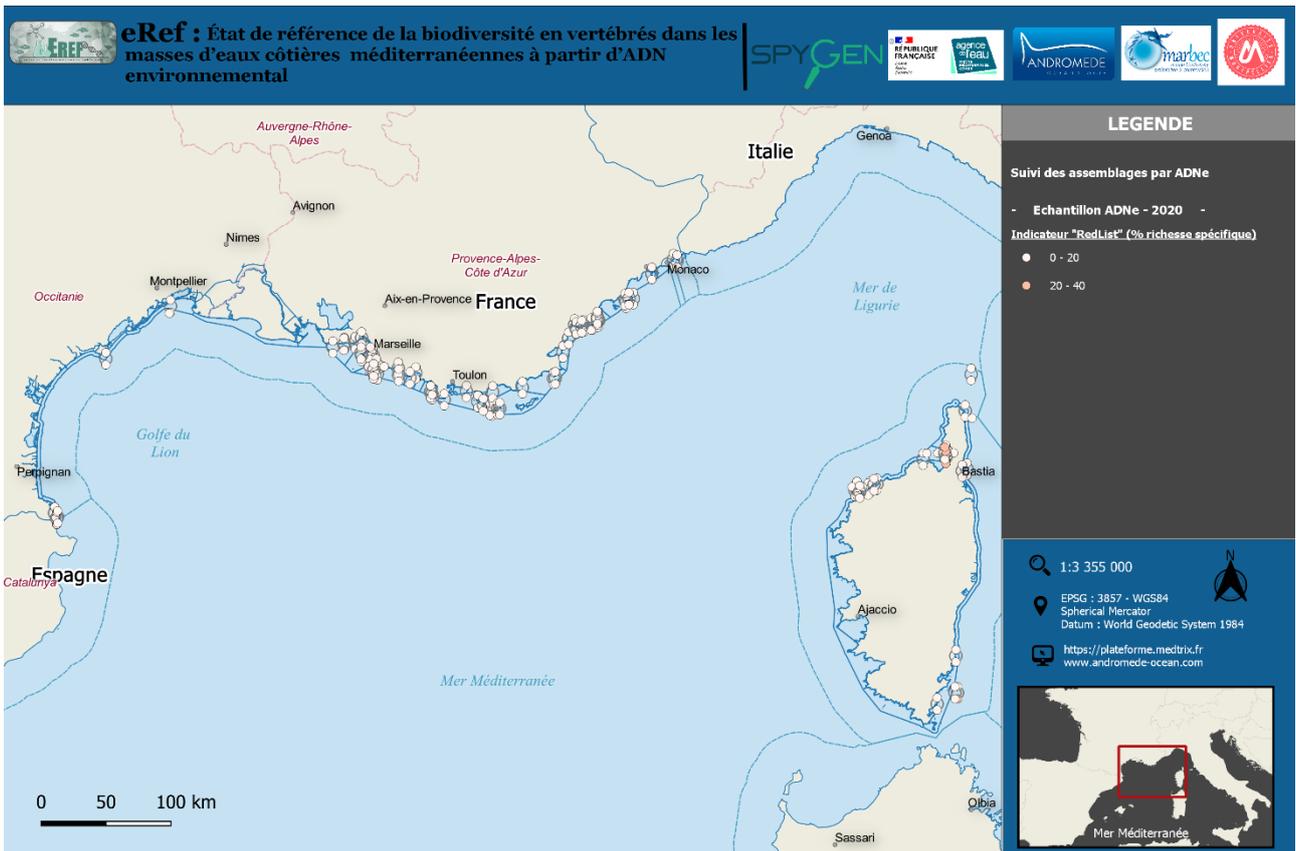




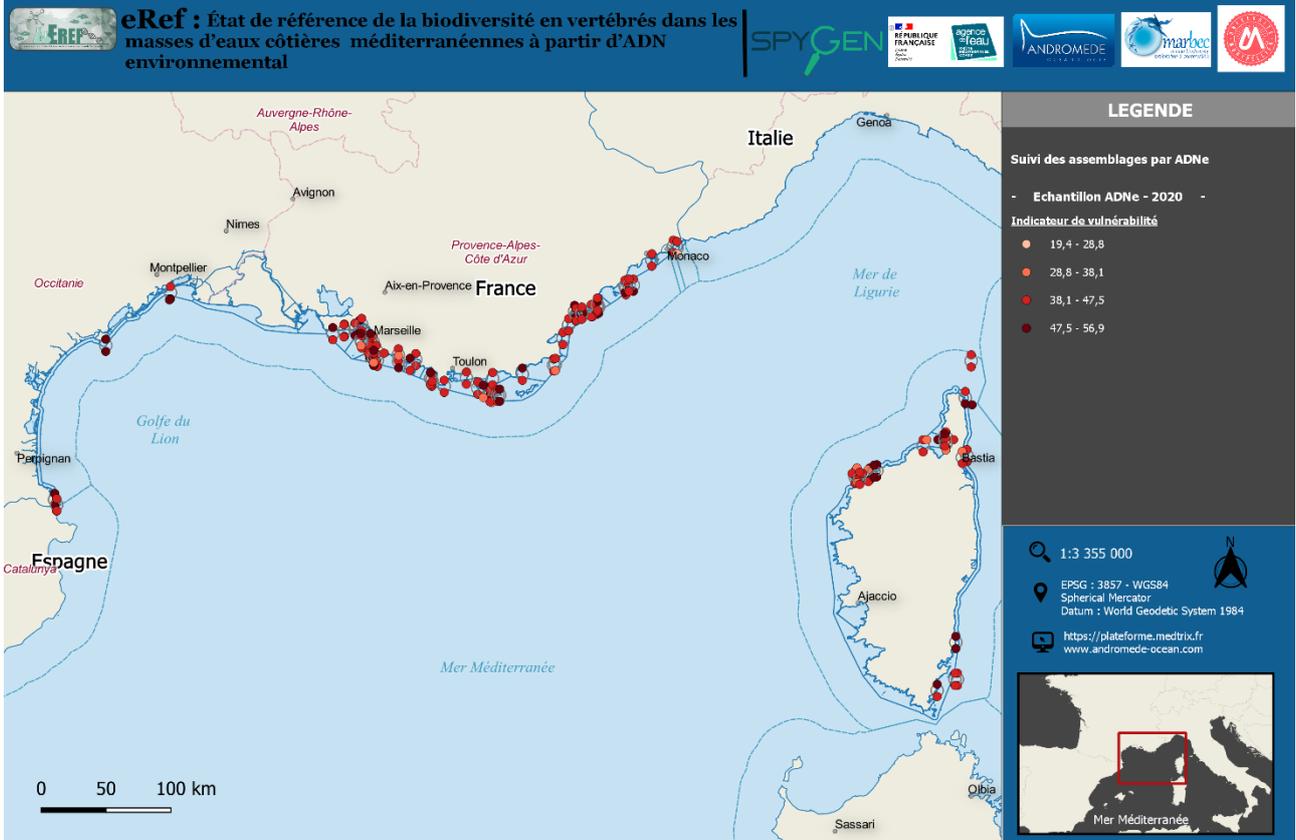
Le projet eRef est porté par l'université de Montpellier en partenariat avec les entreprises Andromède Océanologie et Spysgen. L'ensemble de ces données est issue de la plateforme cartographique pour la surveillance du milieu marin (plateforme.medtrix.fr). This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported License.



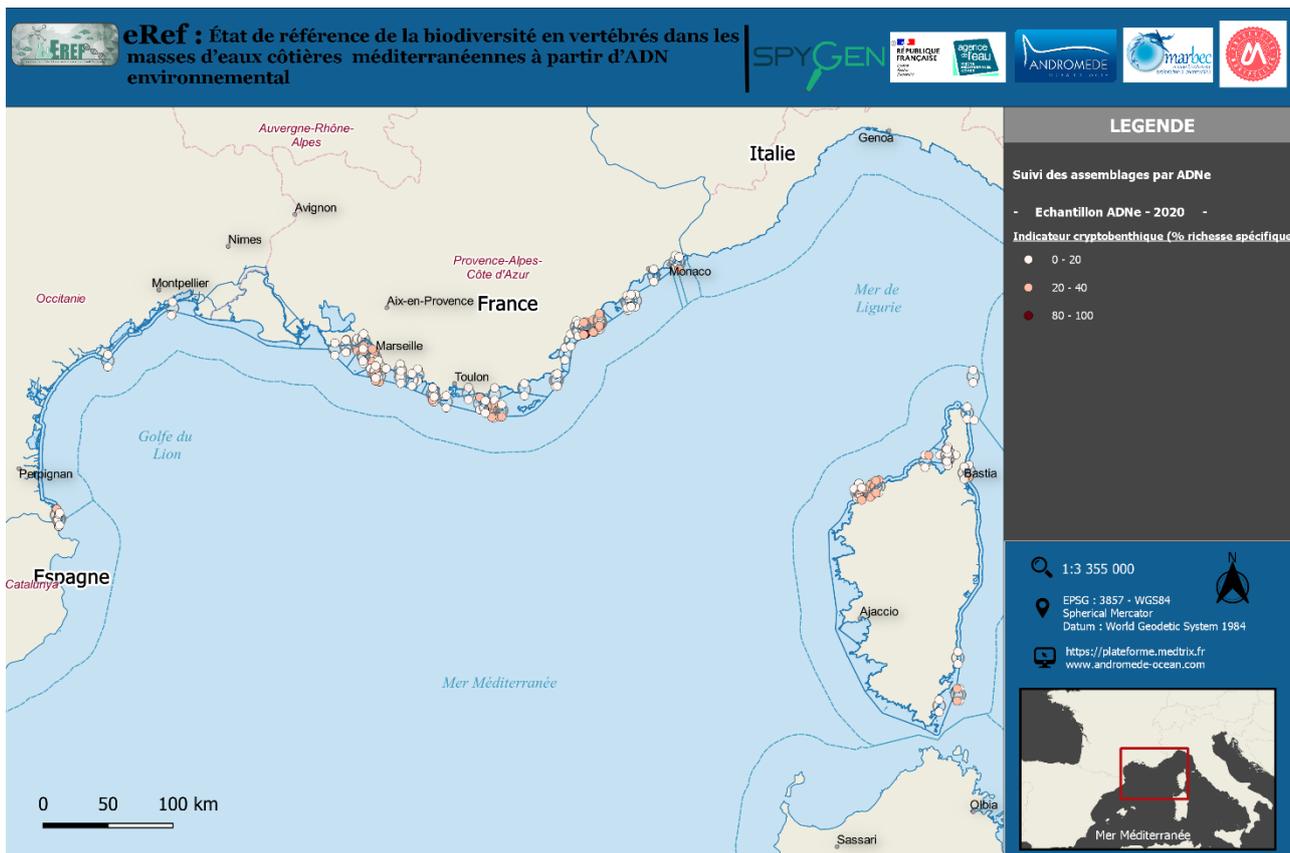
Le projet eRef est porté par l'université de Montpellier en partenariat avec les entreprises Andromède Océanologie et Spysgen. L'ensemble de ces données est issue de la plateforme cartographique pour la surveillance du milieu marin (plateforme.medtrix.fr). This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported License.



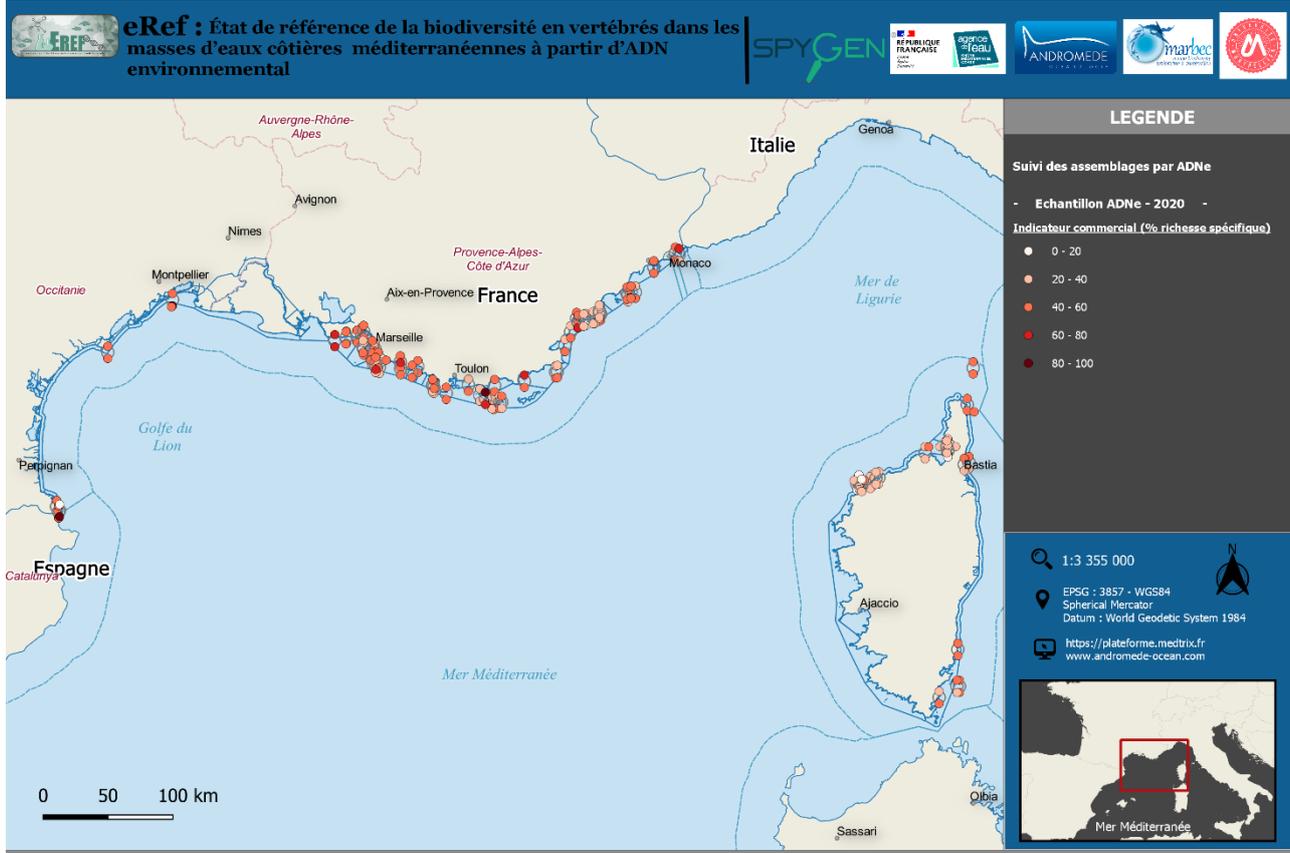
Le projet eRef est porté par l'université de Montpellier en partenariat avec les entreprises Andromède Océanologie et Spygen. L'ensemble de ces données est issue de la plateforme cartographique pour la surveillance du milieu marin (plateforme.medtrix.fr). This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported License.



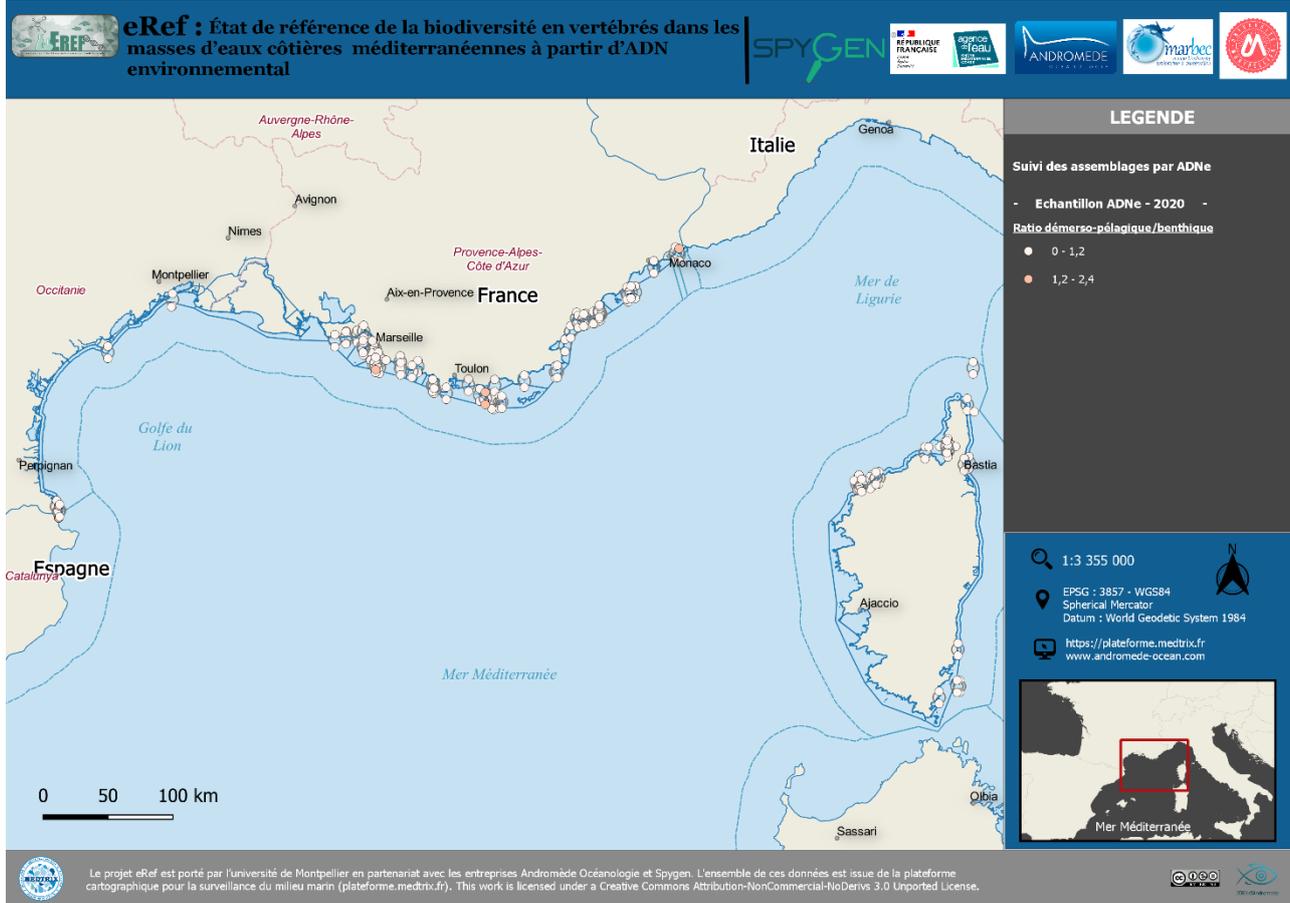
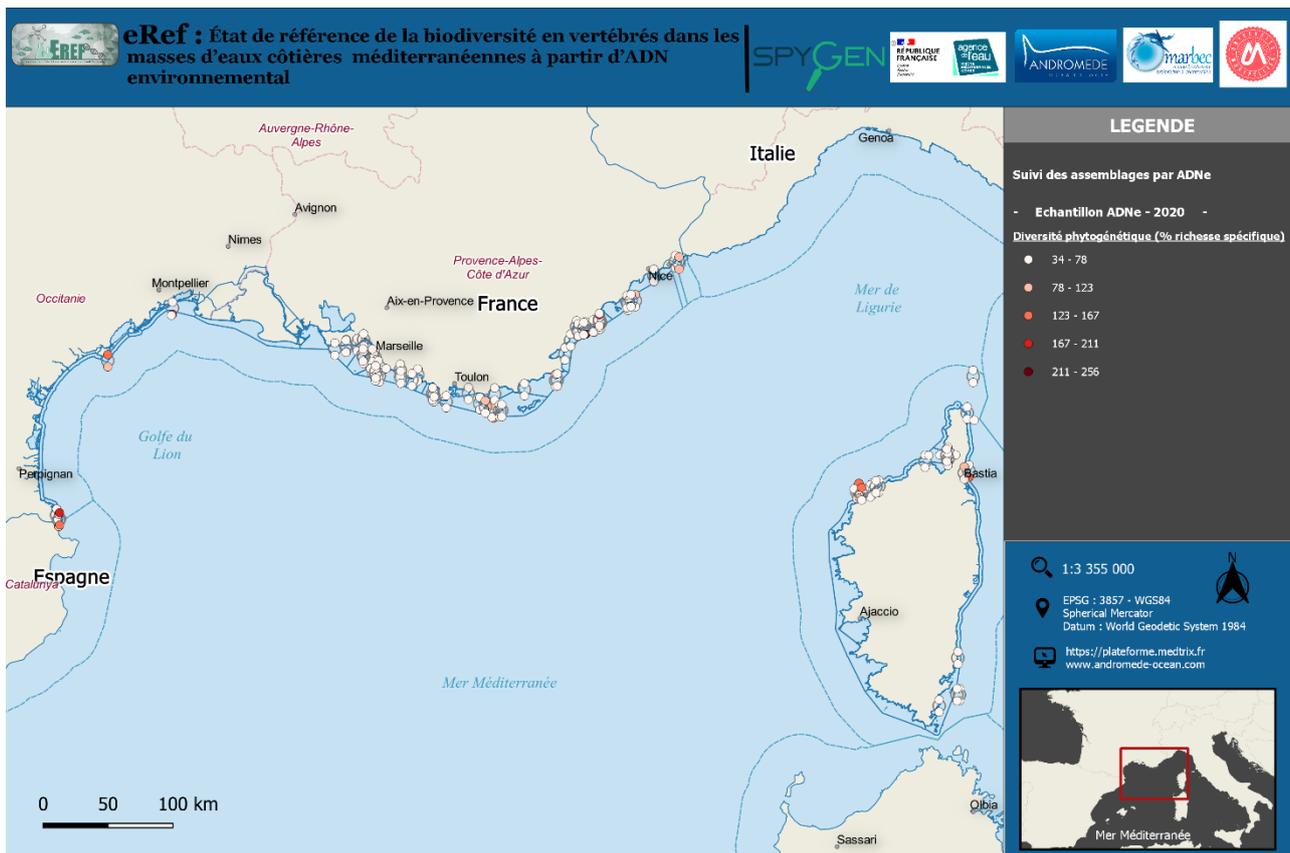
Le projet eRef est porté par l'université de Montpellier en partenariat avec les entreprises Andromède Océanologie et Spygen. L'ensemble de ces données est issue de la plateforme cartographique pour la surveillance du milieu marin (plateforme.medtrix.fr). This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported License.

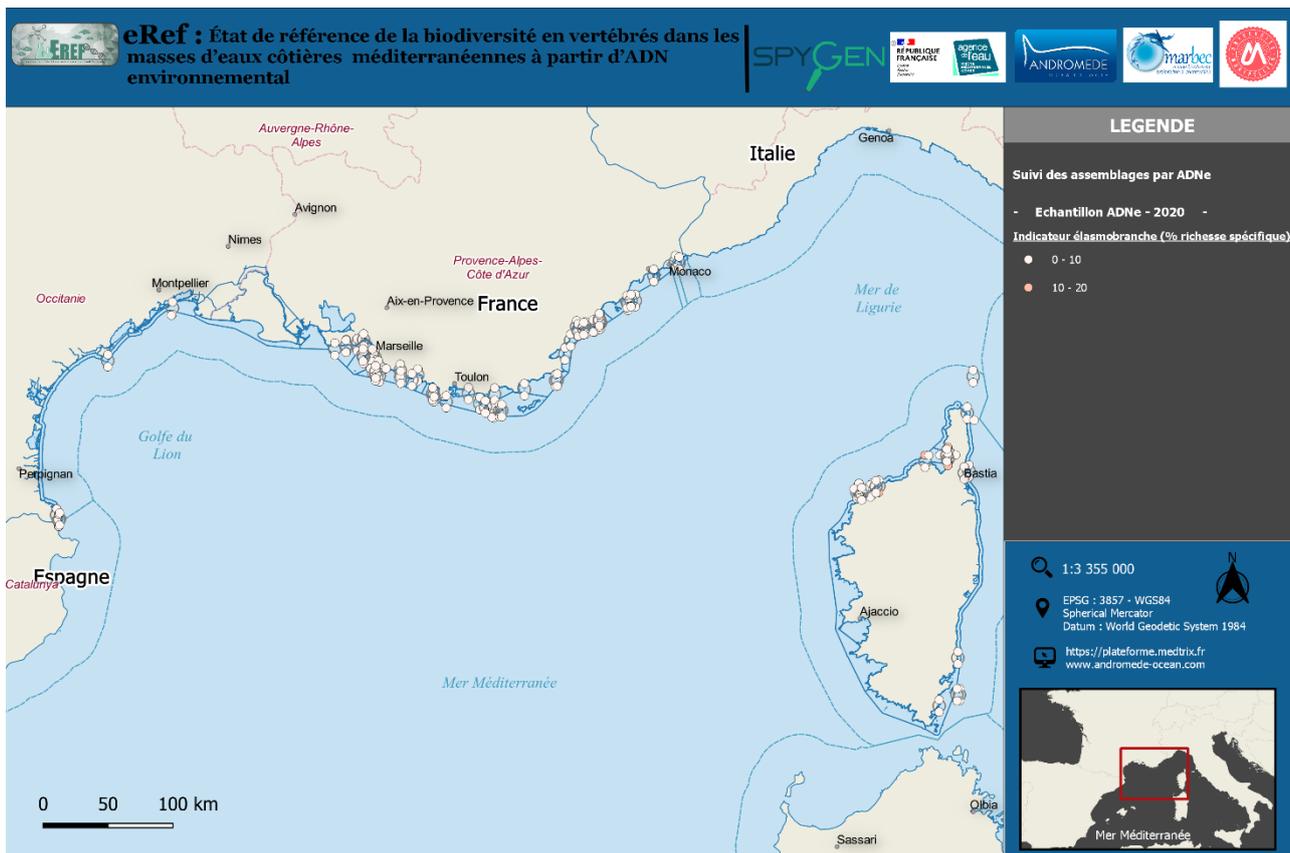


Le projet eRef est porté par l'université de Montpellier en partenariat avec les entreprises Andromède Océanologie et Spygen. L'ensemble de ces données est issue de la plateforme cartographique pour la surveillance du milieu marin (plateforme.medtrix.fr). This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported License.

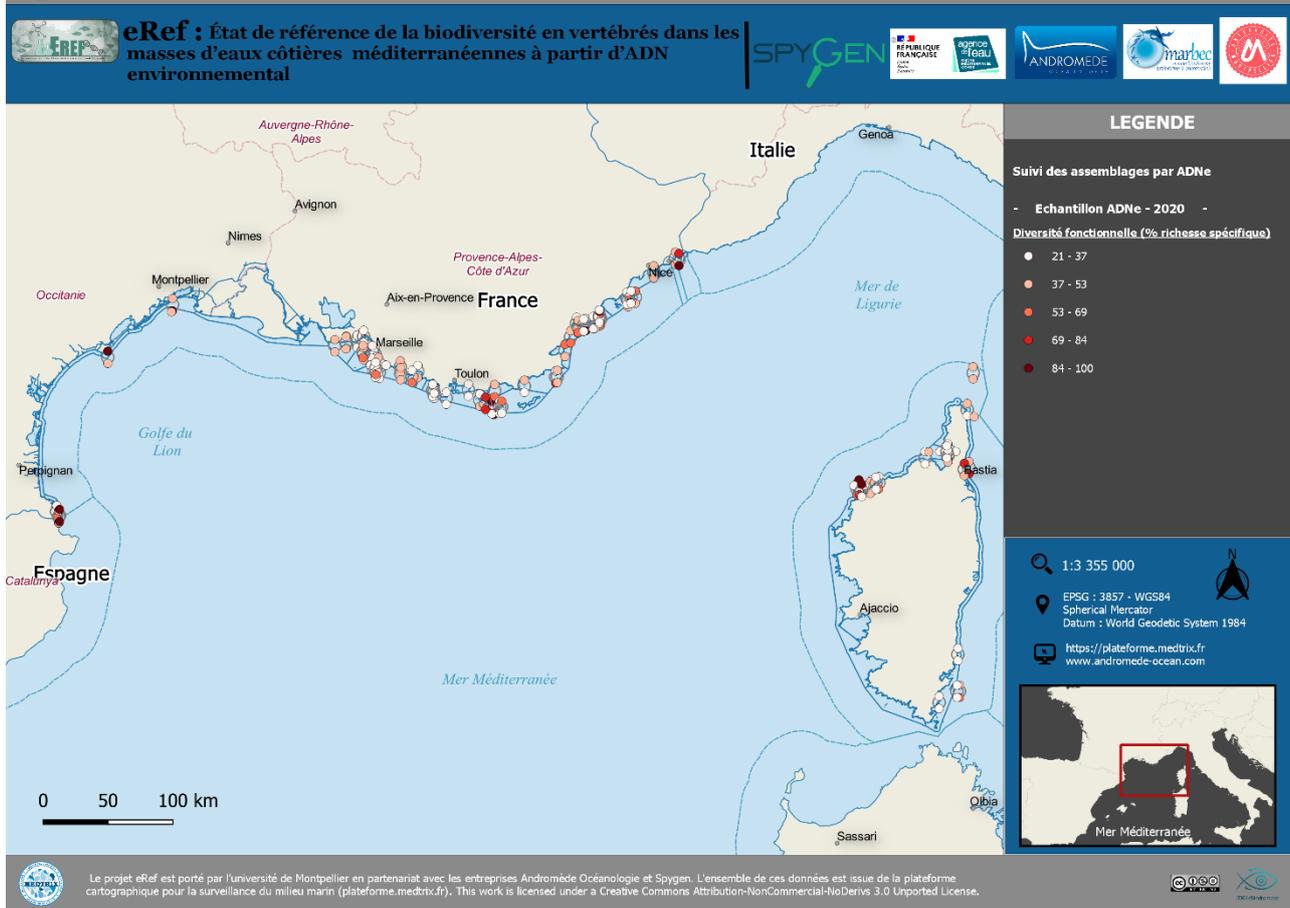


Le projet eRef est porté par l'université de Montpellier en partenariat avec les entreprises Andromède Océanologie et Spygen. L'ensemble de ces données est issue de la plateforme cartographique pour la surveillance du milieu marin (plateforme.medtrix.fr). This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported License.





Le projet eRef est porté par l’université de Montpellier en partenariat avec les entreprises Andromède Océanologie et Spigen. L’ensemble de ces données est issue de la plateforme cartographique pour la surveillance du milieu marin (plateforme.medtrix.fr). This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported License.



Le projet eRef est porté par l’université de Montpellier en partenariat avec les entreprises Andromède Océanologie et Spigen. L’ensemble de ces données est issue de la plateforme cartographique pour la surveillance du milieu marin (plateforme.medtrix.fr). This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported License.

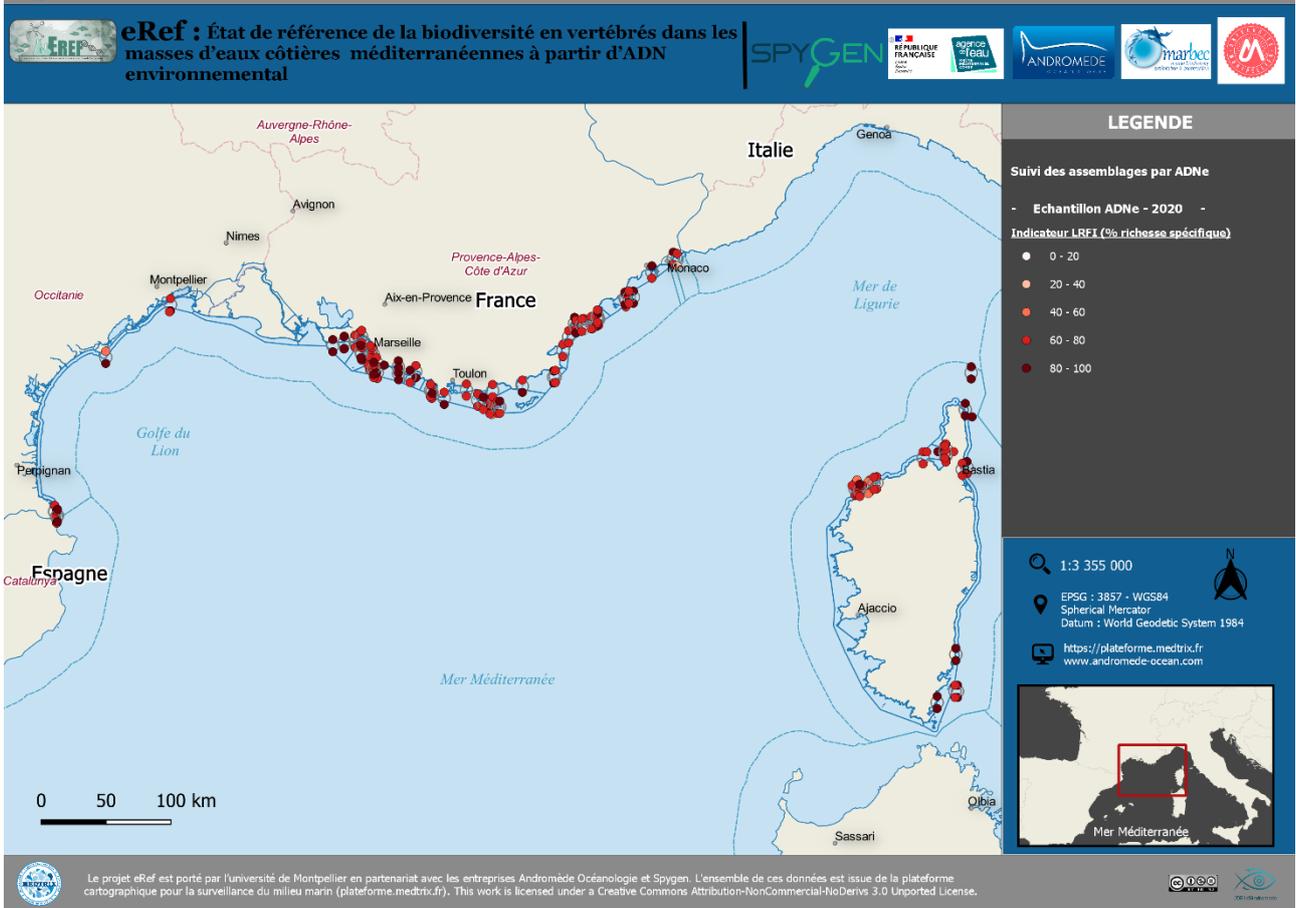
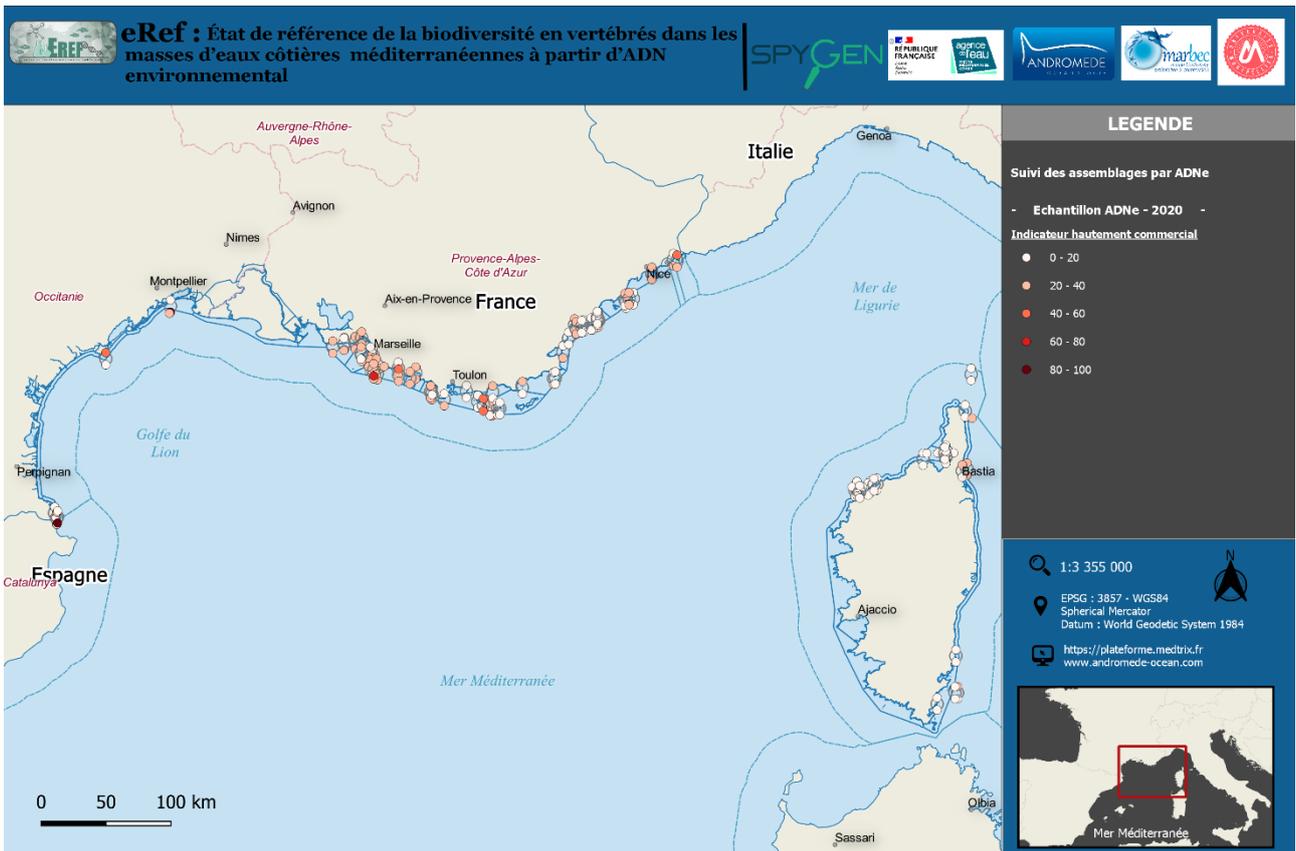
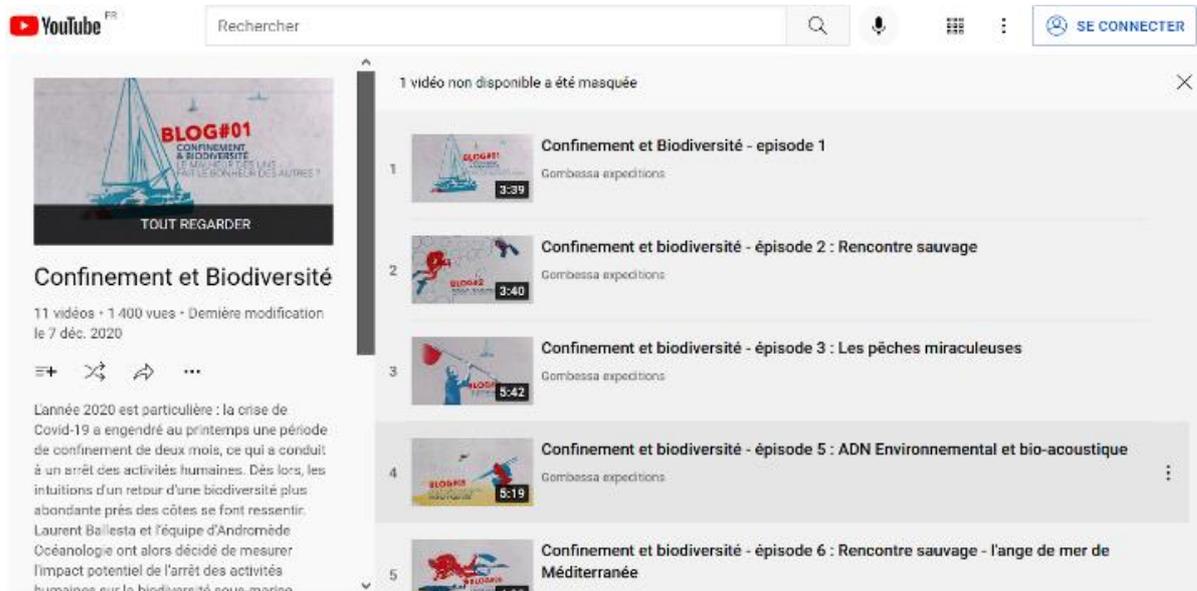


Figure 29. Cartes illustrant les valeurs des différents indicateurs calculés pour le projet eREF à partir des échantillons de 2020.

VI. Valorisation des résultats du projet

Nous avons communiqué sur le projet et ses résultats sous les formes suivantes :

- Un [communiqué de presse](#) en mai 2020 pour le lancement de la campagne en mer (Annexe 4)
- Un épisode spécial “ADN environnemental et bio-acoustique” (<https://www.youtube.com/watch?v=OEa1zdB9AmU&list=PLpoDIhxslxPN864OIO5beF-gGDU9Saffo&index=4>) au sein de la série “Confinement et Biodiversité” <https://www.youtube.com/playlist?list=PLpoDIhxslxPN864OIO5beF-gGDU9Saffo> créée sur la chaîne Gombessa expéditions en Décembre 2020.



- Une communication orale de David Mouillot lors de la journée ADNe le 1er juin 2022 et lors de l’atelier DRIVER “Évaluer, améliorer et restaurer la qualité des fonds marins de Méditerranée, des « sols » vivants sous l’eau” le jeudi 27 octobre 2022 au salon AdNatura.
- Un court métrage (9 min 28) intitulé “ADN environnemental : application au milieu côtier méditerranéen” réalisé par une étudiante Lola Romant (<https://www.youtube.com/watch?v=8b97UV6IXSk&t=12s>)
- Un guide méthodologique pour le déploiement des méthodes ADNe en milieux marins côtiers et le calcul des indicateurs qui sera publié au cours du dernier trimestre 2023.
- Des publications en préparation :

Manel Stéphanie, Mathon Laetitia, Mouillot David, Bruno Morgane, Valentini Alice, Lecaillon Gilles, Gudefin Anaïs, Deter Julie, Boissery Pierre, Dalongeville Alicia. Benchmarking biodiversity of seaports with eDNA metabarcoding and marine reserve. Soumis à Conservation Letter

Mouillot David, Velez Laure, Manel Stéphanie, Marques Virginie, Boissery Pierre, Valentini Alice, Holon Florian, Dejean Tony, Boulanger Emilie, Lenfant Philippe, Deter Julie, Dalongeville Alicia. The de-confinement of marine fishes during the COVID-19 human-forced confinement.

- Des rapports :

ANDROMEDE OCEANOLOGIE, 2021. Surveillance biologique 2020 : Acquisitions photogrammétriques sur les sites TEMPO et RECOR, suivi des populations de poissons, modélisation des données de température. Contrat Andromède Océanologie / Agence de l’eau. 170 pages.

ANDROMEDE OCEANOLOGIE, 2021. Surveillance biologique 2020 : Suivi des populations de poissons sur les sites TEMPO et RECOR. Contrat Andromède Océanologie / Agence de l’eau. 32 pages.

Macé Bastien, 2023. Opportunité de l’ADN environnemental pour estimer la diversité totale dans les ports. Stage de Master 2, Agro Rennes. Accueil EPHE – CEFE en collaboration avec UM – MARBEC et Andromède océanologie. Financement : Agence de l’eau RMC

VII. Conclusion

Ce projet porté par l’Université de Montpellier en partenariat avec les entreprises Andromède Océanologie et SPYGEN a permis de détecter un effet du confinement de 2020 sur la diversité des poissons osseux et cartilagineux en Méditerranée française.

Au total, 14 indicateurs de biodiversité (Richesse spécifique, Diversité fonctionnelle, Diversité phylogénétique, Indicateur « grands poissons », Indicateur crypto-benthique, Ratio démerso-pélagique / benthique, Indicateur "Red List" (IUCN), Indicateur non-indigène, Indicateur thermique des poissons, Indicateur élasmobranche, Indicateur niveau trophique, Indicateur commercial, Indicateur hautement commercial, Indicateur de vulnérabilité) ont été calculés afin d’évaluer l’état des eaux côtières en matière de biodiversité des poissons. La richesse spécifique est très hétérogène entre les échantillons (de 1 à 54 espèces). Trois espèces non-indigènes ont été détectées dans 12 sites différents de Corse, de la région Sud et d’Occitanie. Neuf espèces de la Liste Rouge des espèces menacées de l’IUCN ont été identifiées et 6 espèces classées “vulnérables”. Dix espèces d’élasmobranches ont été identifiées dans 29 des 57 sites. Les résultats sont consultables sur la plateforme MEDTRIX dans le projet Piscis et facilement compréhensibles grâce à des cartes et des curseurs imagés.

Parallèlement, nous avons complété la base génétique de références pour les vertébrés marins (poissons osseux et cartilagineux) de Méditerranée sur le gène 12S du génome mitochondrial afin de mieux assigner les fragments d’ADN environnemental à des espèces : 178 séquences de 39 espèces supplémentaires ont enrichi la base en 2021. Sur l’ensemble des données, la mise à jour de

la base de références a permis d’identifier 13 espèces supplémentaires, avec en moyenne 6 espèces de plus par échantillon (minimum 3 et maximum 8) avec la base de référence 2021 qu’avec la version 2019.

Le test de différentes méthodes d’échantillonnage en mer permet de proposer la méthodologie la plus adaptée à la question posée en fonction d’un compromis cout-efficacité. Nous avons montré que :

- une plus grande quantité d’eau filtrée apporte une plus grande quantité d’ADN sans risque de colmatage pour le filtre et qu’il est préférable d’ouvrir la vis de purge d’air pendant quelques secondes en début de filtration,
- le moment de l’échantillonnage (matin ou soir) influence peu les résultats des inventaires,
- un inventaire souhaité exhaustif nécessite la filtration d’un grand volume d’eau par ADNe et/ou un couplage d’un inventaire visuel en plongée (UVC) et par ADNe et/ou une approche multi-marqueurs (Vert01 et Teleo).
- l’ADNe est à privilégier pour le suivi d’espèces cryptobenthiques, pélagiques et rares, difficilement observables par les plongeurs, alors que l’UVC permet d’identifier les espèces génétiquement proches partageant la même séquence d’ADN, et d’estimer la taille et l’abondance des individus.
- sur des sites profonds (-100 m), l’échantillonnage en surface ne permet pas de capter les espèces profondes et les assemblages détectés en surface et au fond sont différents.
- un plus grand nombre d’espèces (notamment d’espèces benthiques) est détecté lorsque la pompe est déplacée et/ou placée près du fond mais des communautés semblables sont observées quelle que soit la méthode.
- les inventaires de mammifères réalisés avec les marqueurs Vert et Mammifères sont similaires pour cette étude pilote, mais les deux marqueurs utilisés ne peuvent pas discriminer les espèces de la famille Delphinidae.
- l’analyse des communautés bactériennes et/ou eucaryotes par l’ADNe pourrait être intéressante pour caractériser les masses d’eau et établir des indicateurs de référence par type de milieu (zone côtière, zone protégée, estuaire, lagune, zone portuaire etc.), zone géographique et type d’habitat ; mais également pour le suivi des souches bactériennes pathogènes.

Comme tous les outils, l’ADNe possède des atouts et des limites qu’il convient de connaître pour pouvoir l’utiliser de manière efficace. Les avancées scientifiques et méthodologiques issues de cette étude sont à retrouver dans le guide méthodologique pour les méthodes ADNe en mer Méditerranée et le calcul des indicateurs. Ce guide sera publié fin 2023.

VIII. Références bibliographiques

- Albouy, C., Ben Rais Lasram, F., Velez, L., Guilhaumon, F., Meynard, C., Boyer, S., Benestan, L., Mouquet, N., Douzery, E., Aznard, R., Trousselier, M., Somot, S., Leprieur, F., Le Loc’h, F., Mouillot, D., 2015. FishMed: traits, phylogeny, current and projected species distribution of Mediterranean fishes, and environmental data. *Ecology* 96, 2312–2313.
- Amaral, A.R., Jackson, J.A., Möller, L.M., Beheregaray, L.B., Manuela Coelho, M., 2012. Species tree of a recent radiation: The subfamily Delphininae (Cetacea, Mammalia). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 64, 243–253. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.04.004>

- Bates, O.K., Ollier, S., Bertelsmeier, C., 2020. Smaller climatic niche shifts in invasive than non-invasive alien ant species. *Nat Commun* 11, 5213. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19031-1>
- Biggs, J., Ewald, N., Valentini, A., Gaboriaud, C., Dejean, T., Griffiths, R.A., Foster, J., Wilkinson, J.W., Arnell, A., Brotherton, P., Williams, P., Dunn, F., 2015. Using eDNA to develop a national citizen science-based monitoring programme for the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Biological Conservation* 183, 19–28. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.029>
- Blowes, S.A., Chase, J.M., Di Franco, A., Frid, O., Gotelli, N.J., Guidetti, P., Knight, T.M., May, F., McGlenn, D.J., Micheli, F., Sala, E., Belmaker, J., 2020. Mediterranean marine protected areas have higher biodiversity via increased evenness, not abundance. *J Appl Ecol* 57, 578–589. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13549>
- Boulanger, E., Loiseau, N., Valentini, A., Arnal, V., Boissery, P., Dejean, T., Deter, J., Guellati, N., Holon, F., Juhel, J.-B., Lenfant, P., Manel, S., Mouillot, D., 2021. Environmental DNA metabarcoding reveals and unpacks a biodiversity conservation paradox in Mediterranean marine reserves. *Proc. R. Soc. B.* 288, rspb.2021.0112, 20210112. <https://doi.org/10.1098/rspb.2021.0112>
- Boyer, F., Mercier, C., Bonin, A., Le Bras, Y., Taberlet, P., Coissac, E., 2016. obitools: a unix-inspired software package for DNA metabarcoding. *Mol Ecol Resour* 16, 176–182. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12428>
- Brandl, S.J., Goatley, C.H.R., Bellwood, D.R., Tornabene, L., 2018. The hidden half: ecology and evolution of cryptobenthic fishes on coral reefs. *Biol Rev* 93, 1846–1873. <https://doi.org/10.1111/brv.12423>
- Breheny, P., Burchett, W., 2017. Visualization of Regression Models Using visreg. *The R Journal* 9, 56–71.
- Cheung, W.W.L., Pitcher, T.J., Pauly, D., 2005. A fuzzy logic expert system to estimate intrinsic extinction vulnerabilities of marine fishes to fishing. *Biological Conservation* 124, 97–111. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.01.017>
- Claudet, J., Pelletier, D., Jouvenel, J.-Y., Bachet, F., Galzin, R., 2006. Assessing the effects of marine protected area (MPA) on a reef fish assemblage in a northwestern Mediterranean marine reserve: Identifying community-based indicators. *Biological Conservation* 130, 349–369. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.12.030>
- Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Ben Rais Lasram, F., Aguzzi, J., Ballesteros, E., Bianchi, C.N., Corbera, J., Dailianis, T., Danovaro, R., Estrada, M., Frogli, C., Galil, B.S., Gasol, J.M., Gertwagen, R., Gil, J., Guilhaumon, F., Kesner-Reyes, K., Kitsos, M.-S., Koukouras, A., Lampadariou, N., Laxamana, E., López-Fé de la Cuadra, C.M., Lotze, H.K., Martin, D., Mouillot, D., Oro, D., Raicevich, S., Rius-Barile, J., Saiz-Salinas, J.I., San Vicente, C., Somot, S., Templado, J., Turon, X., Vafidis, D., Villanueva, R., Voultsiadou, E., 2010. The Biodiversity of the Mediterranean Sea: Estimates, Patterns, and Threats. *PLoS ONE* 5, e11842. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011842>
- Corlett, R.T., Primack, R.B., Devictor, V., Maas, B., Goswami, V.R., Bates, A.E., Koh, L.P., Regan, T.J., Loyola, R., Pakeman, R.J., Cumming, G.S., Pidgeon, A., Johns, D., Roth, R., 2020. Impacts of the coronavirus pandemic on biodiversity conservation. *Biological Conservation* 246, 108571. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108571>
- D'agata, S., Mouillot, D., Kulbicki, M., Andréfouët, S., Bellwood, D.R., Cinner, J.E., Cowman, P.F., Kronen, M., Pinca, S., Vigliola, L., 2014. Human-Mediated Loss of Phylogenetic and Functional Diversity in Coral Reef Fishes. *Current Biology* 24, 555–560. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.01.049>

- De Lope Arias, J.J., Mateu-Vicens, G., Deudero Company, M., 2016. Meta-analysis review of fish trophic level at marine protected areas based on stable isotopes data. *Medit. Mar. Sci.* 17, 496. <https://doi.org/10.12681/mms.1628>
- Dwyer, R.G., Krueck, N.C., Udyawer, V., Heupel, M.R., Chapman, D., Pratt, H.L., Garla, R., Simpfendorfer, C.A., 2020. Individual and Population Benefits of Marine Reserves for Reef Sharks. *Current Biology* 30, 480-489.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.12.005>
- Froese, R., Pauly, D., 2023. FishBase. World Wide Web electronic publication [WWW Document]. URL www.fishbase.org
- Giakoumi, S., Scianna, C., Plass-Johnson, J., Micheli, F., Grorud-Colvert, K., Thiriet, P., Claudet, J., Di Carlo, G., Di Franco, A., Gaines, S.D., García-Charton, J.A., Lubchenco, J., Reimer, J., Sala, E., Guidetti, P., 2017. Ecological effects of full and partial protection in the crowded Mediterranean Sea: a regional meta-analysis. *Sci Rep* 7, 8940. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08850-w>
- Graham, N.A.J., McClanahan, T.R., MacNeil, M.A., Wilson, S.K., Cinner, J.E., Huchery, C., Holmes, T.H., 2017. Human Disruption of Coral Reef Trophic Structure. *Current Biology* 27, 231–236. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.10.062>
- Guardiola, M., Uriz, M.J., Taberlet, P., Coissac, E., Wangensteen, O.S., Turon, X., 2015. Deep-Sea, Deep-Sequencing: Metabarcoding Extracellular DNA from Sediments of Marine Canyons. *PLOS ONE* 10:e0139633.
- Guidetti, P., Baiata, P., Ballesteros, E., Di Franco, A., Hereu, B., Macpherson, E., Micheli, F., Pais, A., Panzalis, P., Rosenberg, A.A., Zabala, M., Sala, E., 2014. Large-Scale Assessment of Mediterranean Marine Protected Areas Effects on Fish Assemblages. *PLoS ONE* 9, e91841. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091841>
- Hastings, R.A., Rutterford, L.A., Freer, J.J., Collins, R.A., Simpson, S.D., Genner, M.J., 2020. Climate Change Drives Poleward Increases and Equatorward Declines in Marine Species. *Current Biology* 30, 1572-1577.e2. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.02.043>
- Hebrard, P., 2020. L'impact de la Covid-19 sur le monde maritime (No. Note de la FRS n°24/2020). Fondation pour la Recherche Stratégique.
- Holon, F., 2015. Interactions entre écosystèmes marins et pressions anthropiques. Applications au suivi et à la gestion des eaux côtières de la mer Méditerranée. University of Montpellier, France.
- Ifremer, 2021. Eléments de suivi des conséquences de l'épidémie de Covid-19 sur la pêche professionnelle. Façade Méditerranée continentale (hors Corse) Navires entre 12 et 40 mètres (hors senneurs à thons rouges). Bilan à la semaine 53. (Système d'information halieutique). Ifremer, Brest.
- Juhel, J.-B., Utama, R.S., Marques, V., Vimono, I.B., Sugeha, H.Y., Pouyaud, L., Dejean, T., Mouillot, D., Hocdé, R., 2020. Accumulation curves of environmental DNA sequences predict coastal fish diversity in the coral triangle. *Proceedings in the Royal Society of London, Biological Sciences* 287, 10. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.0248>
- Juhel, J.-B., Vigliola, L., Mouillot, D., Kulbicki, M., Letessier, T.B., Meeuwig, J.J., Wantiez, L., 2017. Reef accessibility impairs the protection of sharks. *J Appl Ecol* 55, 673–683. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13007>
- Kalaydjian, R., Bas, A., 2022. French Maritime Economic Data 2021. Ifremer, Brest.
- Koziol, A., Stat, M., Simpson, T., Jarman, S.N., DiBattista, J.D., Harvey, E.S., Marmane, M., MacDonald, J., Bunce, M., 2019. Environmental DNA Metabarcoding Studies Are Critically Affected by Substrate Selection. *Molecular ecology* 19, 366–376. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12971>
- Leinonen, R., Akhtar, R., Birney, E., Bower, L., Cerdano-Tarraga, A., Cheng, Y., Cleland, I., Faruque, N., Goodgame, N., Gibson, R., Hoad, G., Jang, M., Pakseresht, N., Plaister, S., Radhakrishnan, R., Reddy, K., Sobhany, S., Ten Hoopen, P., Vaughan, R., Zalunin, V., Cochrane, G., 2011. The

- European Nucleotide Archive. *Nucleic Acids Research* 39, D28–D31. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq967>
- Loiseau, N., Thuiller, W., Stuart-Smith, R.D., Devictor, V., Edgar, G.J., Velez, L., Cinner, J.E., Graham, N.A.J., Renaud, J., Hoey, A.S., Manel, S., Mouillot, D., 2021. Maximizing regional biodiversity requires a mosaic of protection levels. *PLoS Biol* 19, e3001195. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001195>
- MacConaill, L.E., Burns, R.T., Nag, A., Coleman, H.A., Slevin, M.K., Giorda, K., Light, M., Lai, K., Jarosz, M., McNeill, M.S., Ducar, M.D., Meyerson, M., Thorner, A.R., 2018. Unique, dual-indexed sequencing adapters with UMIs effectively eliminate index cross-talk and significantly improve sensitivity of massively parallel sequencing. *BMC Genomics* 19, 30. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4428-5>
- Mouillot, D., Loiseau, N., Grenié, M., Algar, A.C., Allegra, M., Cadotte, M.W., Casajus, N., Denelle, P., Guéguen, M., Maire, A., Maitner, B., McGill, B.J., McLean, M., Mouquet, N., Munoz, F., Thuiller, W., Villéger, S., Violle, C., Auber, A., 2021. The dimensionality and structure of species trait spaces. *Ecology Letters* 24, 1988–2009. <https://doi.org/10.1111/ele.13778>
- Murphy, H.M., Jenkins, G.P., 2010. Observational methods used in marine spatial monitoring of fishes and associated habitats: a review. *Mar. Freshwater Res.* 61, 236. <https://doi.org/10.1071/MF09068>
- Otero, M.M., Cebrian, E., Francour, P., Galil, B.S., Savini, D., 2013. Monitoring Marine Invasive Species in Mediterranean Marine Protected Areas (MPAs): A strategy and practical guide for managers. IUCN, Malaga.
- Polanco, F.A., Richards, E., Flück, B., Valentini, A., Altermatt, F., Brosse, S., Walser, J., Eme, D., Marques, V., Manel, S., Albouy, C., Dejean, T., Pellissier, L., 2021. Comparing the performance of 12S mitochondrial primers for fish environmental DNA across ecosystems. *Environmental DNA* 3, 1113–1127. <https://doi.org/10.1002/edn3.232>
- Rabosky, D.L., Chang, J., Title, P.O., Cowman, P.F., Sallan, L., Friedman, M., Kaschner, K., Garilao, C., Near, T.J., Coll, M., Alfaro, M.E., 2018. An inverse latitudinal gradient in speciation rate for marine fishes. *Nature* 559, 392–395. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0273-1>
- Riaz, T., Shehzad, W., Viari, A., Pompanon, F., Taberlet, P., Coissac, E., 2011. EcoPrimers: Inference of new DNA barcode markers from whole genome sequence analysis. *Nucleic Acids Research* 39, 1–11. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr732>
- Schnell, I.B., Bohmann, K., Gilbert, M.T.P., 2015. Tag jumps illuminated - reducing sequence-to-sample misidentifications in metabarcoding studies. *Mol Ecol Resour* 15, 1289–1303. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12402>
- Sciberras, M., Jenkins, S.R., Mant, R., Kaiser, M.J., Hawkins, S.J., Pullin, A.S., 2015. Evaluating the relative conservation value of fully and partially protected marine areas. *Fish Fish* 16, 58–77. <https://doi.org/10.1111/faf.12044>
- SPYGEN, 2021. Projet CetADNe : Détection de mammifères marins par analyse d'ADN environnemental dans des prélèvements d'eau de mer. Résultats de la première campagne test en mer 'Iroise . Rapport au Parc Naturel Marin d'Iroise, Office Français de la Biodiversité.
- Stauffer, S., Jucker, M., Keggin, T., Marques, V., Andrello, M., Bessudo, S., Cheutin, M., Borrero-Pérez, G.H., Richards, E., Dejean, T., Hocdé, R., Juhel, J., Ladino, F., Letessier, T.B., Loiseau, N., Maire, E., Mouillot, D., Mutis Martinezguerra, M., Manel, S., Polanco Fernández, A., Valentini, A., Velez, L., Albouy, C., Pellissier, L., Waldock, C., 2021. How many replicates to accurately estimate fish biodiversity using environmental DNA on coral reefs? *Ecol Evol* 11, 14630–14643. <https://doi.org/10.1002/ece3.8150>
- Taberlet, P., Bonin, A., Zinger, L., Coissac, E., 2018. Environmental DNA: For Biodiversity Research and Monitoring. Oxford University Press, NY: New York.

- Thiault, L., Kernaléguen, L., Osenberg, C.W., Lison de Loma, T., Chancerelle, Y., Siu, G., Claudet, J., 2019. Ecological evaluation of a marine protected area network: a progressive-change BACIPS approach. *Ecosphere* 10. <https://doi.org/10.1002/ecs2.2576>
- Valentini, A., Taberlet, P., Miaud, C., Civade, R., Herder, J., Thomsen, P.F., Bellemain, E., Besnard, A., Coissac, E., Boyer, F., Gaboriaud, C., Jean, P., Poulet, N., Roset, N., Copp, G.H., Geniez, P., Pont, D., Argillier, C., Baudoin, J.-M., Peroux, T., Crivelli, A.J., Olivier, A., Acqueberge, M., Le Brun, M., Møller, P.R., Willerslev, E., Dejean, T., 2016. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Mol Ecol* 25, 929–942. <https://doi.org/10.1111/mec.13428>
- Wang, S., Loreau, M., 2016. Biodiversity and ecosystem stability across scales in metacommunities. *Ecology Letters* 19, 510–518.
- Winter, M., Devictor, V., Schweiger, O., 2013. Phylogenetic diversity and nature conservation: where are we? *Trends in Ecology & Evolution* 28, 199–204. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.10.015>
- WWF, 2015. Rapport Planète Vivante Océans. WWF.
- Zhang, S., Zhao, J., Yao, M., 2020. A comprehensive and comparative evaluation of primers for metabarcoding eDNA from fish. *Methods Ecol. Evol.* 11, 1609–1625. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13485>

IX. Annexes

Annexe 1 : liste complète des espèces référencées dans la base et leurs caractéristiques écologiques

Espèce	Ordre	Famille	Genre	Position	Longueur max (cm)	Niveau Trophique	Catégorie IUCN	Non-indigène	Espèce commerciale	Séquence local	Seq. Télé sur NCBI
<i>Abudefduf vaigiensis</i>	Perciformes	Pomacentridae	Abudefduf	Demersal	18	2.6	LC	Oui		Oui	Oui
<i>Acanthocybium solandri</i>	Perciformes	Scombridae	Acanthocybium	Pelagic	210	4.3	LC	Non		Oui	Oui
<i>Acanthurus monroviae</i>	Perciformes	Acanthuridae	Acanthurus	Benthic	45	2.5	LC	Oui		Non	Oui
<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>	Acipenseriformes	Acipenseridae	Acipenser	Demersal	230	3.3	CR	Non		Non	Oui
<i>Acipenser naccarii</i>	Acipenseriformes	Acipenseridae	Acipenser	Demersal	200	3.4	CR	Non		Non	Oui
<i>Acipenser nudiventris</i>	Acipenseriformes	Acipenseridae	Acipenser	Demersal	200	3.3	CR	Non		Non	Oui
<i>Acipenser stellatus</i>	Acipenseriformes	Acipenseridae	Acipenser	Demersal	190	3.5	CR	Non		Non	Oui
<i>Acipenser sturio</i>	Acipenseriformes	Acipenseridae	Acipenser	Demersal	300	3.5	CR	Non		Non	Oui
<i>Aetomylaeus bovinus</i>	Rajiformes	Myliobatidae	Aetomylaeus	Benthic	150	3.8	CR	Non		Oui	Non
<i>Aidablennius sphynx</i>	Perciformes	Blenniidae	Aidablennius	Benthic	8	2.8	LC	Non	Non	Oui	Non
<i>Alepes djedaba</i>	Perciformes	Carangidae	Alepes	Pelagic	40	3.3	LC	Oui		Non	Oui
<i>Alopias vulpinus</i>	Lamniformes	Alopiidae	Alopias	Pelagic	760	4.5	VU	Non		Oui	Oui
<i>Alosa alosa</i>	Clupeiformes	Clupeidae	Alosa	Pelagic	70	3	LC	Non		Oui	Oui
<i>Alosa fallax</i>	Clupeiformes	Clupeidae	Alosa	Pelagic	55	4	LC	Non		Oui	Oui
<i>Aluterus monoceros</i>	Tetraodontiformes	Monacanthidae	Aluterus	Demersal	75	3.8	LC	Oui		Non	Oui
<i>Anguilla anguilla</i>	Anguilliformes	Anguillidae	Anguilla	Benthic	150	3.6	CR	Non		Non	Oui
<i>Anthias anthias</i>	Perciformes	Serranidae	Anthias	Benthic	27	3.8	LC	Non		Oui	Non
<i>Aphanius dispar</i>	Cyprinodontiformes	Cyprinodontidae	Aphanius	Demersal	8	2	LC	Oui		Non	Oui
<i>Aphanius fasciatus</i>	Cyprinodontiformes	Cyprinodontidae	Aphanius	Demersal	9	2.7	LC	Non		Non	Oui
<i>Aphanius iberus</i>	Cyprinodontiformes	Cyprinodontidae	Aphanius	Demersal	5	3.4	NA	Non		Non	Oui
<i>Aphia minuta</i>	Perciformes	Gobiidae	Aphia	Pelagic	6	3.1	NA	Non		Non	Oui
<i>Apogon imberbis</i>	Perciformes	Apogonidae	Apogon	Benthic	15	3.8	LC	Non	Non	Oui	Oui
<i>Argyrosomus regius</i>	Perciformes	Sciaenidae	Argyrosomus	Demersal	200	4.3	LC	Non		Oui	Non
<i>Ariosoma balearicum</i>	Anguilliformes	Congridae	Ariosoma	Benthic	50	3.9	LC	Non		Non	Oui
<i>Arnoglossus imperialis</i>	Pleuronectiformes	Bothidae	Arnoglossus	Benthic	25	3.8	LC	Non		Oui	Non
<i>Arnoglossus laterna</i>	Pleuronectiformes	Bothidae	Arnoglossus	Benthic	25	3.6	LC	Non		Oui	Oui

<i>Atherina boyeri</i>	Atheriniformes	Atherinidae	Atherina	Pelagic	13	3.2	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Atherina presbyter</i>	Atheriniformes	Atherinidae	Atherina	Pelagic	20	3.7	LC	Non		Oui	Non
<i>Atherinomorus lacunosus</i>	Atheriniformes	Atherinidae	Atherinomorus	Demersal	14	3.3	NA	Oui		Oui	Oui
<i>Auxis rochei</i>	Perciformes	Scombridae	Auxis	Pelagic	50	4.3	LC	Non		Non	Oui
<i>Balistes capriscus</i>	Tetraodontiformes	Balistidae	Balistes	Benthic	45	4.1	VU	Non	Oui	Oui	Non
<i>Bathytoshia lata</i>	Rajiformes	Dasyatidae	Bathytoshia	Benthic	220	3.8	VU	Non		Non	Oui
<i>Belone belone</i>	Beloniformes	Belonidae	Belone	Pelagic	95	4.2	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Benthoosema glaciale</i>	Myctophiformes	Myctophidae	Benthoosema	Pelagic	10	3	LC	Non		Oui	Oui
<i>Beryx splendens</i>	Beryciformes	Berycidae	Beryx	Demersal	35	4.3	LC	Oui		Oui	Non
<i>Blennius ocellaris</i>	Perciformes	Blenniidae	Blennius	Benthic	20	3.5	LC	Non	Non	Oui	Non
<i>Boops boops</i>	Perciformes	Sparidae	Boops	Demersal	36	2.8	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Bothus podas</i>	Pleuronectiformes	Bothidae	Bothus	Benthic	45	3.4	LC	Non		Oui	Non
<i>Buenia affinis</i>	Perciformes	Gobiidae	Buenia	Benthic	3.2	3.2	LC	Non		Non	Oui
<i>Buglossidium luteum</i>	Pleuronectiformes	Soleidae	Buglossidium	Benthic	16	3.3	LC	Non		Oui	Non
<i>Callionymus lyra</i>	Perciformes	Callionymidae	Callionymus	Benthic	30	3.3	LC	Non		Oui	Oui
<i>Callionymus maculatus</i>	Perciformes	Callionymidae	Callionymus	Benthic	16	3.3	LC	Non		Oui	Oui
<i>Capros aper</i>	Perciformes	Caproidae	Capros	Demersal	16	3.1	LC	Non		Oui	Oui
<i>Caranx crysos</i>	Perciformes	Carangidae	Caranx	Pelagic	70	4.1	LC	Non		Oui	Oui
<i>Caranx hippos</i>	Perciformes	Carangidae	Caranx	Pelagic	100	3.6	LC	Non		Oui	Non
<i>Carcharhinus altimus</i>	Carcharhiniformes	Carcharhinidae	Carcharhinus	Pelagic	300	4.5	NT	Oui		Non	Oui
<i>Carcharhinus brachyurus</i>	Carcharhiniformes	Carcharhinidae	Carcharhinus	Pelagic	325	4.5	VU	Oui		Non	Oui
<i>Carcharhinus brevipinna</i>	Carcharhiniformes	Carcharhinidae	Carcharhinus	Pelagic	325	4.2	VU	Non		Non	Oui
<i>Carcharhinus falciformis</i>	Carcharhiniformes	Carcharhinidae	Carcharhinus	Pelagic	350	4.5	VU	Oui		Oui	Oui
<i>Carcharhinus limbatus</i>	Carcharhiniformes	Carcharhinidae	Carcharhinus	Pelagic	340	4.4	VU	Non		Non	Oui
<i>Carcharhinus melanopterus</i>	Carcharhiniformes	Carcharhinidae	Carcharhinus	Pelagic	200	3.9	VU	Non		Non	Oui
<i>Carcharhinus obscurus</i>	Carcharhiniformes	Carcharhinidae	Carcharhinus	Pelagic	420	4.3	EN	Non		Non	Oui
<i>Carcharhinus plumbeus</i>	Carcharhiniformes	Carcharhinidae	Carcharhinus	Demersal	300	4.5	EN	Non		Oui	Oui
<i>Carcharias taurus</i>	Lamniformes	Odontaspidae	Carcharias	Demersal	320	4.5	CR	Non		Oui	Oui
<i>Carcharodon carcharias</i>	Lamniformes	Lamnidae	Carcharodon	Pelagic	720	4.5	VU	Non		Non	Oui
<i>Carcharodon carcharias</i>	Lamniformes	Lamnidae	Carcharodon	Pelagic	720	4.5	VU	Non		Non	Oui
<i>Centrolabrus exoletus</i>	Perciformes	Labridae	Centrolabrus	Demersal	17	3.5	LC	Oui		Non	Oui
<i>Centrolabrus melanocercus</i>	Perciformes	Labridae	Centrolabrus	Demersal	14	3.2	NA	Non	Non	Oui	Non

<i>Centrophorus granulosus</i>	Squaliformes	Centrophoridae	Centrophorus	Demersal	150	4.1	EN	Non		Non	Oui
<i>Cepola macrophthalma</i>	Perciformes	Cepolidae	Cepola	Benthic	70	3.1	LC	Non		Oui	Non
<i>Ceratoscopelus maderensis</i>	Myctophiformes	Myctophidae	Ceratoscopelus	Pelagic	8	3.1	LC	Non		Oui	Oui
<i>Cetorhinus maximus</i>	Lamniformes	Cetorhinidae	Cetorhinus	Demersal	320	3.2	EN	Non		Oui	Oui
<i>Chauliodus sloani</i>	Stomiiformes	Chauliodontidae	Chauliodus	Pelagic	35	4.2	LC	Non		Oui	Oui
<i>Chaunax pictus</i>	Lophiiformes	Chaunacidae	Chaunax	Demersal	40	4.3	LC	Oui		Non	Oui
<i>Cheilopogon heterurus</i>	Beloniformes	Exocoetidae	Cheilopogon	Pelagic	40	3.4	LC	Non	Non	Oui	Non
<i>Chelidonichthys cuculus</i>	Scorpaeniformes	Triglidae	Chelidonichthys	Benthic	50	3.8	LC	Non		Oui	Non
<i>Chelidonichthys lucerna</i>	Scorpaeniformes	Triglidae	Chelidonichthys	Benthic	75	4	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Chelidonichthys obscurus</i>	Scorpaeniformes	Triglidae	Chelidonichthys	Benthic	40	3.7	LC	Non		Oui	Non
<i>Chelon auratus</i>	Perciformes	Mugilidae	Chelon	Pelagic	55	2.8	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Chelon labrosus</i>	Perciformes	Mugilidae	Chelon	Pelagic	90	2.6	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Chelon ramada</i>	Perciformes	Mugilidae	Chelon	Pelagic	70	2.3	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Chimaera monstrosa</i>	Chimaeriformes	Chimaeridae	Chimaera	Demersal	100	3.5	VU	Non		Oui	Oui
<i>Chlorophthalmus agassizi</i>	Aulopiformes	Chlorophthalmidae	Chlorophthalmus	Demersal	20	3.7	LC	Non		Non	Oui
<i>Chromis chromis</i>	Perciformes	Pomacentridae	Chromis	Demersal	15	3.8	LC	Non	Non	Oui	Oui
<i>Citharus linguatula</i>	Pleuronectiformes	Citharidae	Citharus	Benthic	30	4	LC	Non		Oui	Non
<i>Conger conger</i>	Anguilliformes	Congridae	Conger	Benthic	300	4.3	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Corcyrogobius liechtensteini</i>	Perciformes	Gobiidae	Corcyrogobius	Benthic	3	3.1	LC	Non	Non	Non	Oui
<i>Coris julis</i>	Perciformes	Labridae	Coris	Benthic	28	3.4	LC	Non	Non	Oui	Oui
<i>Coryphaena equiselis</i>	Perciformes	Coryphaenidae	Coryphaena	Pelagic	127	4.5	LC	Non		Non	Oui
<i>Coryphaena hippurus</i>	Perciformes	Coryphaenidae	Coryphaena	Pelagic	200	4.4	LC	Non		Oui	Oui
<i>Crystallogobius linearis</i>	Perciformes	Gobiidae	Crystallogobius	Benthic	4.7	3.4	LC	Non		Non	Oui
<i>Ctenolabrus rupestris</i>	Perciformes	Labridae	Ctenolabrus	Benthic	18	3.6	LC	Non	Non	Non	Oui
<i>Cyclopterus lumpus</i>	Scorpaeniformes	Cyclopteridae	Cyclopterus	Demersal	60	3.9	NA	Oui		Oui	Oui
<i>Cynoponticus ferox</i>	Anguilliformes	Muraenesocidae	Cynoponticus	Benthic	200	3.6	LC	Non		Non	Oui
<i>Dactylopterus volitans</i>	Scorpaeniformes	Dactylopteridae	Dactylopterus	Benthic	55	3.7	LC	Non		Oui	Oui
<i>Dalatias licha</i>	Squaliformes	Dalatiidae	Dalatias	Demersal	180	4.2	VU	Non		Oui	Oui
<i>Dasyatis pastinaca</i>	Rajiformes	Dasyatidae	Dasyatis	Demersal	250	4	VU	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Dasyatis tortonesei</i>	Rajiformes	Dasyatidae	Dasyatis	Benthic	80	4	DD	Non		Non	Oui
<i>Deltentosteus collonianus</i>	Perciformes	Gobiidae	Deltentosteus	Benthic	7	3.6	LC	Non		Non	Oui

<i>Dentex dentex</i>	Perciformes	Sparidae	Dentex	Benthic	100	4.5	VU	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Dentex gibbosus</i>	Perciformes	Sparidae	Dentex	Benthic	100	4.1	LC	Non		Non	Oui
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Perciformes	Moronidae	Dicentrarchus	Demersal	110	3.5	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Dicentrarchus punctatus</i>	Perciformes	Moronidae	Dicentrarchus	Demersal	70	3.9	LC	Non		Oui	Oui
<i>Dicologlossa cuneata</i>	Pleuronectiformes	Soleidae	Dicologlossa	Demersal	30	3.3	LC	Non		Oui	Non
<i>Diodon hystrix</i>	Tetraodontiformes	Diodontidae	Diodon	Demersal	100	3.7	LC	Oui		Non	Oui
<i>Diogenichthys atlanticus</i>	Myctophiformes	Myctophidae	Diogenichthys	Pelagic	3	3.1	LC	Non		Non	Oui
<i>Diplodus annularis</i>	Perciformes	Sparidae	Diplodus	Benthic	25	3.6	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Diplodus cervinus</i>	Perciformes	Sparidae	Diplodus	Benthic	55	3	LC	Non		Oui	Non
<i>Diplodus puntazzo</i>	Perciformes	Sparidae	Diplodus	Benthic	60	3.2	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Diplodus sargus</i>	Perciformes	Sparidae	Diplodus	Benthic	45	3.4	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Diplodus vulgaris</i>	Perciformes	Sparidae	Diplodus	Benthic	45	3.5	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Dussumieria elopsoides</i>	Clupeiformes	Clupeidae	Dussumieria	Pelagic	15	3.4	LC	Oui		Non	Oui
<i>Echelus myrus</i>	Anguilliformes	Ophichthidae	Echelus	Benthic	100	4.3	LC	Non		Non	Oui
<i>Echeneis naucrates</i>	Perciformes	Echeneidae	Echeneis	Pelagic	110	3.7	LC	Non		Oui	Oui
<i>Echiichthys vipera</i>	Perciformes	Trachinidae	Echiichthys	Benthic	16	4.4	NA	Non		Oui	Oui
<i>Encrasicholina punctifer</i>	Clupeiformes	Engraulidae	Encrasicholina	Pelagic	13	3.3	LC	Oui	Oui	Non	Oui
<i>Elagatis bipinnulata</i>	Perciformes	Carangidae	Elagatis	Pelagic	120	4.3	LC	Non		Non	Oui
<i>Engraulis encrasicolus</i>	Perciformes	Engraulidae	Engraulis	Pelagic	20	3.1	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Epigonus denticulatus</i>	Perciformes	Apogonidae	Epigonus	Demersal	20	3.4	LC	Non		Non	Oui
<i>Epinephelus aeneus</i>	Perciformes	Serranidae	Epinephelus	Demersal	130	4	NT	Non		Non	Oui
<i>Epinephelus caninus</i>	Perciformes	Serranidae	Epinephelus	Demersal	160	3.8	DD	Non		Non	Oui
<i>Epinephelus coioides</i>	Perciformes	Serranidae	Epinephelus	Demersal	100	4	LC	Oui		Oui	Oui
<i>Epinephelus fasciatus</i>	Perciformes	Serranidae	Epinephelus	Demersal	140	3.7	LC	Non		Oui	Non
<i>Epinephelus malabaricus</i>	Perciformes	Serranidae	Epinephelus	Demersal	115	4.2	LC	Oui		Oui	Oui
<i>Epinephelus marginatus</i>	Perciformes	Serranidae	Epinephelus	Demersal	150	4.4	VU	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Etmopterus spinax</i>	Squaliformes	Etmopteridae	Etmopterus	Demersal	60	4.1	VU	Non		Oui	Non
<i>Euthynnus alletteratus</i>	Perciformes	Scombridae	Euthynnus	Pelagic	100	4.5	LC	Non	Oui	Non	Oui
<i>Eutrigla gurnardus</i>	Scorpaeniformes	Triglidae	Eutrigla	Benthic	60	3.9	NA	Non		Oui	Oui
<i>Exocoetus volitans</i>	Beloniformes	Exocoetidae	Exocoetus	Pelagic	30	3	LC	Non		Oui	Oui
<i>Fistularia commersonii</i>	Syngnathiformes	Fistulariidae	Fistularia	Demersal	160	4.3	LC	Oui		Oui	Oui
<i>Fistularia petimba</i>	Syngnathiformes	Fistulariidae	Fistularia	Demersal	200	4.4	LC	Oui		Non	Oui

<i>Gadiculus argenteus</i>	Gadiformes	Gadidae	Gadiculus	Benthic	15	3.6	NA	Non		Non	Oui
<i>Gaidropsarus mediterraneus</i>	Gadiformes	Gadidae	Gaidropsarus	Benthic	45	3.5	NA	Non		Oui	Non
<i>Gaidropsarus vulgaris</i>	Gadiformes	Gadidae	Gaidropsarus	Benthic	60	3.5	LC	Non		Oui	Non
<i>Galeocerdo cuvier</i>	Carcharhiniformes	Carcharhinidae	Galeocerdo	Demersal	550	4.5	NT	Oui		Non	Oui
<i>Galeorhinus galeus</i>	Carcharhiniformes	Triakidae	Galeorhinus	Demersal	200	4.3	CR	Non		Oui	Non
<i>Galeus melastomus</i>	Carcharhiniformes	Scyliorhinidae	Galeus	Demersal	90	4.2	LC	Non		Oui	Oui
<i>Gammogobius steinitzi</i>	Perciformes	Gobiidae	Gammogobius	Benthic	4.3	3.2	LC	Non	Non	Non	Oui
<i>Glaucostegus cemiculus</i>	Rajiformes	Rhinobatidae	Glaucostegus	Benthic	200	4	CR	Non		Oui	Oui
<i>Gobius ater</i>	Perciformes	Gobiidae	Gobius	Benthic	7	3.2	LC	Non		Oui	Non
<i>Gobius bucchichi</i>	Perciformes	Gobiidae	Gobius	Benthic	10	3.1	LC	Non	Non	Oui	Oui
<i>Gobius cobitis</i>	Perciformes	Gobiidae	Gobius	Benthic	30	3	NA	Non		Oui	Oui
<i>Gobius cruentatus</i>	Perciformes	Gobiidae	Gobius	Benthic	18	3.4	LC	Non	Non	Oui	Oui
<i>Gobius geniporus</i>	Perciformes	Gobiidae	Gobius	Benthic	16	3.3	LC	Non		Oui	Non
<i>Gobius niger</i>	Perciformes	Gobiidae	Gobius	Benthic	15	3.3	LC	Non	Non	Oui	Oui
<i>Gobius paganellus</i>	Perciformes	Gobiidae	Gobius	Benthic	15	3.3	LC	Non	Non	Non	Oui
<i>Gobius xanthocephalus</i>	Perciformes	Gobiidae	Gobius	Benthic	10	3.1	LC	Non	Non	Non	Oui
<i>Gouania willdenowi</i>	Gobiesociformes	Gobiesocidae	Gouania	Benthic	6	3.2	LC	Non		Non	Oui
<i>Gymnammodytes semisquamatus</i>	Perciformes	Ammodytidae	Gymnamodytes	Demersal	30	2.7	LC	Oui		Oui	Oui
<i>Gymnura altavela</i>	Rajiformes	Gymnuridae	Gymnura	Benthic	400	4.5	EN	Non		Non	Oui
<i>Halobatrachus didactylus</i>	Batrachoidiformes	Batrachoididae	Halobatrachus	Benthic	50	4	LC	Non		Oui	Non
<i>Helicolenus dactylopterus</i>	Scorpaeniformes	Sebastidae	Helicolenus	Benthic	46	3.5	LC	Non		Oui	Oui
<i>Hemiramphus far</i>	Beloniformes	Hemiramphidae	Hemiramphus	Pelagic	44	2.9	NA	Oui		Oui	Oui
<i>Heptranchias perlo</i>	Hexanchiformes	Hexanchiidae	Heptranchias	Demersal	300	4.2	NT	Non		Non	Oui
<i>Hexanchus griseus</i>	Hexanchiformes	Hexanchiidae	Hexanchus	Pelagic	850	4.5	NT	Non		Oui	Oui
<i>Himantura uarnak</i>	Rajiformes	Dasytidae	Himantura	Benthic	150	3.6	EN	Oui		Non	Oui
<i>Hippocampus fuscus</i>	Syngnathiformes	Syngnathidae	Hippocampus	Demersal	15	3.4	NA	Oui		Non	Oui
<i>Hippocampus guttulatus</i>	Syngnathiformes	Syngnathidae	Hippocampus	Benthic	16	3.5	DD	Non		Oui	Non
<i>Hippocampus hippocampus</i>	Syngnathiformes	Syngnathidae	Hippocampus	Benthic	15	3.2	DD	Non		Oui	Oui
<i>Hoplostethus mediterraneus</i>	Beryciformes	Trachichthyidae	Hoplostethus	Demersal	30	3.5	LC	Non		Oui	Non
<i>Huso huso</i>	Acipenseriformes	Acipenseridae	Huso	Demersal	400	4.4	CR	Non		Non	Oui
<i>Hyporthodus haifensis</i>	Perciformes	Serranidae	Hyporthodus	Demersal	110	4	LC	Non		Non	Oui

<i>Istiophorus albicans</i>	Perciformes	Istiophoridae	Istiophorus	Pelagic	315	4.4	NA	Non		Non	Oui
<i>Isurus oxyrinchus</i>	Lamniformes	Lamnidae	Isurus	Pelagic	400	4.5	EN	Non		Non	Oui
<i>Kajikia albida</i>	Perciformes	Istiophoridae	Kajikia	Pelagic	300	4.5	VU	Non		Non	Oui
<i>Katsuwonus pelamis</i>	Perciformes	Scombridae	Katsuwonus	Pelagic	110	4.4	LC	Non		Oui	Oui
<i>Kyphosus sectatrix</i>	Perciformes	Kyphosidae	Kyphosus	Demersal	76	2	LC	Non		Oui	Oui
<i>Labrus merula</i>	Perciformes	Labridae	Labrus	Benthic	50	3.6	LC	Non		Oui	Oui
<i>Labrus mixtus</i>	Perciformes	Labridae	Labrus	Benthic	40	3.9	LC	Non		Oui	Oui
<i>Labrus viridis</i>	Perciformes	Labridae	Labrus	Benthic	50	3.9	VU	Non		Oui	Oui
<i>Lagocephalus lagocephalus</i>	Tetraodontiformes	Tetraodontidae	Lagocephalus	Pelagic	61	3.7	LC	Oui		Oui	Oui
<i>Lagocephalus sceleratus</i>	Tetraodontiformes	Tetraodontidae	Lagocephalus	Benthic	110	3.7	LC	Oui		Non	Oui
<i>Lagocephalus suezensis</i>	Tetraodontiformes	Tetraodontidae	Lagocephalus	Demersal	18	3.5	LC	Oui		Non	Oui
<i>Lampanyctus crocodilus</i>	Myctophiformes	Myctophidae	Lampanyctus	Pelagic	30	3.2	LC	Non		Oui	Oui
<i>Lampris guttatus</i>	Lampridiformes	Lamprididae	Lampris	Pelagic	200	4.2	LC	Non		Non	Oui
<i>Lebetus guilleti</i>	Perciformes	Gobiidae	Lebetus	Benthic	2.5	3.1	LC	Non		Non	Oui
<i>Lepadogaster candolii</i>	Gobiesociformes	Gobiesocidae	Lepadogaster	Benthic	8	2.8	NA	Non		Oui	Non
<i>Lepadogaster lepadogaster</i>	Gobiesociformes	Gobiesocidae	Lepadogaster	Benthic	8	3.3	LC	Non		Oui	Non
<i>Lepidion lepidion</i>	Gadiformes	Moridae	Lepidion	Demersal	30	3.6	LC	Non		Non	Oui
<i>Lepidorhombus boscii</i>	Pleuronectiformes	Scophthalmidae	Lepidorhombus	Benthic	40	3.7	LC	Non		Oui	Non
<i>Lepidorhombus whiffiagonis</i>	Pleuronectiformes	Scophthalmidae	Lepidorhombus	Benthic	60	4.3	LC	Non		Oui	Non
<i>Lepidotrigla dieuzeidei</i>	Scorpaeniformes	Triglidae	Lepidotrigla	Benthic	15	3.7	LC	Non		Oui	Non
<i>Lesueurigobius friesii</i>	Perciformes	Gobiidae	Lesueurigobius	Benthic	10	3.2	LC	Non		Oui	Oui
<i>Lesueurigobius sanzi</i>	Perciformes	Gobiidae	Lesueurigobius	Benthic	9.5	3.6	LC	Oui		Non	Oui
<i>Lesueurigobius suerii</i>	Perciformes	Gobiidae	Lesueurigobius	Benthic	8	3.6	NA	Non		Non	Oui
<i>Leucoraja circularis</i>	Rajiformes	Rajidae	Leucoraja	Benthic	120	3.5	EN	Non		Non	Oui
<i>Leucoraja fullonica</i>	Rajiformes	Rajidae	Leucoraja	Benthic	115	3.5	VU	Non		Non	Oui
<i>Leucoraja naevus</i>	Rajiformes	Rajidae	Leucoraja	Benthic	72	4.2	LC	Non		Oui	Oui
<i>Lipophrys trigloides</i>	Perciformes	Blenniidae	Lipophrys	Benthic	13	4.5	LC	Non	Non	Oui	Non
<i>Lithognathus mormyrus</i>	Perciformes	Sparidae	Lithognathus	Benthic	50	3.4	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Liza carinata</i>	Perciformes	Mugilidae	Liza	Pelagic	30	2.6	NA	Oui		Non	Oui
<i>Lobianchia gemellarii</i>	Myctophiformes	Myctophidae	Lobianchia	Pelagic	6	3	LC	Non		Non	Oui
<i>Lobotes surinamensis</i>	Perciformes	Lobotidae	Lobotes	Demersal	100	4	LC	Non		Oui	Oui
<i>Lophius budegassa</i>	Lophiiformes	Lophiidae	Lophius	Benthic	100	4.4	DD	Non	Oui	Oui	Oui

<i>Lophius piscatorius</i>	Lophiiformes	Lophiidae	Lophius	Benthic	200	4.5	LC	Non		Oui	Oui
<i>Lutjanus argentimaculatus</i>	Perciformes	Lutjanidae	Lutjanus	Demersal	120	3.6	LC	Oui		Oui	Oui
<i>Luvarus imperialis</i>	Perciformes	Luvaridae	Luvarus	Pelagic	200	3.8	LC	Non		Non	Oui
<i>Macroramphosus scolopax</i>	Syngnathiformes	Centriscidae	Macroramphosus	Demersal	22	3.5	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Maurolucus muelleri</i>	Stomiiformes	Sternoptychidae	Maurolucus	Pelagic	8	3	LC	Non		Oui	Non
<i>Merlangius merlangus</i>	Gadiformes	Gadidae	Merlangius	Demersal	75	4.4	LC	Non		Oui	Oui
<i>Merluccius merluccius</i>	Gadiformes	Merlucciidae	Merluccius	Demersal	110	4.4	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Micromesistius poutassou</i>	Gadiformes	Gadidae	Micromesistius	Pelagic	45	4.1	NA	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Millerigobius macrocephalus</i>	Perciformes	Gobiidae	Millerigobius	Benthic	5	3.2	LC	Non	Non	Non	Oui
<i>Mobula mobular</i>	Rajiformes	Mobulidae	Mobula	Pelagic	550	3.7	EN	Non		Oui	Oui
<i>Mola mola</i>	Tetraodontiformes	Molidae	Mola	Pelagic	300	3.7	VU	Non	Non	Oui	Oui
<i>Molva dypterygia</i>	Gadiformes	Gadidae	Molva	Demersal	70	4.5	NA	Non		Non	Oui
<i>Molva molva</i>	Gadiformes	Gadidae	Molva	Demersal	200	4.4	NA	Non		Oui	Non
<i>Mugil cephalus</i>	Perciformes	Mugilidae	Mugil	Pelagic	120	2.5	LC	Non		Non	Oui
<i>Mullus barbatus</i>	Perciformes	Mullidae	Mullus	Benthic	30	3.1	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Mullus surmuletus</i>	Perciformes	Mullidae	Mullus	Benthic	45	3.5	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Muraena helena</i>	Anguilliformes	Muraenidae	Muraena	Benthic	150	4.2	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Muraenesox cinereus</i>	Anguilliformes	Muraenesocidae	Muraenesox	Benthic	200	4.1	LC	Oui		Non	Oui
<i>Mustelus asterias</i>	Carcharhiniformes	Triakidae	Mustelus	Demersal	150	3.6	NT	Non		Oui	Oui
<i>Mustelus mustelus</i>	Carcharhiniformes	Triakidae	Mustelus	Demersal	160	3.8	EN	Non	Oui	Non	Oui
<i>Mycteroperca rubra</i>	Perciformes	Serranidae	Mycteroperca	Demersal	80	4.1	LC	Non		Non	Oui
<i>Myctophum punctatum</i>	Myctophiformes	Myctophidae	Myctophum	Pelagic	11	3.4	LC	Non	Non	Oui	Oui
<i>Myliobatis aquila</i>	Rajiformes	Myliobatidae	Myliobatis	Demersal	180	3.6	CR	Non	Non	Oui	Oui
<i>Nemichthys scolopaceus</i>	Anguilliformes	Nemichthyidae	Nemichthys	Pelagic	130	3.5	LC	Non		Non	Oui
<i>Nemipterus japonicus</i>	Perciformes	Nemipteridae	Nemipterus	Demersal	80	3.8	LC	Oui		Non	Oui
<i>Nerophis maculatus</i>	Syngnathiformes	Syngnathidae	Nerophis	Benthic	30	3.4	DD	Non		Oui	Non
<i>Nerophis ophidion</i>	Syngnathiformes	Syngnathidae	Nerophis	Benthic	30	4	LC	Non		Non	Oui
<i>Nezumia aequalis</i>	Gadiformes	Macrouridae	Nezumia	Demersal	36	3.3	LC	Non		Oui	Non
<i>Notacanthus bonaparte</i>	Albuliformes	Notacanthidae	Notacanthus	Demersal	26	3.9	NA	Non		Non	Oui
<i>Notoscopelus elongatus</i>	Myctophiformes	Myctophidae	Notoscopelus	Pelagic	11	3.4	LC	Non		Non	Oui
<i>Oblada melanura</i>	Perciformes	Sparidae	Oblada	Demersal	30	3.4	LC	Non	Oui	Oui	Non

<i>Odondebuenia balearica</i>	Perciformes	Gobiidae	Odondebuenia	Benthic	3.9	3.1	LC	Non	Non	Non	Oui
<i>Odontaspis ferox</i>	Lamniformes	Odontaspidae	Odontaspis	Demersal	450	4.2	VU	Non		Non	Oui
<i>Oedalechilus labeo</i>	Perciformes	Mugilidae	Oedalechilus	Demersal	25	2.5	NA	Non	Non	Oui	Oui
<i>Ophidion rochei</i>	Ophidiiformes	Ophidiidae	Ophidion	Benthic	30	3.5	DD	Non		Oui	Non
<i>Oxynotus centrina</i>	Squaliformes	Oxynotidae	Oxynotus	Benthic	150	3.1	EN	Non		Oui	Non
<i>Pagellus acarne</i>	Perciformes	Sparidae	Pagellus	Demersal	36	3.8	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Pagellus bogaraveo</i>	Perciformes	Sparidae	Pagellus	Demersal	70	4.2	NT	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Pagellus erythrinus</i>	Perciformes	Sparidae	Pagellus	Demersal	60	3.5	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Pagrus auriga</i>	Perciformes	Sparidae	Pagrus	Demersal	80	3.8	LC	Non		Oui	Oui
<i>Pagrus caeruleostictus</i>	Perciformes	Sparidae	Pagrus	Demersal	90	3.7	LC	Non		Non	Oui
<i>Pagrus major</i>	Perciformes	Sparidae	Pagrus	Demersal	100	3.7	LC	Oui		Non	Oui
<i>Pagrus pagrus</i>	Perciformes	Sparidae	Pagrus	Demersal	80	3.9	LC	Non		Oui	Non
<i>Pampus argenteus</i>	Perciformes	Stromateidae	Pampus	Pelagic	65	3.3	NA	Oui		Non	Oui
<i>Parablennius gattorugine</i>	Perciformes	Blenniidae	Parablennius	Benthic	30	3.6	LC	Non	Non	Oui	Non
<i>Parablennius incognitus</i>	Perciformes	Blenniidae	Parablennius	Benthic	8	2.7	LC	Non	Non	Oui	Non
<i>Parablennius pilicornis</i>	Perciformes	Blenniidae	Parablennius	Benthic	12	3.2	LC	Oui	Non	Oui	Non
<i>Parablennius rouxi</i>	Perciformes	Blenniidae	Parablennius	Benthic	8	3	LC	Non		Oui	Oui
<i>Parablennius sanguinolentus</i>	Perciformes	Blenniidae	Parablennius	Benthic	22	2.1	LC	Non		Oui	Non
<i>Pegusa lascaris</i>	Pleuronectiformes	Soleidae	Pegusa	Benthic	40	3.3	LC	Non		Oui	Non
<i>Pegusa nasuta</i>	Pleuronectiformes	Soleidae	Pegusa	Benthic	40	3.4	NA	Non	Oui	Oui	Non
<i>Pelates quadrilineatus</i>	Perciformes	Terapontidae	Pelates	Demersal	12	3.5	NA	Oui		Non	Oui
<i>Phycis blennoides</i>	Gadiformes	Gadidae	Phycis	Demersal	110	3.7	NA	Non		Oui	Non
<i>Platax teira</i>	Perciformes	Ephippidae	Platax	Benthic	70	4	LC	Oui		Oui	Oui
<i>Platycephalus indicus</i>	Scorpaeniformes	Platycephalidae	Platycephalus	Benthic	100	3.6	DD	Oui		Non	Oui
<i>Pleuronectes platessa</i>	Pleuronectiformes	Pleuronectidae	Pleuronectes	Benthic	100	3.2	LC	Non		Oui	Oui
<i>Plotosus lineatus</i>	Siluriformes	Plotosidae	Plotosus	Benthic	32	3.6	NA	Oui		Oui	Oui
<i>Polyprion americanus</i>	Perciformes	Polyprionidae	Polyprion	Demersal	200	4.1	DD	Non		Non	Oui
<i>Pomadasys incisus</i>	Perciformes	Haemulidae	Pomadasys	Demersal	50	3.8	LC	Non		Oui	Non
<i>Pomatomus saltatrix</i>	Perciformes	Pomatomidae	Pomatomus	Pelagic	120	4.5	VU	Non	Oui	Non	Oui
<i>Pomatoschistus knerii</i>	Perciformes	Gobiidae	Pomatoschistus	Benthic	4	3.3	LC	Non		Non	Oui
<i>Pomatoschistus marmoratus</i>	Perciformes	Gobiidae	Pomatoschistus	Benthic	6.5	3.4	LC	Non		Non	Oui

<i>Pomatoschistus microps</i>	Perciformes	Gobiidae	Pomatoschistus	Benthic	7	3.3	LC	Non		Non	Oui
<i>Pomatoschistus minutus</i>	Perciformes	Gobiidae	Pomatoschistus	Benthic	9.5	3.2	LC	Non		Oui	Oui
<i>Priacanthus hamrur</i>	Perciformes	Priacanthidae	Priacanthus	Demersal	40	3.6	LC	Oui		Oui	Non
<i>Prionace glauca</i>	Carcharhiniformes	Carcharhinidae	Prionace	Pelagic	385	4.4	NT	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Pristis pectinata</i>	Pristiformes	Pristidae	Pristis	Demersal	760	4.5	CR	Oui		Non	Oui
<i>Pristis pristis</i>	Pristiformes	Pristidae	Pristis	Benthic	500	4	CR	Non		Non	Oui
<i>Psenes pellucidus</i>	Perciformes	Nomeidae	Psenes	Pelagic	90	3.9	LC	Oui		Non	Oui
<i>Pseudaphya ferreri</i>	Perciformes	Gobiidae	Pseudaphya	Demersal	3.5	3.1	LC	Non	Non	Non	Oui
<i>Pseudocaranx dentex</i>	Perciformes	Carangidae	Pseudocaranx	Pelagic	100	3.9	LC	Non		Oui	Non
<i>Pterois miles</i>	Scorpaeniformes	Scorpaenidae	Pterois	Benthic	35	3.7	LC	Oui		Oui	Oui
<i>Pteroplatytrigon violacea</i>	Rajiformes	Dasyatidae	Pteroplatytrigon	Pelagic	90	4.4	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Rachycentron canadum</i>	Perciformes	Rachycentridae	Rachycentron	Pelagic	200	4	LC	Oui		Non	Oui
<i>Raja asterias</i>	Rajiformes	Rajidae	Raja	Benthic	75	3.5	NT	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Raja brachyura</i>	Rajiformes	Rajidae	Raja	Demersal	120	3.7	NT	Non	Non	Non	Oui
<i>Raja clavata</i>	Rajiformes	Rajidae	Raja	Benthic	115	3.8	NT	Non		Oui	Oui
<i>Raja miraletus</i>	Rajiformes	Rajidae	Raja	Benthic	60	3.8	LC	Non		Non	Oui
<i>Raja montagui</i>	Rajiformes	Rajidae	Raja	Benthic	100	3.9	LC	Non		Non	Oui
<i>Raja polystigma</i>	Rajiformes	Rajidae	Raja	Benthic	60	4	LC	Non		Non	Oui
<i>Raja undulata</i>	Rajiformes	Rajidae	Raja	Demersal	100	3.5	EN	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Ranzania laevis</i>	Tetraodontiformes	Molidae	Ranzania	Pelagic	80	3.7	LC	Non		Non	Oui
<i>Rastrelliger kanagurta</i>	Perciformes	Scombridae	Utrelliger	Pelagic	38	3.2	DD	Oui		Oui	Oui
<i>Regalecus glesne</i>	Lampridiformes	Regalecidae	Regalecus	Pelagic	1100	3.2	LC	Non		Non	Oui
<i>Remora brachyptera</i>	Perciformes	Echeneidae	Remora	Pelagic	40	3.3	LC	Non		Non	Oui
<i>Remora osteochir</i>	Perciformes	Echeneidae	Remora	Pelagic	45	3.5	LC	Non		Non	Oui
<i>Remora remora</i>	Perciformes	Echeneidae	Remora	Pelagic	86	3.5	LC	Non		Non	Oui
<i>Rhinoptera marginata</i>	Rajiformes	Rhinopteridae	Rhinoptera	Demersal	200	3.8	CR	Non		Oui	Non
<i>Rhizoprionodon acutus</i>	Carcharhiniformes	Carcharhinidae	Rhizoprionodon	Demersal	180	4.3	VU	Oui		Non	Oui
<i>Rostroraja alba</i>	Rajiformes	Rajidae	Rostroraja	Benthic	200	4.4	EN	Non		Non	Oui
<i>Ruvettus pretiosus</i>	Perciformes	Gempylidae	Ruvettus	Demersal	200	4.2	LC	Non		Non	Oui
<i>Salaria pavo</i>	Perciformes	Blenniidae	Salaria	Benthic	13	3.6	LC	Non	Non	Oui	Non
<i>Sarda sarda</i>	Perciformes	Scombridae	Sarda	Pelagic	95	4.5	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Sardina pilchardus</i>	Clupeiformes	Clupeidae	Sardina	Pelagic	25	3.1	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Sardinella aurita</i>	Clupeiformes	Clupeidae	Sardinella	Pelagic	33	3.4	LC	Non	Oui	Oui	Oui

<i>Sardinella maderensis</i>	Clupeiformes	Clupeidae	Sardinella	Pelagic	30	3.2	VU	Non		Non	Oui
<i>Sargocentron rubrum</i>	Beryciformes	Holocentridae	Sargocentron	Demersal	27	3.6	LC	Oui		Non	Oui
<i>Sarpa salpa</i>	Perciformes	Sparidae	Sarpa	Demersal	50	2	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Saurida undosquamis</i>	Aulopiformes	Synodontidae	Saurida	Benthic	50	4.5	LC	Oui		Oui	Oui
<i>Scarus ghobban</i>	Perciformes	Scaridae	Scarus	Benthic	75	2	LC	Oui		Oui	Oui
<i>Schedophilus medusophagus</i>	Perciformes	Centrolophidae	Schedophilus	Pelagic	50	4	LC	Non		Non	Oui
<i>Sciaena umbra</i>	Perciformes	Sciaenidae	Sciaena	Benthic	55	3.8	NT	Non	Oui	Oui	Non
<i>Scomber japonicus</i>	Perciformes	Scombridae	Scomber	Pelagic	50	3.4	LC	Non		Non	Oui
<i>Scomber scombrus</i>	Perciformes	Scombridae	Scomber	Pelagic	50	3.6	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Scomberomorus commerson</i>	Perciformes	Scombridae	Scomberomorus	Pelagic	220	4.5	NT	Oui		Oui	Non
<i>Scophthalmus maximus</i>	Pleuronectiformes	Scophthalmidae	Scophthalmus	Benthic	110	4.4	LC	Non		Oui	Oui
<i>Scophthalmus rhombus</i>	Pleuronectiformes	Scophthalmidae	Scophthalmus	Benthic	100	4.4	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Scorpaena elongata</i>	Scorpaeniformes	Scorpaenidae	Scorpaena	Benthic	55	3.9	LC	Non		Oui	Non
<i>Scorpaena notata</i>	Scorpaeniformes	Scorpaenidae	Scorpaena	Benthic	20	3.7	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Scorpaena porcus</i>	Scorpaeniformes	Scorpaenidae	Scorpaena	Benthic	30	3.9	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Scorpaena scrofa</i>	Scorpaeniformes	Scorpaenidae	Scorpaena	Benthic	50	4.3	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Scyliorhinus canicula</i>	Carcharhiniformes	Scyliorhinidae	Scyliorhinus	Benthic	100	3.8	LC	Non		Oui	Oui
<i>Scyliorhinus stellaris</i>	Carcharhiniformes	Scyliorhinidae	Scyliorhinus	Benthic	190	4	VU	Non		Oui	Non
<i>Seriola dumerili</i>	Perciformes	Carangidae	Seriola	Pelagic	190	4.5	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Seriola rivoliana</i>	Perciformes	Carangidae	Seriola	Pelagic	120	4.5	LC	Oui		Oui	Oui
<i>Serranus atricauda</i>	Perciformes	Serranidae	Serranus	Demersal	30	4.3	DD	Oui		Non	Oui
<i>Serranus cabrilla</i>	Perciformes	Serranidae	Serranus	Benthic	40	3.4	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Serranus hepatus</i>	Perciformes	Serranidae	Serranus	Benthic	25	3.5	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Serranus scriba</i>	Perciformes	Serranidae	Serranus	Benthic	36	3.8	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Siganus luridus</i>	Perciformes	Siganidae	Siganus	Demersal	25	2	LC	Oui		Oui	Non
<i>Siganus rivulatus</i>	Perciformes	Siganidae	Siganus	Demersal	30	2	LC	Oui		Oui	Non
<i>Sillago sihama</i>	Perciformes	Sillaginidae	Sillago	Demersal	25	3.3	LC	Oui		Non	Oui
<i>Solea senegalensis</i>	Pleuronectiformes	Soleidae	Solea	Demersal	60	3.3	DD	Oui		Oui	Oui
<i>Solea solea</i>	Pleuronectiformes	Soleidae	Solea	Benthic	70	3.2	DD	Non		Oui	Oui
<i>Sparisoma cretense</i>	Perciformes	Scaridae	Sparisoma	Benthic	50	2.9	LC	Non		Oui	Non
<i>Sparus aurata</i>	Perciformes	Sparidae	Sparus	Demersal	70	3.7	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Speleogobius trigloides</i>	Perciformes	Gobiidae	Speleogobius	Benthic	2.3	3	LC	Non		Non	Oui

<i>Sphoeroides pachygaster</i>	Tetraodontiformes	Tetraodontidae	Sphoeroides	Demersal	25	4.2	LC	Oui		Non	Oui
<i>Sphoeroides spengleri</i>	Tetraodontiformes	Tetraodontidae	Sphoeroides	Benthic	30	3.3	LC	Oui		Oui	Non
<i>Sphyaena flavicauda</i>	Perciformes	Sphyaenidae	Sphyaena	Demersal	60	3.8	NA	Oui		Oui	Non
<i>Sphyaena sphyaena</i>	Perciformes	Sphyaenidae	Sphyaena	Pelagic	165	4	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Sphyaena viridensis</i>	Perciformes	Sphyaenidae	Sphyaena	Pelagic	165	4.3	LC	Non		Oui	Non
<i>Sphyrna lewini</i>	Carcharhiniformes	Sphyrnidae	Sphyrna	Pelagic	430	4.1	CR	Non		Non	Oui
<i>Sphyrna mokarran</i>	Carcharhiniformes	Sphyrnidae	Sphyrna	Pelagic	610	4.3	CR	Oui		Non	Oui
<i>Sphyrna tudes</i>	Carcharhiniformes	Sphyrnidae	Sphyrna	Pelagic	150	3.6	CR	Non		Non	Oui
<i>Sphyrna zygaena</i>	Carcharhiniformes	Sphyrnidae	Sphyrna	Pelagic	420	4.9	VU	Non		Non	Oui
<i>Spicara flexuosa</i>	Perciformes	Centracanthidae	Spicara	Demersal	22	NA	NA	Non	Oui	Oui	Non
<i>Spicara maena</i>	Perciformes	Centracanthidae	Spicara	Demersal	26	4.2	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Spicara smaris</i>	Perciformes	Centracanthidae	Spicara	Pelagic	22	3	LC	Non		Oui	Non
<i>Spondyliosoma cantharus</i>	Perciformes	Sparidae	Spondyliosoma	Demersal	70	3.3	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Spratelloides delicatulus</i>	Clupeiformes	Clupeidae	Spratelloides	Pelagic	7	3.1	LC	Oui		Non	Oui
<i>Sprattus sprattus</i>	Clupeiformes	Clupeidae	Sprattus	Pelagic	18	3	LC	Non		Oui	Non
<i>Squalus acanthias</i>	Squaliformes	Squalidae	Squalus	Demersal	160	4.4	VU	Non		Non	Oui
<i>Squalus blainville</i>	Squaliformes	Squalidae	Squalus	Demersal	110	4	DD	Non		Oui	Oui
<i>Squatina squatina</i>	Squatiniiformes	Squatinae	Squatina	Benthic	250	4.1	CR	Non		Oui	Oui
<i>Symphodus bailloni</i>	Perciformes	Labridae	Symphodus	Demersal	20	3.3	LC	Non	Non	Oui	Non
<i>Symphodus cinereus</i>	Perciformes	Labridae	Symphodus	Benthic	12	3.5	LC	Non		Oui	Oui
<i>Symphodus mediterraneus</i>	Perciformes	Labridae	Symphodus	Demersal	18	3.2	LC	Non		Oui	Oui
<i>Symphodus melops</i>	Perciformes	Labridae	Symphodus	Benthic	25	3.4	LC	Non		Oui	Non
<i>Symphodus ocellatus</i>	Perciformes	Labridae	Symphodus	Benthic	12	3.5	LC	Non	Non	Oui	Oui
<i>Symphodus roissali</i>	Perciformes	Labridae	Symphodus	Benthic	17	3.5	LC	Non		Oui	Oui
<i>Symphodus rostratus</i>	Perciformes	Labridae	Symphodus	Benthic	13	3.5	LC	Non		Oui	Non
<i>Symphodus tinca</i>	Perciformes	Labridae	Symphodus	Benthic	35	3.3	LC	Non	Non	Oui	Oui
<i>Synagrops japonicus</i>	Perciformes	Acropomatidae	Synagrops	Demersal	35	4.3	LC	Oui		Non	Oui
<i>Synchiropus phaeton</i>	Perciformes	Callionymidae	Synchiropus	Benthic	18	3.4	LC	Non		Oui	Non
<i>Syngnathus abaster</i>	Syngnathiformes	Syngnathidae	Syngnathus	Benthic	21	3.2	LC	Non		Oui	Oui
<i>Syngnathus acus</i>	Syngnathiformes	Syngnathidae	Syngnathus	Benthic	46	3.3	LC	Non		Oui	Oui
<i>Syngnathus rostellatus</i>	Syngnathiformes	Syngnathidae	Syngnathus	Demersal	17	3.7	LC	Oui		Non	Oui
<i>Syngnathus taenionotus</i>	Syngnathiformes	Syngnathidae	Syngnathus	Demersal	25	3.4	DD	Non		Non	Oui

<i>Syngnathus tenuirostris</i>	Syngnathiformes	Syngnathidae	Syngnathus	Benthic	39	3.4	DD	Non		Non	Oui
<i>Syngnathus typhle</i>	Syngnathiformes	Syngnathidae	Syngnathus	Benthic	35	4.3	LC	Non		Oui	Oui
<i>Synodus saurus</i>	Aulopiformes	Synodontidae	Synodus	Benthic	43	4.5	LC	Non	Non	Oui	Non
<i>Taurulus bubalis</i>	Scorpaeniformes	Cottidae	Taurulus	Benthic	20	3.6	LC	Non		Non	Oui
<i>Terapon puta</i>	Perciformes	Teraponidae	Terapon	Demersal	15	3.1	NA	Oui		Non	Oui
<i>Terapon theraps</i>	Perciformes	Teraponidae	Terapon	Demersal	30	3.5	LC	Oui		Oui	Oui
<i>Tetragonurus cuvieri</i>	Perciformes	Tetragonuridae	Tetragonurus	Pelagic	70	3.8	LC	Non		Non	Oui
<i>Tetrapturus belone</i>	Perciformes	Istiophoridae	Tetrapturus	Pelagic	240	4.5	LC	Non		Non	Oui
<i>Tetrapturus georgii</i>	Perciformes	Istiophoridae	Tetrapturus	Pelagic	200	4.4	DD	Oui		Non	Oui
<i>Thalassoma pavo</i>	Perciformes	Labridae	Thalassoma	Benthic	25	3.5	LC	Non	Non	Oui	Non
<i>Thorogobius ephippiatus</i>	Perciformes	Gobiidae	Thorogobius	Benthic	13	3	LC	Non		Non	Oui
<i>Thunnus alalunga</i>	Perciformes	Scombridae	Thunnus	Pelagic	130	4.3	LC	Non		Non	Oui
<i>Thunnus thynnus</i>	Perciformes	Scombridae	Thunnus	Pelagic	320	4.5	LC	Non		Oui	Oui
<i>Torpedo marmorata</i>	Torpediniformes	Torpedinidae	Torpedo	Benthic	100	4.5	VU	Non	Non	Oui	Oui
<i>Trachinotus ovatus</i>	Perciformes	Carangidae	Trachinotus	Pelagic	70	3.7	LC	Non		Oui	Oui
<i>Trachinus araneus</i>	Perciformes	Trachinidae	Trachinus	Benthic	50	4	LC	Non		Oui	Non
<i>Trachinus draco</i>	Perciformes	Trachinidae	Trachinus	Benthic	40	4.2	LC	Non		Oui	Oui
<i>Trachinus radiatus</i>	Perciformes	Trachinidae	Trachinus	Benthic	50	4	LC	Non		Oui	Non
<i>Trachipterus trachipterus</i>	Lampridiformes	Trachipteridae	Trachipterus	Pelagic	300	4.5	LC	Non		Non	Oui
<i>Trachurus mediterraneus</i>	Perciformes	Carangidae	Trachurus	Pelagic	60	3.8	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Trachurus picturatus</i>	Perciformes	Carangidae	Trachurus	Pelagic	60	3.3	LC	Non		Oui	Non
<i>Trachurus trachurus</i>	Perciformes	Carangidae	Trachurus	Pelagic	50	3.7	VU	Non		Oui	Oui
<i>Trichiurus lepturus</i>	Perciformes	Trichiuridae	Trichiurus	Pelagic	150	4.4	LC	Non		Oui	Oui
<i>Trigla lyra</i>	Scorpaeniformes	Triglidae	Trigla	Benthic	75	3.7	LC	Non		Oui	Non
<i>Tripterygion delaisi</i>	Perciformes	Tripterygiidae	Tripterygion	Benthic	9	3.4	LC	Non	Non	Oui	Oui
<i>Tripterygion melanurum</i>	Perciformes	Tripterygiidae	Tripterygion	Benthic	5.3	3.5	LC	Non	Non	Non	Oui
<i>Tripterygion tripteronotum</i>	Perciformes	Tripterygiidae	Tripterygion	Benthic	8	3.4	LC	Non	Non	Oui	Oui
<i>Trisopterus capellanus</i>	Gadiformes	Gadidae	Trisopterus	Demersal	NA	3.7	LC	Non	Oui	Oui	Non
<i>Trisopterus luscus</i>	Gadiformes	Gadidae	Trisopterus	Demersal	45	3.7	NA	Non		Oui	Oui
<i>Trisopterus minutus</i>	Gadiformes	Gadidae	Trisopterus	Demersal	40	3.7	NA	Non		Oui	Non
<i>Umbrina canariensis</i>	Perciformes	Sciaenidae	Umbrina	Demersal	80	3.4	LC	Oui		Oui	Non
<i>Umbrina cirrosa</i>	Perciformes	Sciaenidae	Umbrina	Demersal	100	3.4	VU	Non		Oui	Non

eREF : État de référence de la biodiversité en vertébrés dans les masses d'eaux côtières méditerranéennes à partir d'ADN environnemental

<i>Uranoscopus scaber</i>	Perciformes	Uranoscopidae	Uranoscopus	Benthic	35	4.4	LC	Non	Non	Oui	Non
<i>Vanneaugobius pruvoti</i>	Perciformes	Gobiidae	Vanneaugobius	Benthic	3.9	3.1	LC	Non		Non	Oui
<i>Xiphias gladius</i>	Perciformes	Xiphiidae	Xiphias	Pelagic	450	4.5	LC	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Xyrichtys novacula</i>	Perciformes	Labridae	Xyrichtys	Demersal	50	3.5	LC	Non		Oui	Oui
<i>Zebrus zebrus</i>	Perciformes	Gobiidae	Zebrus	Benthic	6.5	3.2	LC	Non	Non	Non	Oui
<i>Zeus faber</i>	Zeiformes	Zeidae	Zeus	Demersal	70	4.5	DD	Non		Non	Oui
<i>Zosterisessor ophiocephalus</i>	Perciformes	Gobiidae	Zosterisessor	Benthic	25	3.2	NA	Non	Oui	Oui	Oui
<i>Zu cristatus</i>	Lampridiformes	Trachipteridae	Zu	Pelagic	100	4.5	LC	Non		Non	Oui

Annexe 2 : exemple de fichier à utiliser pour télécharger une liste d'espèces dans l'outil « signaler » du projet PISCIS sur Medtrix.

<i>Aidablennius sphyinx</i>
<i>Aphia minuta</i>
<i>Apogon imberbis</i>
<i>Auxis sp.</i>
<i>Belone belone</i>
<i>Blennius ocellaris</i>
<i>Boops boops</i>
<i>Buenia affinis</i>
<i>Cepola macrophthalma</i>
<i>Ceratoscopelus maderensis</i>
<i>Cheilopogon heterurus</i>
<i>Chelon labrosus</i>
<i>Chelon ramada</i>
<i>Chlorophthalmus agassizi</i>
<i>Chromis chromis</i>

Annexe 3 : liste complète des 109 espèces détectées sur l'ensemble des 15 échantillons de banyuls-sur-mer dans le cadre de l'amélioration des paramètres d'échantillonnage (IV.E.1) Les espèces surlignées en rouge sont celles listées VU, EN ou CR sur la liste rouge des espèces menacées de l'IUCN.

Espèce	Ordre	Famille	Genre	Statut IUCN	Distribution verticale	Niveau trophique	Echantillons (/15)
<i>Aetomylaeus bovinus</i>	Rajiformes	Myliobatidae	Aetomylaeus	CR	Benthique	3.8	3
<i>Aidablennius sphyinx</i>	Perciformes	Blenniidae	Aidablennius	LC	Benthique	2.8	4
<i>Anthias anthias</i>	Perciformes	Serranidae	Anthias	LC	Benthique	3.8	13
<i>Aphia minuta</i>	Perciformes	Gobiidae	Aphia	-	Pelagique	3.1	1
<i>Apogon imberbis</i>	Perciformes	Apogonidae	Apogon	LC	Benthique	3.8	7
<i>Auxis rochei</i>	Perciformes	Scombridae	Auxis	LC	Pelagique	4.3	1
<i>Balistes capriscus</i>	Tetraodontiformes	Balistidae	Balistes	VU	Benthique	4.1	1
<i>Belone belone</i>	Beloniformes	Belonidae	Belone	LC	Pelagique	4.2	6
<i>Boops boops</i>	Perciformes	Sparidae	Boops	LC	Demersal	2.8	15
<i>Buenia affinis</i>	Perciformes	Gobiidae	Buenia	LC	Benthique	3.2	7
<i>Centrolabrus melanocercus</i>	Perciformes	Labridae	Centrolabrus	-	Demersal	3.2	2
<i>Cheilopogon heterurus</i>	Beloniformes	Exocoetidae	Cheilopogon	LC	Pelagique	3.4	4
<i>Chelon auratus</i>	Perciformes	Mugilidae	Chelon	LC	Pelagique	2.8	6
<i>Chelon labrosus</i>	Perciformes	Mugilidae	Chelon	LC	Pelagique	2.6	13
<i>Chelon ramada</i>	Perciformes	Mugilidae	Chelon	LC	Pelagique	2.3	2
<i>Chromis chromis</i>	Perciformes	Pomacentridae	Chromis	LC	Demersal	3.8	15
<i>Conger conger</i>	Anguilliformes	Congridae	Conger	LC	Benthique	4.3	7
<i>Coris julis</i>	Perciformes	Labridae	Coris	LC	Benthique	3.4	15
<i>Ctenolabrus rupestris</i>	Perciformes	Labridae	Ctenolabrus	LC	Benthique	3.6	5
<i>Dasyatis marmorata</i>	Rajiformes	Dasyatidae	Dasyatis	DD	Demersal	3.6	11
<i>Dasyatis pastinaca</i>	Rajiformes	Dasyatidae	Dasyatis	VU	Demersal	4	6
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Perciformes	Moronidae	Dicentrarchus	LC	Demersal	3.5	11
<i>Diplodus annularis</i>	Perciformes	Sparidae	Diplodus	LC	Benthique	3.6	14
<i>Diplodus cervinus</i>	Perciformes	Sparidae	Diplodus	LC	Benthique	3	10
<i>Diplodus puntazzo</i>	Perciformes	Sparidae	Diplodus	LC	Benthique	3.2	15
<i>Diplodus sargus</i>	Perciformes	Sparidae	Diplodus	LC	Benthique	3.4	15
<i>Diplodus vulgaris</i>	Perciformes	Sparidae	Diplodus	LC	Benthique	3.5	15
<i>Engraulis encrasicolus</i>	Perciformes	Engraulidae	Engraulis	LC	Pelagique	3.1	4
<i>Engraulis sp.</i>	Perciformes	Engraulidae	Engraulis	LC	Pelagique	3.1	15
<i>Epinephelus marginatus</i>	Perciformes	Serranidae	Epinephelus	VU	Demersal	4.4	13
<i>Gaidropsarus mediterraneus</i>	Gadiformes	Gadidae	Gaidropsarus	-	Benthique	3.5	3
<i>Gammogobius steinitzi</i>	Perciformes	Gobiidae	Gammogobius	LC	Benthique	3.2	1

<i>Gobius ater</i>	Perciformes	Gobiidae	Gobius	LC	Benthique	3.2	7
<i>Gobius bucchichi</i>	Perciformes	Gobiidae	Gobius	LC	Benthique	3.1	9
<i>Gobius cobitis</i>	Perciformes	Gobiidae	Gobius	-	Benthique	3	1
<i>Gobius cruentatus</i>	Perciformes	Gobiidae	Gobius	LC	Benthique	3.4	2
<i>Gobius geniporus</i>	Perciformes	Gobiidae	Gobius	LC	Benthique	3.3	3
<i>Gobius niger</i>	Perciformes	Gobiidae	Gobius	LC	Benthique	3.3	3
<i>Gobius xanthocephalus</i>	Perciformes	Gobiidae	Gobius	LC	Benthique	3.1	12
<i>Istiophorus albicans</i>	Perciformes	Istiophoridae	Istiophorus	-	Pelagique	4.4	13
<i>Labrus sp.</i>	Perciformes	Labridae	Labrus	-	Benthique	3.8	14
<i>Lepadogaster candolii</i>	Gobiesociformes	Gobiesocidae	Lepadogaster	-	Benthique	2.8	13
<i>Lepadogaster lepadogaster</i>	Gobiesociformes	Gobiesocidae	Lepadogaster	LC	Benthique	3.3	5
<i>Lesueurigobius suerii</i>	Perciformes	Gobiidae	Leusueurigobius	-	Benthique	3.6	4
<i>Lipophrys trigloides</i>	Perciformes	Blenniidae	Lipophrys	LC	Benthique	4.5	10
<i>Lithognathus mormyrus</i>	Perciformes	Sparidae	Lithognathus	LC	Benthique	3.4	7
<i>Liza carinata</i>	Perciformes	Mugilidae	Liza	-	Pelagique	2.6	1
<i>Merlangius merlangus</i>	Gadiformes	Gadidae	Merlangius	LC	Demersal	4.4	2
<i>Millerigobius macrocephalus</i>	Perciformes	Gobiidae	Millerigobius	LC	Benthique	3.2	1
<i>Mola mola</i>	Tetraodontiformes	Molidae	Mola	VU	Pelagique	3.7	9
<i>Mugil cephalus</i>	Perciformes	Mugilidae	Mugil	LC	Pelagique	2.5	1
<i>Mullus barbatus</i>	Perciformes	Mullidae	Mullus	LC	Benthique	3.1	11
<i>Mullus surmuletus</i>	Perciformes	Mullidae	Mullus	LC	Benthique	3.5	14
<i>Muraena helena</i>	Anguilliformes	Muraenidae	Muraena	LC	Benthique	4.2	12
<i>Myliobatis aquila</i>	Rajiformes	Myliobatidae	Myliobatis	CR	Demersal	3.6	8
<i>Oblada melanura</i>	Perciformes	Sparidae	Oblada	LC	Demersal	3.4	14
<i>Odondebuena balearica</i>	Perciformes	Gobiidae	Odondebuena	LC	Benthique	3.1	1
<i>Oedalechilus labeo</i>	Perciformes	Mugilidae	Oedalechilus	-	Demersal	2.5	8
<i>Pagellus acarne</i>	Perciformes	Sparidae	Pagellus	LC	Demersal	3.8	5
<i>Pagellus bogaraveo</i>	Perciformes	Sparidae	Pagellus	NT	Demersal	4.2	1
<i>Pagellus erythrinus</i>	Perciformes	Sparidae	Pagellus	LC	Demersal	3.5	12
<i>Parablennius gattorugine</i>	Perciformes	Blenniidae	Parablennius	LC	Benthique	3.6	12
<i>Parablennius incognitus</i>	Perciformes	Blenniidae	Parablennius	LC	Benthique	2.7	12
<i>Parablennius pilicornis</i>	Perciformes	Blenniidae	Parablennius	LC	Benthique	3.2	10
<i>Parablennius rouxi</i>	Perciformes	Blenniidae	Parablennius	LC	Benthique	3	10
<i>Parablennius sp.</i>	Perciformes	Blenniidae	Parablennius	LC	Benthique	2.95	3
<i>Pegusa nasuta</i>	Pleuronectiformes	Soleidae	Pegusa	-	Benthique	3.4	1

<i>Pomatomus saltatrix</i>	Perciformes	Pomatomidae	Pomatomus	VU	Pelagique	4.5	3
<i>Pseudaphya ferreri</i>	Perciformes	Gobiidae	Pseudaphya	LC	Demersal	3.1	6
<i>Pteroplatytrygon violacea</i>	Rajiformes	Dasyatidae	Pteroplatytrygon	LC	Pelagique	4.4	2
<i>Raja brachyura</i>	Rajiformes	Rajidae	Raja	NT	Demersal	3.7	3
<i>Raja sp.</i>	Rajiformes	Rajidae	Raja	NT	Benthique	3.65	1
<i>Sarda sarda</i>	Perciformes	Scombridae	Sarda	LC	Pelagique	4.5	1
<i>Sardina pilchardus</i>	Clupeiformes	Clupeidae	Sardi-	LC	Pelagique	3.1	15
<i>Sardinella aurita</i>	Clupeiformes	Clupeidae	Sardinella	LC	Pelagique	3.4	11
<i>Sarpa salpa</i>	Perciformes	Sparidae	Sarpa	LC	Demersal	2	15
<i>Sciaena umbra</i>	Perciformes	Sciaenidae	Sciae-	NT	Benthique	3.8	14
<i>Scomber colias</i>	Perciformes	Scombridae	Scomber	LC	Pelagique	3.9	3
<i>Scorpaena notata</i>	Scorpaeniformes	Scorpaenidae	Scorpa-	LC	Benthique	3.7	8
<i>Scorpaena porcus</i>	Scorpaeniformes	Scorpaenidae	Scorpa-	LC	Benthique	3.9	9
<i>Scorpaena scrofa</i>	Scorpaeniformes	Scorpaenidae	Scorpa-	LC	Benthique	4.3	8
<i>Scorpaena sp.</i>	Scorpaeniformes	Scorpaenidae	Scorpa-	LC	Benthique	3.9	1
<i>Seriola dumerili</i>	Perciformes	Carangidae	Seriola	LC	Pelagique	4.5	8
<i>Serranus cabrilla</i>	Perciformes	Serranidae	Serranus	LC	Benthique	3.4	13
<i>Serranus hepatus</i>	Perciformes	Serranidae	Serranus	LC	Benthique	3.5	4
<i>Serranus scriba</i>	Perciformes	Serranidae	Serranus	LC	Benthique	3.8	14
<i>Solea senegalensis</i>	Pleuronectiformes	Soleidae	Solea	DD	Demersal	3.3	1
Sparidae	-	-	-	-	-	-	12
<i>Sparus aurata</i>	Perciformes	Sparidae	Sparus	LC	Demersal	3.7	15
<i>Sphyaena sphyaena</i>	Perciformes	Sphyaenidae	Sphya-	LC	Pelagique	4	2
<i>Sphyaena viridensis</i>	Perciformes	Sphyaenidae	Sphya-	LC	Pelagique	4.3	9
<i>Spicara sp.</i>	Perciformes	Centracanthidae	Spicara	LC	-	3.6	13
<i>Spondyliosoma cantharus</i>	Perciformes	Sparidae	Spondyliosoma	LC	Demersal	3.3	13
<i>Sprattus sprattus</i>	Clupeiformes	Clupeidae	Sprattus	LC	Pelagique	3	2
<i>Symphodus bailloni</i>	Perciformes	Labridae	Symphodus	LC	Demersal	3.3	2
<i>Symphodus ocellatus</i>	Perciformes	Labridae	Symphodus	LC	Benthique	3.5	11
<i>Symphodus sp.</i>	Perciformes	Labridae	Symphodus	LC	Benthique	3.4	13
<i>Symphodus tinca</i>	Perciformes	Labridae	Symphodus	LC	Benthique	3.3	14
<i>Syngnathus sp.</i>	Syng-thiformes	Syng-thidae	Syng-thus	DD	Demersal	3.5	2
<i>Synodus saurus</i>	Aulopiformes	Synodontidae	Synodus	LC	Benthique	4.5	1
<i>Thunnus thynnus</i>	Perciformes	Scombridae	Thunnus	LC	Pelagique	4.5	2
<i>Torpedo marmorata</i>	Torpediniformes	Torpedinidae	Torpedo	VU	Benthique	4.5	5
<i>Trachinus draco</i>	Perciformes	Trachinidae	Trachinus	LC	Benthique	4.2	2

<i>Trachurus sp.</i>	Perciformes	Carangidae	Trachurus	-	Pelagique	3.6	13
<i>Tripterygion delaisi</i>	Perciformes	Tripterygiidae	Tripterygion	LC	Benthique	3.4	13
<i>Tripterygion melanurum</i>	Perciformes	Tripterygiidae	Tripterygion	LC	Benthique	3.5	12
<i>Tripterygion tripteronotum</i>	Perciformes	Tripterygiidae	Tripterygion	LC	Benthique	3.4	11
<i>Uranoscopus scaber</i>	Perciformes	Uranoscopidae	Uranoscopus	LC	Benthique	4.4	10
<i>Zebrus zebrus</i>	Perciformes	Gobiidae	Zebrus	LC	Benthique	3.2	7

Annexe 4 : première page du communiqué de presse paru en mai 2020



Lancement d'une étude sur la biodiversité marine du littoral méditerranéen suite à l'arrêt des activités humaines.

Depuis Avril 2020, l'équipe d'[Andromède Océanologie](#) a débuté une nouvelle mission scientifique en Méditerranée. Ce projet, d'une durée de deux ans, permettra de référencer et d'étudier, grâce à des prélèvements d'ADN environnemental (ADNe) et à des mesures bioacoustiques, l'état de référence de la biodiversité dans les eaux côtières de la Méditerranée française.

Cette étude, réunissant biologistes marins et universitaires, est menée par [Andromède Océanologie](#), [l'agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse](#), le laboratoire [Spygen](#), la société [Chorus](#), l'[UMR MARBEC](#) et l'[Université de Montpellier](#).

Le printemps 2020 offre des conditions exceptionnelles en lien avec la pandémie du coronavirus (covid-19) et au confinement de la population. La fréquentation humaine du littoral est à un niveau minimum car les activités touristiques et sportives sont interdites, et l'activité de pêche, notamment artisanale, est fortement réduite. Cette situation sans précédent permettra d'établir les références d'indicateurs sur les sites anthropisés (ports et points forts identifiés dans le réseau [IMPACT](#)), les aires marines protégées (AMPs) et la zone mésophotique (50-100 m). Les valeurs de ces indicateurs seront comparées à celles des années 2018 et 2019 pour lesquelles des suivis en ADNe sur ce littoral méditerranéen avaient été réalisés, notamment dans le cadre de [l'expédition scientifique Gombessa 5](#).

