



HAL
open science

De l'ADN environnemental jusqu'aux plans de conservation pour les poissons côtiers méditerranéens

Agnès Duhamet

► **To cite this version:**

Agnès Duhamet. De l'ADN environnemental jusqu'aux plans de conservation pour les poissons côtiers méditerranéens. Biodiversité et Ecologie. Université de Montpellier, 2023. Français. NNT : 2023UMONG031 . tel-04620246

HAL Id: tel-04620246

<https://theses.hal.science/tel-04620246>

Submitted on 21 Jun 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Ecologie fonctionnelle

École doctorale Gaïa

Unités de recherche UMR MARBEC et CEFE

De l'ADN environnemental jusqu'aux plans de conservation pour les poissons côtiers méditerranéens

Présentée par Agnès DUHAMET
Le 12 Décembre 2023

Sous la direction de David MOUILLOT et Stéphanie MANEL

Devant le jury composé de

Didier AURELLE, Maître de conférences, Aix Marseille Université, Institut Méditerranéen d'Océanologie

Naiara RODRIGUEZ-EZPELETA, Chargée de recherche, AZTI, Marine research division

Christine MEYNARD, Directrice de recherche, INRAE, UMR CBGP

Rémy SIMIDE, Chercheur, Institut Océanographique Paul Ricard

David MOUILLOT, Professeur des universités, Université de Montpellier, UMR MARBEC

Stéphanie MANEL, Directrice d'études EPHE, CEFE

Rapporteur

Rapporteuse

Présidente du jury

Examineur

Directeur de thèse

Co-directrice de thèse



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER

Résumé

Les communautés de poissons marins, essentielles au bon fonctionnement des écosystèmes, sont de plus en plus menacées par les pressions humaines : surpêche, dégradation des habitats, pollutions et changement climatique. Dans ce contexte, des réserves marines sont mises en place pour tenter de les protéger. Afin de mieux orienter la protection des espèces, notamment les plus vulnérables, il faut mieux connaître leur répartition spatiale et bathymétrique, mais aussi leur niveau de coexistence avec les pressions humaines. L'obtention de ces données est difficile avec les outils classiques tels que la plongée, cantonnée aux zones superficielles ou la pêche qui reste destructive et sélective sur les espèces. En alternative, le *metabarcoding* de l'ADN environnemental (ADNe), permet une meilleure détection des espèces, même les plus rares ou les plus furtives, et semble particulièrement adapté aux communautés des zones mésophotiques (30-150 mètres de profondeur) qui restent mal connues car relativement inaccessibles. Cette méthode consiste à collecter et amplifier l'ADN laissé par les organismes dans leur environnement, puis à l'assigner à des espèces connues par comparaison aux séquences d'une base de référence génétique. Dans quelle mesure un échantillonnage de l'ADNe le long de gradients spatiaux, bathymétriques et anthropiques va-t-il pouvoir alimenter des modèles prédictifs d'occurrence des espèces et renseigner des plans de conservation pour la biodiversité ichtyologique côtière ? Telle est la question centrale de la thèse.

Le **premier chapitre** synthétise les connaissances actuelles sur la répartition spatiale et bathymétrique des poissons marins à l'échelle mondiale, ainsi que la disponibilité des séquences dans les bases de référence génétiques publiques. Seules 19% des 11 786 espèces marines étudiées sont couvertes par le marqueur *teleo* couramment utilisé pour la détection des poissons. De ce fait, les possibilités d'utilisation des données ADNe restent limitées, car 81% des espèces ne peuvent pas être identifiées. De plus, les espèces ne vivant qu'au-delà de 30m de profondeur sont moins couvertes par les bases de référence.

Le **deuxième chapitre** présente une modélisation visant à évaluer et comparer les effets relatifs des réserves et du confinement sur les probabilités d'occurrence de 87 espèces de poissons. Pour cela, un important travail de séquençage des espèces a été réalisé pour compléter la base de référence des espèces présentes en mer Méditerranée française. Au

cours des campagnes d'échantillonnage d'ADNe menées entre 2018 et 2022, des échantillons ont été récoltés à l'intérieur et à l'extérieur de 11 réserves marines où la pêche est interdite, dont 160 pendant le confinement du printemps 2020 lié à l'épidémie de COVID-19. Les résultats montrent une augmentation de la probabilité d'occurrence dans les réserves pour 59% des espèces. La probabilité d'occurrence a augmenté lors du confinement pour 62% des espèces. La réponse à l'effet des réserves et du confinement est différente en fonction des espèces, suggérant que la mise en place de grandes réserves avec moins de présence humaine, en sus des réserves actuelles, sont nécessaires pour protéger l'ensemble de la biodiversité ichthyologique.

Le **troisième chapitre** présente des modèles de distribution d'espèces prenant en compte les co-occurrences et les habitats côtiers méditerranéens. À partir de la distribution estimée de 120 espèces, des zones à protéger en priorité le long des côtes méditerranéennes françaises ont pu être identifiées pour atteindre les 30% de couverture en AMP préconisée d'ici 2030 et optimiser la conservation de la biodiversité ichthyologique.

Dans cette thèse, le couplage entre les données issues du *metabarcoding* de l'ADNe et la modélisation a permis de décrire la répartition spatiale et bathymétrique des espèces, évaluer l'efficacité des mesures de protection et informer les futurs plans de conservation.

Mots-clés : *Biodiversité marine, Réserves marines, Mer Méditerranée, ADNe, Metabarcoding, Mésophotique, Confinement*

Abstract

Marine fish communities, which are essential to the proper functioning of ecosystems, are under increasing threat from human pressures: overfishing, habitat degradation, pollutions and climate change. In this context, marine reserves are set up to try to protect them. In order to better guide the protection of species, particularly the most vulnerable, we need to know their spatial and bathymetric distribution, but also their level of coexistence with human pressures. Obtaining this data is difficult with conventional tools such as diving, which is limited to superficial areas, or fishing, which is destructive and selective for species. Alternatively, the metabarcoding of environmental DNA (eDNA) allows better detection of species, even the rarest or most elusive ones, and seems particularly suited to study communities in mesophotic zones (30-150 meters deep) which remain poorly known because of their relative inaccessibility. This method consists of collecting and amplifying the DNA left by organisms in their environment, then assigning it to known species by comparison with sequences in a genetic reference database. To what extent will eDNA sampling along spatial, bathymetric and anthropogenic gradients be able to feed predictive models of species occurrence and inform conservation plans for coastal ichthyological biodiversity? This is the central question of the thesis.

The **first chapter** summarizes current knowledge of the spatial and bathymetric distribution of marine fish at the global scale, as well as the availability of sequences in the public genetic reference databases. Only 19% of the 11,786 marine species studied are covered by the *teleo* marker commonly used for fish detection. As a result, the possibilities for using eDNA data remain limited, as 81% of species cannot be identified. In addition, species living only at depths greater than 30m are less well covered by reference databases.

The **second chapter** presents modeling aimed at evaluating and comparing the relative effects of reserves and lockdown on the probabilities of occurrence of 87 fish species. To do this, a major species sequencing project was carried out to complete the reference database of species present in the French Mediterranean Sea. During the eDNA sampling campaigns carried out between 2018 and 2022, samples were collected inside and outside 11 marine reserves where fishing is banned, including 160 during the spring 2020 lockdown period linked to the COVID-19 epidemic. The results show an increase in the probability of occurrence in

reserves for 59% of species. The probability of occurrence increased during lockdown for 62% of species. The response to the effect of reserves and lockdown is different depending on the species, suggesting that the establishment of large reserves with less human presence, in addition to current reserves, are necessary to protect all species.

The **third chapter** presents species distribution models considering co-occurrences and Mediterranean coastal habitats. Based on the estimated distribution of 120 species, priority areas for conservation along the French Mediterranean coast have been identified to achieve the recommended 30% MPA coverage by 2030 and optimize the conservation of ichthyological biodiversity.

In this thesis, the combination of data from eDNA metabarcoding and modeling was used to describe the spatial and bathymetric distribution of species, assess the effectiveness of protection measures and inform future conservation plans.

Keywords: *Marine Biodiversity, Marine Reserves, Mediterranean Sea, eDNA, Metabarcoding, Mesophotic, Lockdown*

A mes parents

« J'avais appris que la patience était une vertu suprême, la plus élégante et la plus oubliée. Elle aidait à aimer le monde avant de prétendre à le transformer. »

Sylvain Tesson (la panthère des neiges).

Remerciements

Je souhaite remercier les membres de mon jury Naiara Rodríguez-Ezpeleta, Didier Aurelle, Christine Meynard et Rémy Simide pour avoir accepté d'évaluer ce travail de thèse.

Je remercie mes directeurs de thèse David Mouillot et Stéphanie Manel. Merci David pour ton enthousiasme à toute épreuve et pour toutes les discussions scientifiques captivantes que nous avons eues. Tes commentaires positifs sur mon travail m'ont permis d'avoir plus confiance en moi et tes conseils et ton esprit critique à améliorer mes travaux de recherche. Merci Stéphanie de m'avoir ouvert les portes du CEFE et pour ta réactivité. J'ai énormément appris au cours de ces 3 années de thèse.

Un grand merci à Régis Hocdé avec qui j'ai eu la chance de réaliser les missions aux Calanques de Marseille. Merci pour le partage de ton expérience sur les expéditions scientifiques. Je souhaite remercier l'ensemble des membres de la mission Calanques et notamment Dorian qui m'a tant raconté ses missions de plongeur scientifique que je n'ai jamais eu le temps de m'ennuyer sur le bateau en attendant le retour des plongeurs. Je garde d'excellents souvenirs de ces moments en mer. L'archipel du Riou est un lieu magnifique.

Merci à l'équipe BEV du CEFE pour l'ambiance de travail toujours très agréable. Merci Maurine, Julia, Jeanne R., Letizia, Laetitia M., Morgane, Dimitri, Bastien, Manon, Nadia, Mathieu B., Andrea et Lisa. C'est une immense chance que j'ai eu de vous avoir rencontré. J'ai passé tellement de bons moments avec vous ! Maurine et Julia vous avez toujours été là pour m'aider à me relever dans les moments les plus difficiles de ma thèse, je vous en suis infiniment reconnaissante. Si j'ai réussi à soutenir cette thèse c'est en partie grâce à vous !

Je souhaite bien sûr remercier l'équipe de Marbec. Merci Nicolas M., Cyril, Nacho, Jeanne N., Marine, Ulysse, Amandine, Rémy, Jean-Baptiste, Simon, Alaia, Cléa, Adrien, Raphaël, Camille M., Gaël, Kévin, Adèle, Loïc, Anaëlle et Valentine. Merci pour la bonne ambiance pendant les repas de midi et les pauses goûter !

Merci au service de culture scientifique de l'Université de m'avoir permis de travailler sur le projet de médiation scientifique LitterNature pendant 2 ans. Merci à Thierry Brassac de m'avoir donné l'opportunité de travailler sur ce projet. Merci Laetitia L. et Fabio. J'ai adoré

travailler avec vous au cours de ma première année de thèse. Et vous êtes devenus de supers amis ! Merci à l'équipe de la deuxième année du projet LitterNature Mathieu P., Agathe et Lucas. Merci Mathieu P. pour le partage de tes grandes connaissances naturalistes !

Merci beaucoup Pierre-Edouard de m'avoir donné les bases de la bioinformatique au début de ma thèse avec toujours beaucoup de pédagogie et de bonne humeur. Merci Alicia, Virginie, Camille A., et Nicolas L.. J'ai beaucoup apprécié collaborer avec vous et vous m'avez beaucoup appris. Merci Erwan D. pour tes conseils et ton enthousiasme lorsque j'ai présenté mes résultats sur l'effet du confinement et des réserves marines sur les poissons de Méditerranée.

Merci beaucoup Fanny T., Chloé, Erwan H., Fanny L. et Marie pour votre écoute et votre soutien quand je vous racontais mes joies et galères de thèse. Notre promo du Master Darwin était trop chouette. Merci aussi à mes amies Noémie, Azalée, Opaline, Célia et Mathilde.

Enfin je souhaite remercier ma formidable famille. Merci maman et papa d'avoir toujours été là pour me soutenir et m'encourager tout au long de mes études. Et merci pour m'avoir transmis la passion de la nature et des sciences. Si j'ai réussi à réaliser cette thèse c'est en grande partie grâce à vous. Merci aussi mamie, Marc, Ruxandra, Vincent, Penny et Mikaël, d'avoir toujours été là pour moi et pour tous les supers moments que nous passons en famille.

Table des matières

Introduction générale	1
1) Une biodiversité menacée.....	3
a) La biodiversité des poissons marins.....	3
b) Les menaces pesant sur la biodiversité marine	4
c) Les écosystèmes marins profonds	9
d) Les Conséquences.....	9
2) Les Protections des écosystèmes marins.....	11
a) Les mesures de protection	11
b) La Répartition des aires marines protégées.....	12
c) Les bénéfices des aires marines protégées	13
d) Les Limites de la protection dans les réserves marines.....	14
3) La mer Méditerranée.....	15
a) Les pressions anthropiques en mer Méditerranée	15
b) Les aires marines protégées en Méditerranée	16
4) Inventorier les communautés de poissons : un véritable défi	18
a) Les techniques conventionnelles.....	18
b) Les limites des techniques conventionnelles.....	19
c) Le metabarcoding de l'ADN environnemental	21
5) Enjeux et objectifs de la thèse	25
Chapitre 1 – Méthodes	29
1) Sites d'échantillonnage de l'ADNe	31
2) Méthode d'échantillonnage de l'ADNe	31
3) Missions d'échantillonnage	33
a) Calanques de Marseille	33
b) Réserve de Banyuls-Cerbère	35
4) Metabarcoding des échantillons d'ADNe	36
5) Analyses bio-informatiques	37
6) Base de référence.....	38
7) Analyses de données.....	39
Chapitre 2 - Répartition bathymétrique et spatiale des espèces de poissons à l'échelle mondiale et disponibilité des séquences dans les bases génétiques publiques pour le metabarcoding de l'ADNe	41

Préface	43
Manuscrit A	44
Chapitre 3 - Influence relative des réserves marines et du confinement Covid-19 sur la probabilité d'occurrence des espèces de poissons le long des côtes méditerranéennes françaises	63
Préface	65
Manuscrit B	66
Chapitre 4 - Utilisation du metabarcoding de l'ADNe pour estimer la distribution des espèces de poissons et déterminer des zones d'intérêt pour les futurs plans de conservation le long des côtes Méditerranéennes françaises	107
Préface	109
Manuscrit C	111
Discussion générale	149
1) Synthèse	151
a) Base de référence génétique	151
b) Distribution spatiale et bathymétrie des espèces	152
c) Aires marines protégées.....	154
d) Impacts humains	155
2) Limites.....	157
a) Informations sur les individus	157
b) Evaluation de l'abondance	157
c) Résolution taxonomique	158
d) Echantillonnage	159
3) Perspectives.....	160
a) Metabarcoding de l'ADNe.....	160
b) Suivis temporels de la biodiversité	162
c) Evaluation des programmes de protection de la biodiversité marine	163
d) Génétique des populations.....	164
e) Approches pluridisciplinaires	165
4) Conclusion	166
Références.....	167

Introduction générale

1) Une biodiversité menacée

a) La biodiversité des poissons marins

Avec plus de 30 000 espèces, les poissons représentent le groupe le plus diversifié des vertébrés (Costello et al., 2015). Leur biomasse totale est estimée à 0,7 Gigatonnes (Bar-On et al., 2018), ce qui équivaut à près d'un tiers de la biomasse animale. Ils sont répartis en 2 classes principales : Les Actinoptérygiens (poissons osseux à nageoires rayonnées) et les Chondrichthyens (poissons cartilagineux dont font partie les requins, les raies et les chimères). Dans le milieu marin, 17 490 espèces d'Actinoptérygiens et 1 298 espèces de Chondrichthyens ont été recensées (WoRMS, 2022) et de nombreuses autres espèces restent encore à découvrir (Appeltans et al., 2012).

Les poissons marins présentent non seulement une importante richesse taxonomique mais aussi une grande diversité de traits d'histoire de vie, de comportements et de régimes alimentaires. Ils sont présents dans la quasi-totalité des environnements marins, de l'équateur jusqu'aux pôles et des milieux côtiers jusqu'aux abysses (Nelson et al., 2016). Ils jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et le bon fonctionnement des écosystèmes marins en contribuant aux cycles des nutriments, au réseau trophique, et, pour certaines espèces, en jouant le rôle d'ingénieur des écosystèmes (Villéger et al., 2017) (*Figure 1.1.*).

En plus de leur rôle écologique primordial, ils revêtent une importance particulière pour les sociétés humaines (*Figure 1.1.*) en assurant la sécurité alimentaire de nombreux pays insulaires et côtiers (Charlton et al., 2016; Taylor et al., 2019). Environ 80 millions de tonnes de poissons seraient pêchées chaque année (FAO, 2022). Ils fournissent également d'autres services écosystémiques comme, par exemple, la séquestration du carbone par les océans (Mariani et al., 2020). De plus, la présence de certaines espèces peut favoriser l'activité économique touristique (plongée, snorkeling) dans certaines régions (González-Mantilla et al., 2022).

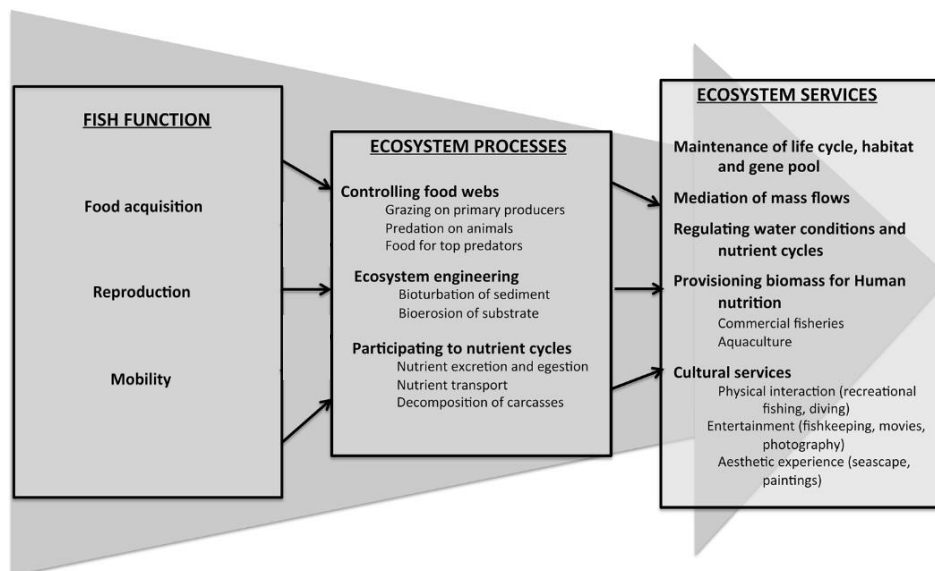


Figure 1.1. Liste non exhaustive des traits fonctionnels des poissons, des processus écosystémiques dans lesquels ils sont impliqués, et des services écosystémiques qu'ils rendent. Figure adaptée de Villéger et al. (2017)

Cependant, les communautés de poissons subissent un fort déclin dû, directement ou indirectement, aux activités humaines (Christensen et al., 2014).

b) Les menaces pesant sur la biodiversité marine

La surpêche constitue la principale menace pesant sur la biodiversité marine, suivie de la dégradation des habitats, des pollutions et du changement climatique (Luypaert et al., 2020).

1. La surpêche

La pêche en milieu marin est pratiquée depuis des milliers d'années par l'Homme mais cette activité n'avait que peu d'impact sur les écosystèmes. Ce n'est qu'à partir du siècle dernier que la pêche s'est industrialisée, conduisant à un important déclin de la biodiversité marine (McCauley et al., 2015). Aujourd'hui, autour d'un tiers des stocks de pêche (c'est-à-dire la partie exploitable d'une population de poissons) est surexploité (FAO, 2022).

Les raies et les requins sont particulièrement impactés par la pêche (Dulvy et al., 2021). Leur croissance lente, l'âge tardif à la première reproduction et le faible taux de reproduction les rendent particulièrement vulnérables (Worm et al., 2013). 37% des espèces de Chondrichthyens sont classées comme menacées dans la liste rouge de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN) en 2023 et certaines espèces se sont même éteintes localement. C'est le cas des poissons-scies (famille des *Pristidae*), une des familles de poissons les plus menacées, dont plusieurs espèces ont subi des extinctions locales dues, en grande partie, à la pêche (Yan et al., 2021) (Figure 1.2.).

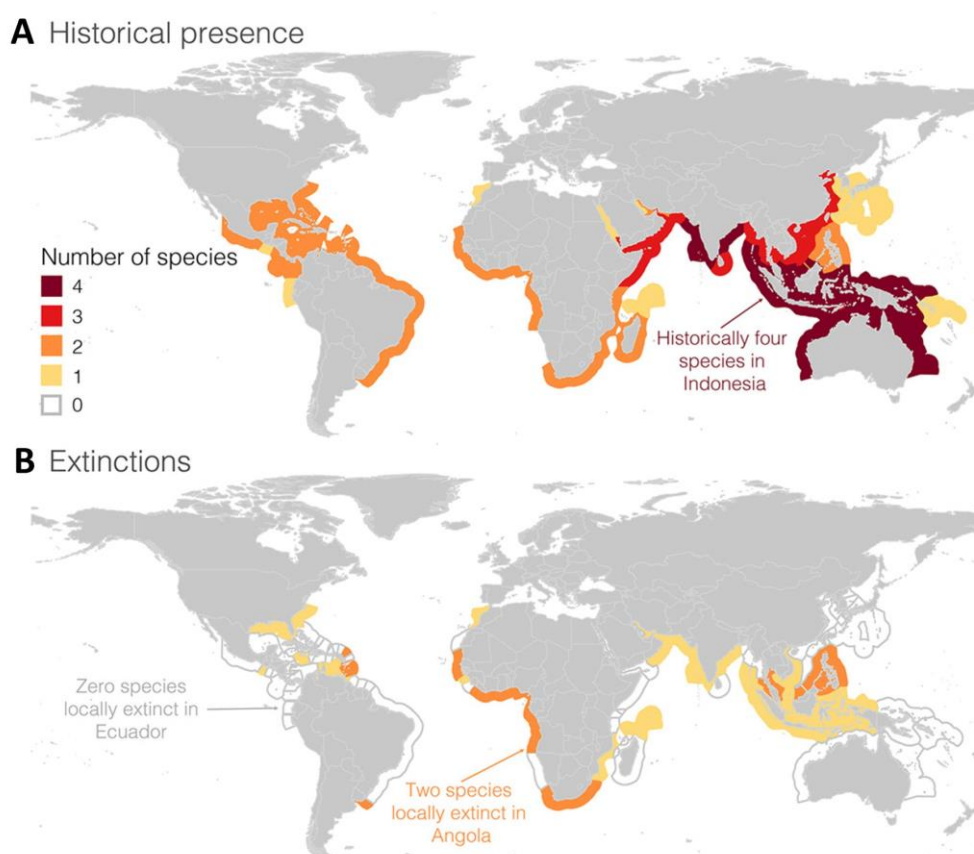


Figure 1.2. A) Distribution historique de la richesse en espèces de poissons-scies le long des côtes de 90 pays. B) Nombre d'espèces de poissons-scies s'étant éteintes le long des côtes de chaque pays. Figure extraite de Yan et al. (2021)

Les poissons osseux ne sont pas non plus épargnés (Palomares et al., 2020). A titre d'exemple, la biomasse de thons et maquereaux (famille des *Scombridae*), espèces hautement ciblées par la pêche, a diminué de moitié en seulement 50 ans (Juan-Jordá et al., 2011) (Figure 1.3.).

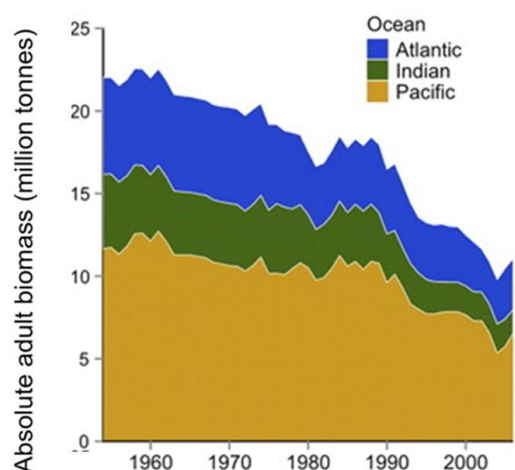


Figure 1.3. Evolution de la biomasse de 26 populations (11 espèces) de Thons et Maquereaux dans les océans Atlantique, Indien et Pacifique depuis 1954. Figure extraite de Juan-Jordá et al. (2011)

Certains types de pêche industriel tel que les chaluts de fond ont un impact environnemental extrêmement lourd puisqu'ils induisent la destruction des habitats en raclant les fonds marins (Das, 2018). De nombreuses techniques de pêche, telles que le chalutage, la senne, les filets dérivants et la palangre, ne sont pas assez sélectives et engendrent des prises accessoires (capture d'espèces non consommées, parfois classées comme vulnérables) (Pérez Roda et al., 2019).

2. De multiples pressions anthropiques

En plus de la pêche, la faune marine est affectée par de nombreuses autres pressions anthropiques. Les habitats marins côtiers sont menacés par le développement des villes côtières (Lai et al., 2015). Les ancres de bateaux abîment les herbiers et les récifs coralliens (Dapueto et al., 2022; Rani et al., 2020).

Les récifs coralliens, l'un des écosystèmes abritant la plus grande richesse spécifique au monde, sont grandement menacés par le réchauffement et l'acidification des océans (Hoegh-Guldberg, 2011). Le réchauffement global des océans engendre une modification de la distribution des espèces. Les espèces ont tendance à migrer de l'équateur vers les pôles

(Chaudhary et al., 2021) et certaines tendraient à descendre à plus grande profondeur (Chaikin et al., 2022).

Des composés tels que les plastiques, les pesticides, l'azote et le phosphore, issus des activités humaines comme l'agriculture, polluent les océans. Les pesticides et les microplastiques s'accumulent le long de la chaîne trophique et peuvent affecter le comportement, le développement ainsi que les fonctions reproductives et immunitaires des poissons (Brodie et al., 2012; Hodkovicova et al., 2022). L'azote et le phosphore favorisent la prolifération d'algues, ce qui déséquilibre les écosystèmes (Monteil et al., 2020; Wang et al., 2018).

Depuis la révolution industrielle, l'océan devient de plus en plus bruyant. Les sources de bruits sont diverses : trafic maritime, sonars ou encore construction d'infrastructures (*Figure 1.4.B*). Cette anthrophonie (sons produits par les activités humaines) a un fort impact sur la faune marine ; sur les cétacés mais aussi sur les poissons (*Figure 1.4.A*) (Duarte et al., 2021). Elle peut affecter le comportement, gêner la communication intraspécifique, affecter les processus physiologiques et augmenter le taux de mortalité (Buscaino et al., 2016; Di Franco et al., 2020; Duarte et al., 2021) (*Figure 1.4.C et D*). A titre d'exemples, il a été montré que sous l'effet du bruit engendré par les bateaux à moteurs, le poisson Demoiselle ambon *Pomacentrus amboinensis* détecte moins facilement ses prédateurs (Simpson et al., 2016), la nage des individus des bancs de Thon rouge de l'Atlantique *Thunnus thynnus* est moins bien synchronisée (Sarà et al., 2007) et les Corbs *Sciaena umbra* ont tendance à se cacher plus souvent comme ils le feraient à l'arrivée d'un prédateur (La Manna et al., 2016).

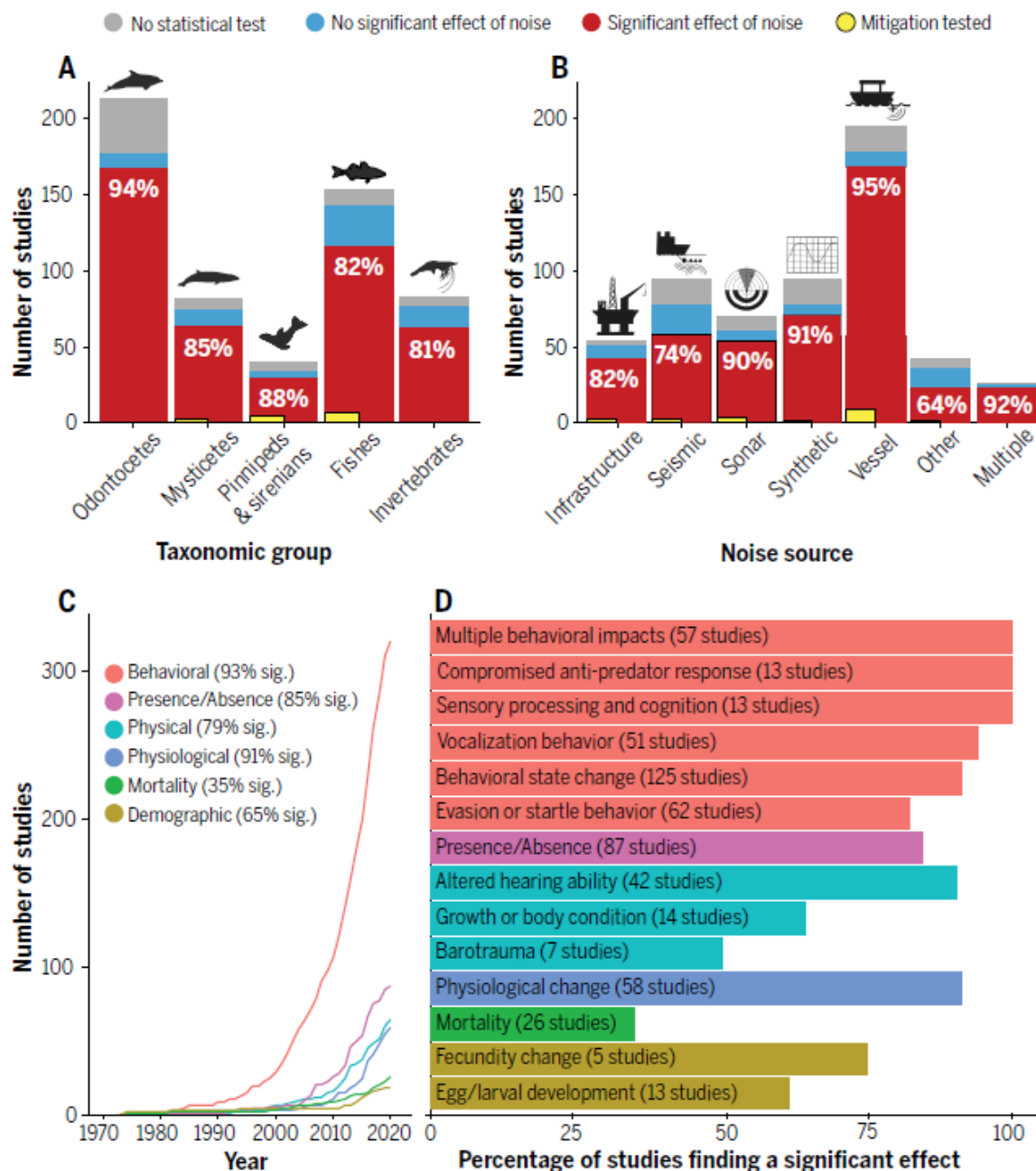


Figure 1.4. Synthèse (issue d'une revue systématique de la littérature) des impacts négatifs de la pollution sonore sur la faune marine. Nombre total d'études trouvées, par (A) taxons et par (B) source de bruit. Les couleurs indiquent si un impact significatif a été trouvé (rouge), l'impact n'est pas significatif (bleu) ou si aucun test statistique n'a été réalisé (gris). Les barres jaunes indiquent le nombre d'études qui testent les effets des moyens mis en place pour atténuer le bruit telles que les rideaux de bulles et la modification des types de moteurs. Les chiffres blancs indiquent le pourcentage d'études avec un test statistique qui trouvent un effet significatif du bruit. (C) Nombre d'études cumulées portant sur différents types d'effets des nuisances sonores sur la faune marine. (D) Pourcentage d'études dans chaque sous-catégorie qui ont trouvé un effet significatif du bruit. Figure extraite de Duarte et al. (2021).

c) Les écosystèmes marins profonds

Les écosystèmes de la zone mésophotique, situés entre 30 et 150 mètres de profondeur, sont considérés comme des zones refuges pour les espèces lors des vagues de chaleurs (Chaikin et al., 2022; Giraldo-Ospina et al., 2020) ou pour les espèces subissant de fortes pressions de pêche à faible profondeur (Lindfield et al., 2015). Cependant, la capacité de ces zones à constituer des refuges reste limitée étant donné que toutes les espèces vivant à faible profondeur ne sont pas capables d'y vivre. C'est par exemple le cas des espèces herbivores, qui, du fait de leur régime alimentaire, dépendent des écosystèmes peu profonds (Cure et al., 2021). Les communautés vivant dans les zones mésophotiques sont très différentes de celles vivant dans les 30 premiers mètres de profondeur (Loiseau et al., 2023; Rocha et al., 2018). De plus, la zone mésophotique n'est pas non plus indemne des impacts des activités humaines (pêche, exploitation minière, arrivée d'espèces invasives par exemple) (Rocha et al., 2018; Soares et al., 2019).

Les écosystèmes marins profonds (>200 m de profondeur), malgré leur apparente inaccessibilité, sont aussi de plus en plus menacés par les activités humaines telles que les exploitations minières, les extractions d'hydrocarbures et la pêche en eaux profondes (Danovaro et al., 2020). Les espèces de poissons vivant dans les zones profondes ont généralement une croissance lente, une grande durée de vie, un âge de maturité plus tardif et une fécondité plus faible, ce qui les rend particulièrement vulnérables (Drazen & Haedrich, 2012; Norse et al., 2012).

Les pressions humaines sont très étendues géographiquement (Halpern et al., 2019) et aussi présentes dans la quasi-totalité des gammes de profondeur.

d) Les Conséquences

La diminution des tailles de populations de poissons et les extinctions locales perturbent les réseaux trophiques (McCauley et al., 2015). Le déclin des grands prédateurs océaniques entraîne un phénomène en cascade affectant les niveaux trophiques plus faibles,

ce qui impacte l'équilibre de l'ensemble de l'écosystème. Par exemple, la diminution des populations de plusieurs espèces de grands requins se nourrissant de raies a induit une augmentation de la population de la raie Mourine américaine (*Rhinoptera bonasus*). L'augmentation de l'abondance de cette raie a entraîné le déclin de la Pétoncle (*Argopecten irradians*), l'une de ses proies bivalves (Myers et al., 2007). La diminution d'abondance des espèces de bas niveaux trophiques telles que les anchois (famille des *Engraulidae*) et les sardines (*Sardina pilchardus*) a également un effet non négligeable, puisque les espèces de plus hauts niveaux trophiques en dépendent pour leur alimentation (Cury et al., 2011; Smith et al., 2011).

Si l'abondance d'une espèce diminue de manière importante, celle-ci ne peut plus maintenir son rôle dans l'écosystème (c'est-à-dire induire une extinction fonctionnelle) (Pimiento et al., 2020). Ce phénomène a par exemple été observé chez le Poisson Perroquet à bosse (*Bolbometopon muricatum*), que l'on trouve dans récifs coralliens indo-pacifique, dont le rôle dans la bioérosion des récifs et le transport des sédiments a été localement compromis par la forte diminution de sa population (Bellwood et al., 2011). Si une fonction dans l'écosystème n'est pas ou peu partagée entre les espèces (c'est-à-dire lorsque la redondance fonctionnelle est faible), la perte d'une seule espèce peut induire la perte totale d'une fonction dans un écosystème (Mouillot et al., 2014).

2) Les Protections des écosystèmes marins

a) Les mesures de protection

Différentes mesures ont été mises en place pour tenter de faire face au déclin de la biodiversité marine. Certaines espèces qui connaissent une forte diminution de leurs populations ont été protégées localement et temporairement par des moratoires. C'est le cas par exemple du Mérou brun (*Epinephelus marginatus*) dont les arrêtés préfectoraux n°2013357-0004 et n°2013357-0001 du 23 Décembre 2013 interdisent la chasse sous-marine et la pêche au moyen d'hameçons, lignes, palangres et palangrottes jusqu'à Décembre 2023 dans les eaux méditerranéennes françaises. Le Corb (*Sciaena umbra*) bénéficie de la même protection via les arrêtés préfectoraux n°2013357-0002 et n°2013357-0007. Des quotas de pêche par zone et par espèce tels que les "Totaux Admissibles de Captures" (TAC) fixés par l'Union Européenne sont définis et réévalués au cours du temps pour tenter de gérer plus durablement les ressources halieutiques. Le chalutage au-delà de 800 mètres de profondeur est interdit depuis 2017 dans les eaux européennes (Règlement (UE) 2016/2336) dans le but de préserver les écosystèmes profonds.

Enfin, l'un des principaux outils déployés pour la protection des écosystèmes marins sont les Aires Marines Protégées (AMPs) (Marcos et al., 2021). Une aire protégée est définie par l'UICN comme "un espace géographique clairement défini, reconnu, dédié et géré, par des moyens légaux ou d'autres moyens efficaces, pour assurer la conservation à long terme de la nature ainsi que des services écosystémiques et valeurs culturelles qui y sont associés." (Dudley, 2013). Les objectifs d'Aichi, fixés en 2010 dans le cadre du traité international "Convention sur la diversité biologique" (CBD), stipulaient qu'au moins 10% de la surface des océans devrait être protégé en 2020. Un objectif encore plus ambitieux a été fixé lors de la COP15 de 2022 dans le cadre cette même convention : 30% de la surface des océans devrait être protégé d'ici 2030 (CBD, 2022).

b) La Répartition des aires marines protégées

Les objectifs fixés par la CBD sont encore loin d'être atteints. Seulement 8,2% de la surface des océans sont couverts par des AMPs en 2023 (Marine Protection Atlas, 2023).

La pêche n'est pas interdite dans toutes les AMPs (Costello & Ballantine, 2015). Il existe une grande diversité de types de protection. Une AMP peut contenir des zones de protection partielle où la pêche est autorisée mais soumise à diverses réglementations, et des zones de protection intégrale où la pêche est strictement interdite, appelées les zones de non-prélèvement. Seulement 2.9% de la surface des océans est fortement protégée en 2023 (Marine Protection Atlas, 2023) (Figure 1.4.).

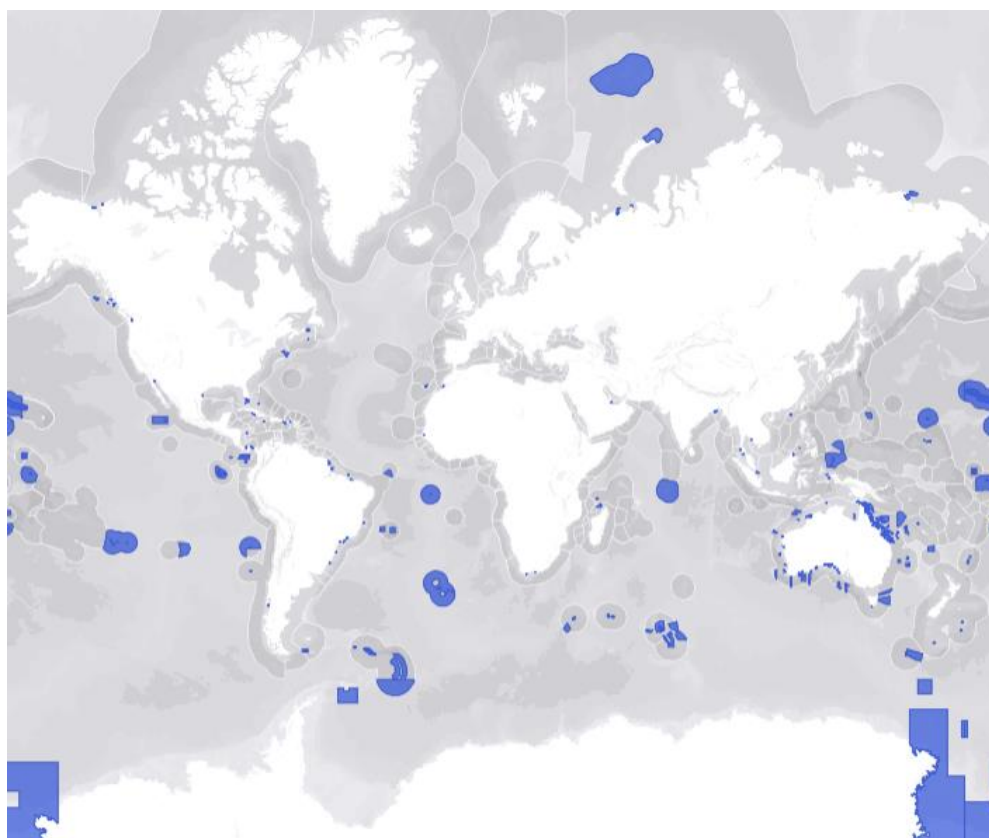


Figure 1.4. Répartition des AMPs fortement protégées (2.9%) en 2023. Carte extraite de "Marine Protection Atlas" (mpatlas.org)

Les aires marines protégées ne sont pas réparties équitablement entre toutes les couches de profondeur. Les zones de faible profondeur sont, proportionnellement, plus couvertes par des AMPs que les zones mésophotiques et aphotiques (Figure 1.5) (Biber et al.,

2022). Par exemple, les écosystèmes coralliens mésophotiques, abritant une biodiversité riche et unique, sont encore trop peu couverts par des AMPs et insuffisamment pris en compte dans les projets de conservation (Soares et al., 2020).

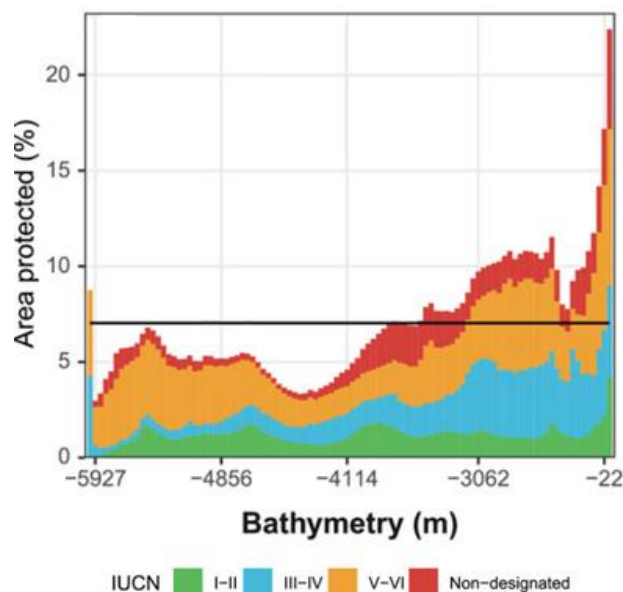


Figure 1.5. Proportion de chaque profondeur protégée par des AMPs allant des catégories IUCN I (très fort niveau de protection) à VI (faible niveau de protection). Figure extraite de Biber et al. (2022)

c) Les bénéfices des aires marines protégées

Les zones de non-prélèvement sont particulièrement efficaces pour sauvegarder et restaurer la biodiversité marine ainsi que le fonctionnement des écosystèmes (Sala & Giakoumi, 2018).

L'abondance et la biomasse de poissons y sont beaucoup plus élevées que dans les zones pêchées (Aburto-Oropeza et al., 2011; Campbell et al., 2018; Giakoumi et al., 2017). En moyenne, les zones de non-prélèvement possèdent une biomasse de poissons 6,7 fois supérieure aux zones non protégées qui leur sont adjacentes et 3,4 fois supérieure aux zones de protection partielle (Sala & Giakoumi, 2018). Ces zones abritent souvent des individus de grandes tailles appartenant à des espèces ciblées par la pêche, rarement observés dans les zones pêchées (Marshall et al., 2019).

La création de zones de non-prélèvement peut être bénéfique pour le secteur de la pêche car une partie des denses populations des aires protégées peuvent aller au-delà des

limites des réserves. C'est ce que l'on appelle l'effet de "débordement" ou "*spillover*" (Di Lorenzo et al., 2016; Medoff et al., 2022).

La richesse spécifique n'est pas toujours plus élevée dans les réserves que dans les zones pêchées (Boulanger et al., 2021; Dalongeville et al., 2022). La composition des communautés de poissons peut par contre fortement varier en fonction du niveau de protection (Loiseau et al., 2021). Les espèces de grande taille et de haut niveau trophique, souvent ciblées par la pêche, bénéficient généralement fortement de l'effet des réserves (Babcock et al., 2010; Rojo et al., 2021). Dans les zones pêchées, la diminution des populations d'espèces de hauts niveaux trophiques induit la réduction de la pression de prédation sur leurs proies. L'abondance et la richesse spécifique des espèces de bas niveau trophique peuvent ainsi augmenter. Le rétablissement des populations d'espèces prédatrices dans les réserves peut entraîner la diminution de l'abondance et de la richesse en espèces de bas niveaux trophiques (Boulanger et al., 2021; Takashina et al., 2012).

d) Les Limites de la protection dans les réserves marines

Si les réserves marines offrent une protection par rapport à la pêche et participent à la protection des habitats, elles ne protègent malheureusement pas les écosystèmes contre toutes les perturbations anthropiques comme par exemple la pollution au plastique (Bonanno, 2022) ou encore les impacts du changement climatique (Smith et al., 2023).

Les aires marines protégées sont affectées par la pollution sonore engendrée par le passage des bateaux (Buscaino et al., 2016). Certaines réserves marines, comme celle de Scandola en Corse par exemple, sont sur-fréquentées par les bateaux de tourisme (Boudouresque et al., 2021), ce qui limite leur bénéfice. Certaines espèces telles que le requin gris *Carcharhinus amblyrhynchos* ne sont efficacement protégées que par de grandes réserves sans aucune présence humaine (Juhel et al., 2019). Or aujourd'hui, peu de réserves marines sont réellement interdites d'accès.

Enfin, les zones de non-prélèvement des réserves peuvent être victimes de la pêche illégale (Harasti et al., 2019) et nécessitent donc une forte surveillance afin d'être efficaces.

3) La mer Méditerranée

a) *Les pressions anthropiques en mer Méditerranée*

La mer Méditerranée, sur laquelle porte mon travail de thèse, est considérée comme un “point chaud” de biodiversité (Coll et al., 2010). Elle ne représente que 0,82% de la surface océanique mais abrite 18% des espèces marines connues (Bianchi & Morri, 2000). Près de 10% des espèces de poissons qu’elle abrite ne vivent dans aucune autre mer ou océan, c’est-à-dire qu’elles sont endémiques de Méditerranée (Lasram et al., 2010). Les côtes du Nord-ouest sont particulièrement riches en espèces de poissons (*Figure 1.6.*).

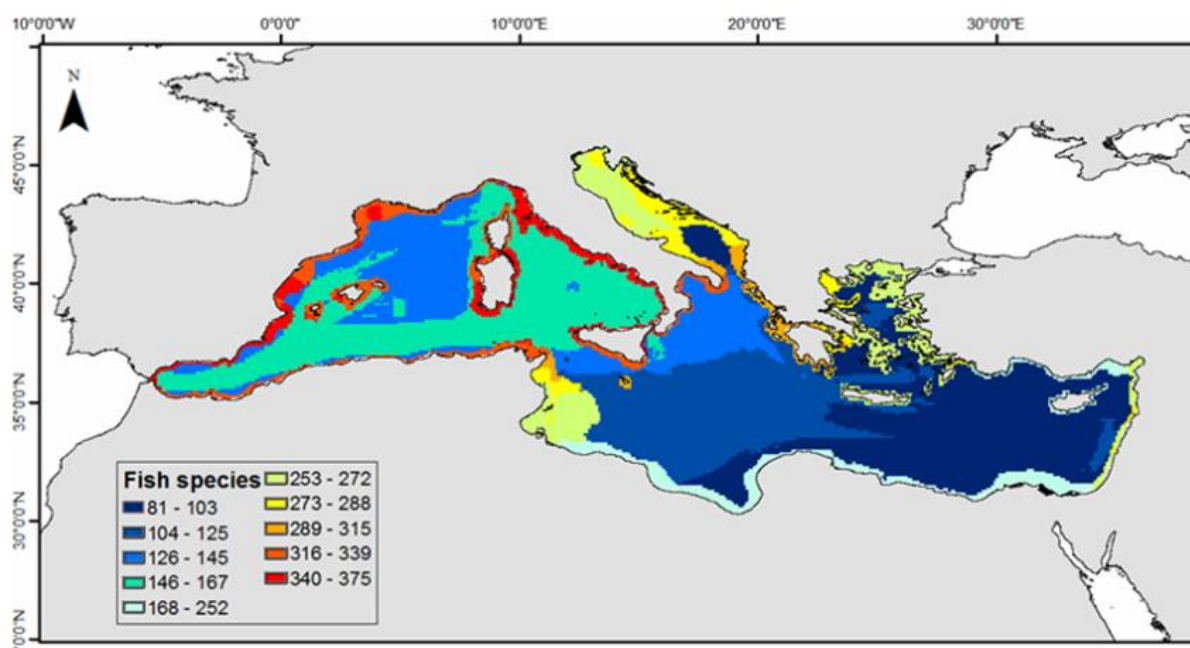


Figure 1.6. Estimation de la richesse en espèces de poissons dans la mer Méditerranée (réalisés à partir de dires d’experts). Figure extraite de Coll et al. (2010)

La Méditerranée est malheureusement fortement touchée par les activités humaines (Micheli et al., 2013; Ramírez et al., 2018; Stock et al., 2018) (*Figure 1.7.*). Elle est l’une des mers les plus impactées par la surpêche avec 75% de ses stocks de pêches surexploités (FAO, 2020). Elle se réchauffe à un rythme deux à trois fois supérieur à la moyenne de l’ensemble des régions océaniques mondiales (Marbà et al., 2015). La densité de population humaine le long de ses côtes est très élevée et elle fait partie d’une des principales destinations touristiques dans le monde (Coll et al., 2010). La pollution, telle que la pollution plastique, y

est dramatiquement élevée (Hatzonikolakis et al., 2022). La pollution sonore y est également très marquée à cause des nombreux passages de bateaux de plaisance, de pêche et de commerce (Carreño & Lloret, 2021; Di Franco et al., 2020). Les herbiers de posidonie, qui ont un rôle crucial en tant que puits de carbone (Monnier et al., 2021) et d'habitat "nurserie" (habitat dans lequel vont vivre les juvéniles) pour de nombreuses espèces de poissons, sont arrachés par les ancres des navires (Dapuzo et al., 2022).

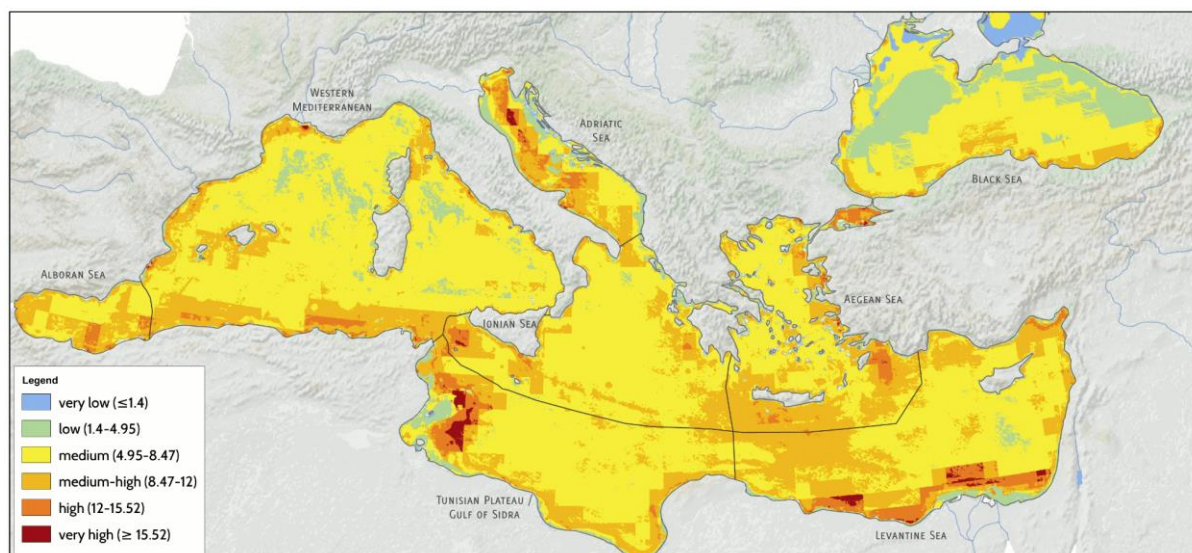


Figure 1.7. Impact humain calculé à partir de 22 facteurs de pressions anthropiques (facteurs liés à la pêche, au climat, aux pollutions). Figure extraite de Micheli et al. (2013)

b) Les aires marines protégées en Méditerranée

Des AMPs ont été mises en place dans le but de protéger la faune marine. L'effet positif des AMPs en Méditerranée sur l'abondance des poissons a largement été démontré (Guidetti et al., 2014; La Mesa et al., 2011), mais une augmentation de leur surface sera nécessaire pour remplir les objectifs de la CBD au cours des prochaines années (CBD, 2022). En effet, seule 6,01% de la surface de la mer Méditerranée est couverte par des AMPs et seulement 0,23% est intégralement ou fortement protégée (pêche interdite ou fortement restreinte) (Claudet et al., 2020) (Figure 1.8). De plus, la plupart de ces réserves sont fortement impactées par la pollution sonore induite par le passage de bateaux (Buscaino et al., 2016).

Cette thèse va s'intéresser plus particulièrement aux zones côtières méditerranéennes françaises. A première vue, la France semble participer de manière

considérable à l'effort de protection de la biodiversité marine puisque 61,54% de la surface de la Méditerranée française est couverte par des AMPs. Cependant, seulement une infime proportion (0,11%) de la surface de la Méditerranée française bénéficie d'une protection forte ou intégrale (Claudet et al., 2020) (Figure 1.8.B). La plupart des AMPs françaises ont donc un niveau de protection faible (pêche autorisée) ce qui en réduit considérablement leur efficacité (Guidetti et al., 2014; Zupan et al., 2018).

Distribution of the different levels of protection in the Mediterranean Sea

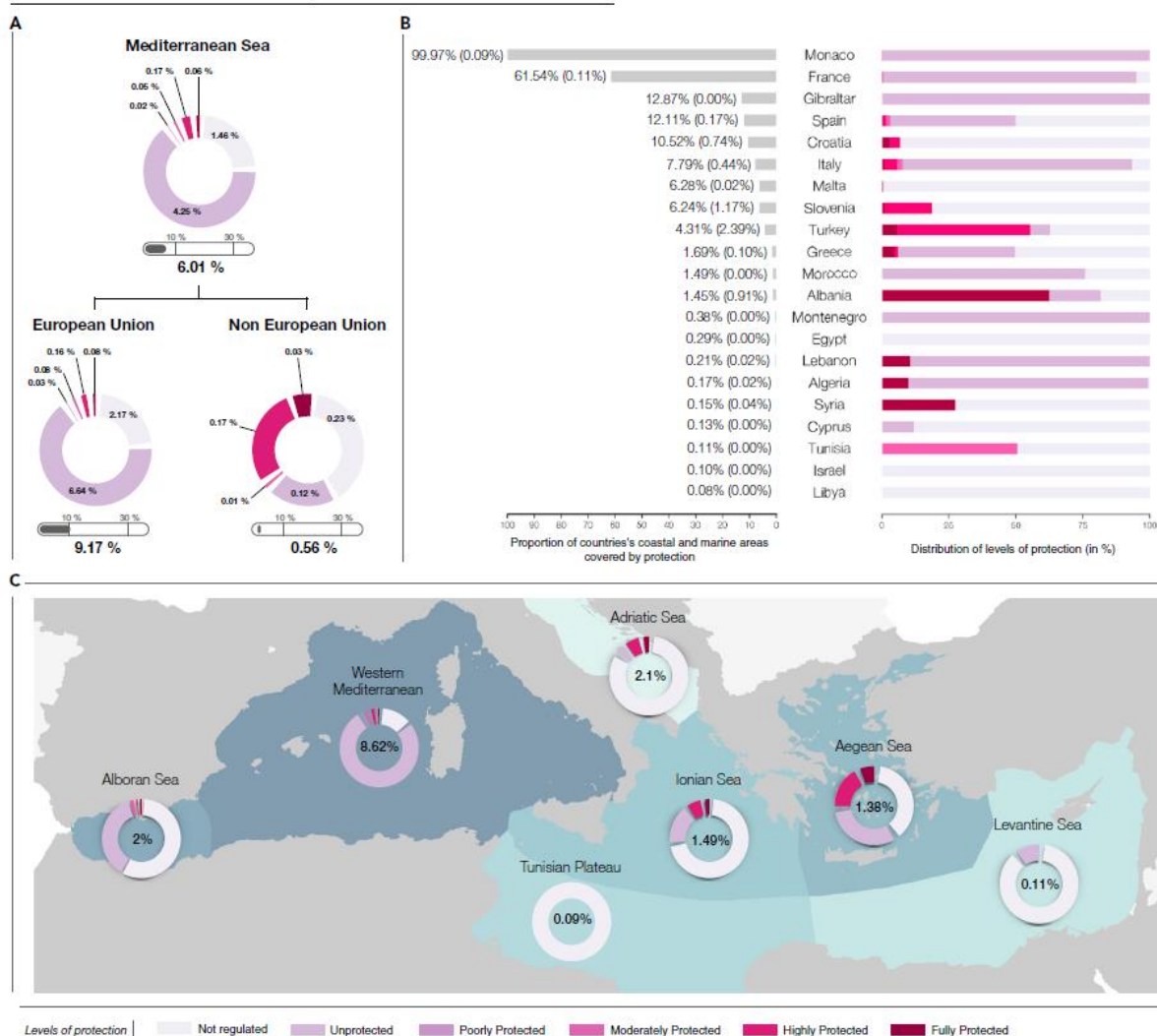


Figure 1.8. Distribution des différents niveaux de protection des aires marines protégées en mer Méditerranée. Proportion et distribution des différents niveaux de protection des AMPs (A) dans l'ensemble de la mer Méditerranée, les pays de l'Union européenne et les pays non-membres de l'Union européenne ; (B) dans chaque pays (les pourcentages entre parenthèses indiquent la proportion bénéficiant d'une protection forte ou intégrale) ; (C) dans les différentes écorégions. Figure extraite de Claudet et al. (2020)

4) Inventorier les communautés de poissons : un véritable défi

Le recensement et la surveillance de la biodiversité marine est indispensable pour améliorer sa protection. Cela devient de plus en plus urgent dans le contexte de son déclin.

a) Les techniques conventionnelles

Pour étudier la biodiversité marine ichtyologique, plusieurs méthodes sont couramment utilisées (*Figure 1.9.*). En zones peu profondes les inventaires sont souvent réalisés en plongée sous-marine. Les plongeurs identifient et comptent les poissons observés de part et d'autre d'un transect (Bosch et al., 2017) (*Figure 1.9.A*).

Une autre méthode couramment utilisée repose sur le déploiement de caméras. Les caméras peuvent être posées au fond et filmer quelques heures (Magneville et al., 2023) (*Figure 1.9.B*) ou être transportées par des plongeurs le long d'un transect (Goetze et al., 2019). Des caméras appâtées avec du poisson gras (BRUV ; Baited Remote Underwater Video) peuvent aussi être mises en place (Juhel et al., 2018) (*Figure 1.9.C*). Les dispositifs de caméras stéréoscopiques permettent de mesurer la taille des individus filmés. Les caméras peuvent être utilisées pour étudier la biodiversité des écosystèmes côtiers mais aussi des écosystèmes plus profonds inaccessibles en plongée sous-marine (Phillips et al., 2019). L'exploration des zones profondes peut se faire grâce à des caméras embarquées dans des véhicules sous-marins téléopérés (ROV) (*Figure 1.9.D*) (Consoli et al., 2016) ou des véhicules sous-marins autonomes (AUV).

Différentes méthodes de pêche, telles que le chalutage de fond, sont utilisées à des fins d'inventaire (Maureaud et al., 2021) (*Figure 1.9.E*).

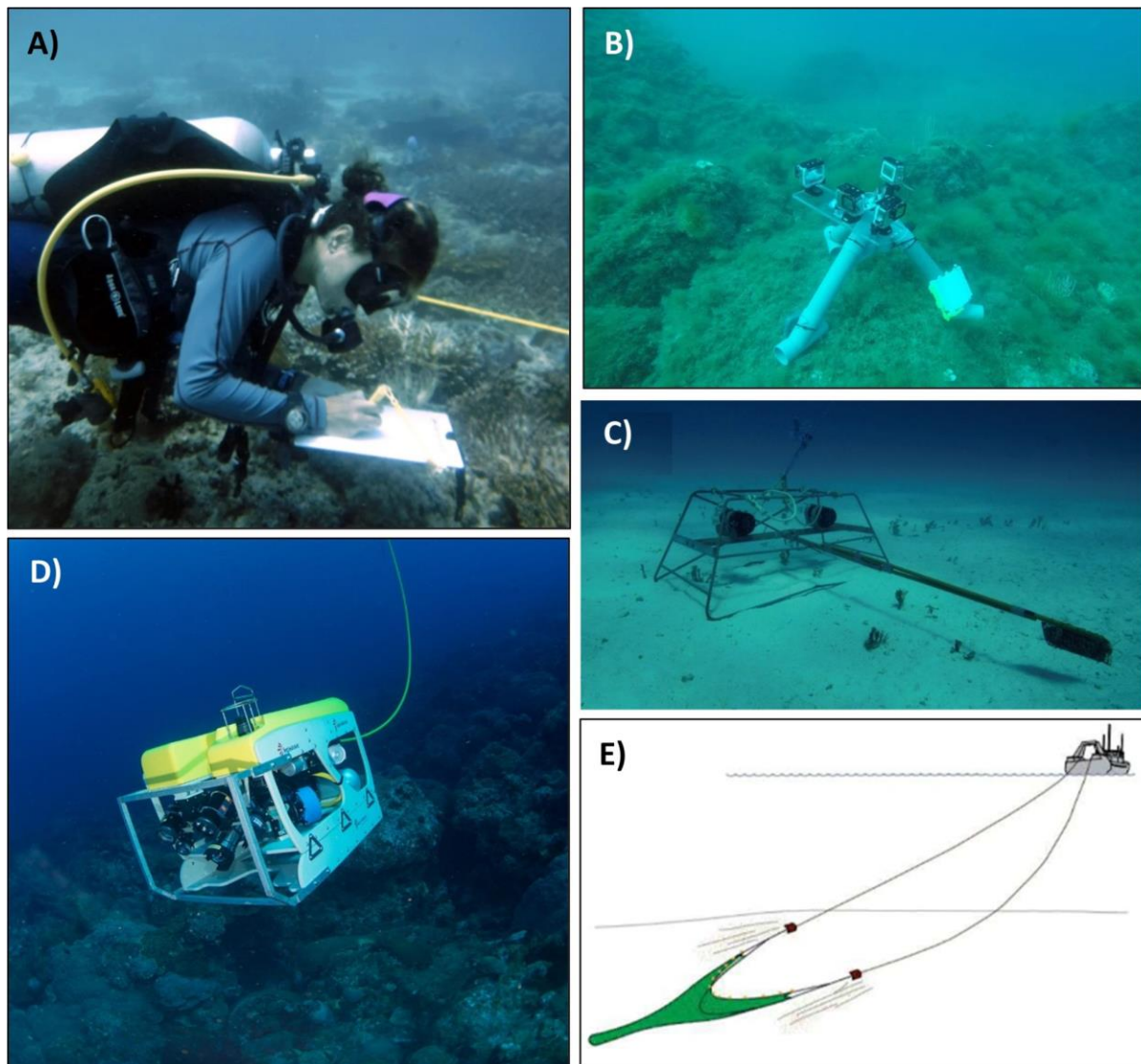


Figure 1.9. Illustration non exhaustive des techniques de recensement de la biodiversité ichthyologique en milieu marin. A) Plongée sous-marine B) Vidéos sous-marines C) Caméras stéréoscopiques appâtées (BRUV) D) Véhicule sous-marin téléopéré (ROV) E) Pêche au chalut. Crédits (A et B) A. Dalongeville, (C) extrait de la thèse de Cyrielle Jac, (D) extrait de Juhel et al. (2018) (E) FGBNMS/Schmahl

b) Les limites des techniques conventionnelles

Ces méthodes d'inventaires de la faune marine ont néanmoins des limites et peuvent être affectées par des biais de détection des espèces.

L'étendue des inventaires réalisés en plongée classique en circuit ouvert est fortement limitée par les contraintes physiologiques humaines. Le temps d'observation est court et seules les zones de faible profondeur peuvent être inventoriées. Le développement de la

plongée technique en recycleur avec des mélanges de gaz Trimix a permis d'augmenter le temps et la profondeur des plongées et ainsi d'améliorer les connaissances sur les écosystèmes de la zone mésophotique (30-150m) encore largement méconnus (Pinheiro et al., 2016; Rocha et al., 2018). Cependant, le déploiement de la plongée technique est complexe. Outre le fait que les plongeurs doivent avoir un niveau de qualification très élevé, cette activité reste risquée et coûteuse, ce qui limite son utilisation. Les inventaires réalisés en plongée peuvent par ailleurs être affectés par des biais de détection. Certaines espèces, et en particulier celles ciblées par la pêche, peuvent être méfiantes envers les plongeurs. Le comportement d'évitement est encore plus marqué dans les zones où la chasse sous-marine est pratiquée (Guidetti et al., 2008). Les poissons peuvent aussi être sensibles au bruit des bulles relâchées par les plongeurs en circuit ouvert, ce qui peut biaiser les inventaires. La plongée en recycleur, plus silencieuse, est à privilégier car elle a moins d'effet sur le comportement des poissons que la plongée classique en circuit ouvert (Lindfield et al., 2014).

Les suivis vidéos ont aussi leurs limites. Les caméras appâtées sont efficaces pour la détection des espèces prédatrices mais pas pour celle des espèces herbivores ou planctonivores (Whitmarsh et al., 2018). Le déploiement d'un ROV est coûteux et demande une grande expertise pour le piloter (Sward et al., 2019). Certaines espèces peuvent aussi avoir un comportement d'évitement, surtout si le dispositif est équipé de projecteurs (Fitzpatrick et al., 2013). Enfin, identifier les espèces présentes dans les vidéos requiert beaucoup de temps (Langlois et al., 2020). Le développement des techniques d'intelligence artificielle pourrait permettre de réduire ce temps d'analyse dans les prochaines années (Villon et al., 2018).

L'ensemble des techniques visuelles décrites précédemment (recensement en plongée ou caméras) n'est pas adapté si la turbidité est trop forte (Figueroa-Pico et al., 2020). De plus, les espèces se confondant dans leur environnement (espèces cryptobenthiques) (Brandl et al., 2018), de petites tailles (Bozec et al., 2011), rares (Boussarie et al., 2018), difficiles à différencier morphologiquement (espèces cryptiques) (Dornburg et al., 2016) ou encore les individus dans leurs premiers stades de vie (Appleyard et al., 2022) sont mal inventoriés avec ces méthodes.

La pêche telle que la pêche au chalut est quant à elle une méthode destructrice ayant un fort impact environnemental. Bien que l'ampleur de la pêche scientifique soit mineure par rapport à la pêche commerciale, elle soulève à la fois des questions éthiques et de préservation de l'environnement (Trenkel et al., 2019). Cette méthode n'est pas non plus indemne de biais de détection. Certaines espèces peuvent détecter le bruit émis par les engins de pêche et les éviter (De Robertis & Handegard, 2013).

Enfin, l'ensemble de ces méthodes nécessite une grande expertise en identification taxonomique.

c) Le metabarcoding de l'ADN environnemental

Le *metabarcoding* de l'ADN environnemental est une méthode employée depuis maintenant une dizaine d'années pour étudier les communautés de poissons dans le milieu marin (Thomsen et al., 2012; Xiong et al., 2022). Elle consiste à récupérer l'ADN laissé par les différentes espèces de poissons dans leur environnement (via leurs cellules épidermiques, mucus ou fèces par exemple), à amplifier cet ADN par PCR (Réaction en chaîne par polymérase) et à le séquencer. Les séquences sont ensuite comparées avec celles disponibles dans une base de référence génétique pour pouvoir les assigner à des espèces (*Figure 1.10.*). Les différentes étapes de cette méthode seront détaillées dans le premier chapitre de cette thèse.

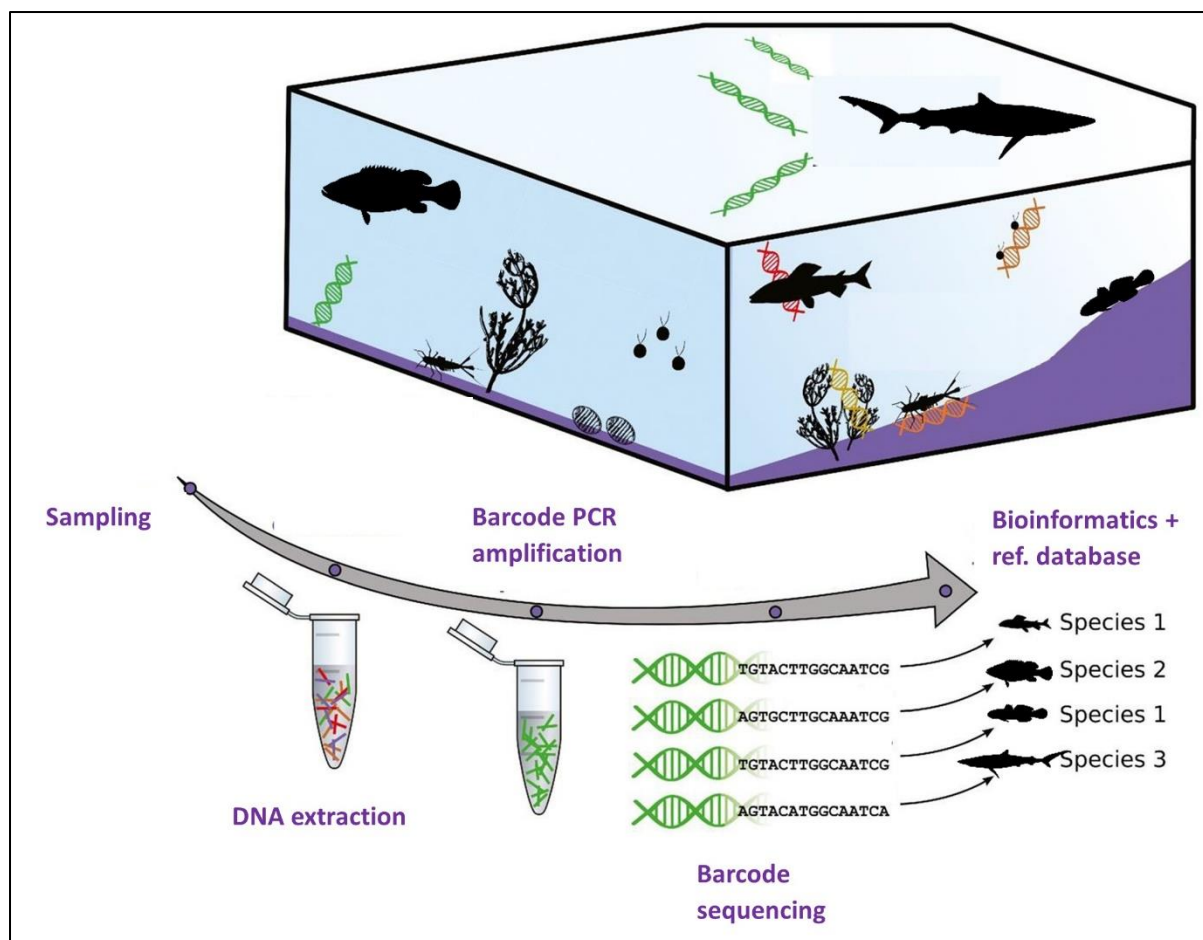


Figure 1.10. Schéma des principales étapes du metabarcoding de l'ADNe. Figure adaptée de (Keck et al., 2017)

Le choix des amorces PCR en *metabarcoding* dépend du groupe taxonomique ciblé. Les deux principaux marqueurs *metabarcoding* utilisés pour les poissons sont les marqueurs mitochondriaux 12S *teleo* (Valentini et al., 2016) et *MiFish* (Miya et al., 2015). Un marqueur *metabarcoding* idéal correspond à une séquence variable entre espèces, flanquée de part et d'autre par des régions conservées entre espèces (Figure 1.11.) (Taberlet et al., 2018). La région centrale variable, appelée le barcode, est la séquence qui permet l'identification des espèces. Les régions conservées servent à la fixation des amorces PCR sur les séquences des espèces du groupe taxonomique ciblé. Pour le *metabarcoding* de l'ADNe, les séquences courtes sont privilégiées car l'ADN se dégrade assez rapidement dans l'environnement (Murakami et al., 2019; Ruppert et al., 2019). Les séquences de l'ADN mitochondrial sont utilisées comme marqueur *metabarcoding* pour l'ADN environnemental car présentes en plus grand nombre de copies que l'ADN nucléaire (Rees et al., 2014).



Figure 1.11. Schéma de la structure d'un marqueur metabarcoding

Cette méthode en plein essor présente l'avantage d'être non-destructrice, relativement facile à mettre en place, et ne nécessite pas d'expertise taxonomique sauf pour compléter les bases de référence génétiques. Elle complète et surpasse souvent les méthodes conventionnelles telles que le recensement visuel en plongée (Hsu et al., 2023; Rey et al., 2023), les caméras appâtées (Gold et al., 2023) ou encore la pêche au chalut (Zhou et al., 2022) dans la détection des espèces de poissons et permet ainsi une meilleure approximation de la richesse spécifique. Le *metabarcoding* de l'ADNe permet une meilleure détection des espèces difficiles à recenser avec les méthodes classiques telles que les espèces rares (Pikitch, 2018), les chondrichthyens (Boussarie et al., 2018) (Figure 1.12.) et les espèces cryptobenthiques (Boulanger et al., 2021; Juhel et al., 2022).

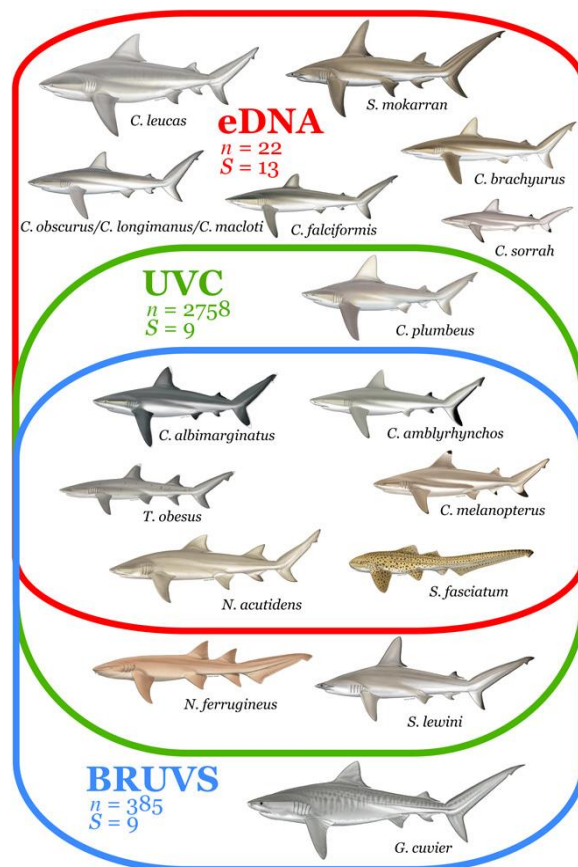


Figure 1.12. Diagramme de Venn montrant les espèces de requin détectées en Nouvelle-Calédonie par le metabarcoding de l'ADNe ($n = 22$ échantillons, $S = 13$ species), en plongée (Underwater Visual Census ; UVC) (2578 plongées, $S = 9$ espèces) et avec l'aide de caméras appâtées (Baited Remote Underwater Video ; BRUVS) ($n = 385$ vidéos, $S = 9$ espèces). Figure extraire de Boussarie et al. (2018).

Cette méthode est la plupart du temps déployée pour effectuer des inventaires des communautés de poissons des zones peu profondes mais quelques études récentes ont montré le grand potentiel que possède le *metabarcoding* de l'ADNe pour mieux connaître les communautés des zones mésophotiques (30-150m) et des zones de grandes profondeurs (Canals et al., 2021; Juhel et al., 2020; McClenaghan et al., 2020; Muff et al., 2022). Le *metabarcoding* de l'ADNe est devenu un outil important pour l'étude des écosystèmes marins.

5) Enjeux et objectifs de la thèse

Cette thèse a pour objectif de répondre à des questions de conservation en utilisant le *metabarcoding* de l'ADNe.

La principale limite de l'utilisation du *metabarcoding* de l'ADNe dans la réalisation des inventaires reste le manque de séquences disponibles dans les bases de référence génétiques. Si une espèce n'a pas de séquence disponible pour le marqueur *metabarcoding* utilisé, elle ne pourra pas être identifiée. Certaines études ont donc eu recours aux Molecular Operational Taxonomic Units (MOTUs) non assignés à des espèces pour pouvoir estimer la richesse spécifique (Marques, Castagné, et al., 2021; Mathon et al., 2022). Néanmoins, il est important de disposer d'une base de référence génétique assez complète pour pouvoir répondre à des questions plus précises de conservation et mieux connaître chaque espèce pour mieux les protéger.

L'ambition générale de cette thèse est de pouvoir obtenir trois informations clés pour la conservation à partir des données de *metabarcoding* de l'ADNe :

- La distribution géographique et bathymétrique ainsi que la niche écologique de chaque espèce
- L'effet global que peuvent avoir les activités humaines sur chaque espèce
- L'effet des réserves marines sur chaque espèce

J'ai tout d'abord réalisé une étude pour mesurer la disponibilité des séquences des principaux marqueurs *metabarcoding* dans les bases de référence génétiques publiques et synthétiser les connaissances actuelles sur la distribution spatiale et bathymétrique de chaque espèce de poisson à l'échelle mondiale. J'ai ainsi pu explorer le pourcentage d'espèces, dans chaque océan et chaque couche bathymétrique, ayant leurs séquences dans les bases de référence génétiques.

Comme nous l'avons vu, la mer Méditerranée représente un fort enjeu de conservation car :

Introduction générale

- Elle est un point chaud de biodiversité
- Elle est très impactée par les activités humaines
- Elle reste encore insuffisamment couverte par les AMPs de forts niveaux de protection.

Elle représente donc un modèle d'étude intéressant pour appliquer la méthodologie du *metabarcoding* de l'ADNe à des questions de conservation.

Un important travail a été réalisé au cours des dernières années par le laboratoire du CEFE pour compléter la base de référence génétique en collaboration avec l'UMR MARBEC. La séquence du marqueur *metabarcoding teleo* (Valentini et al., 2016) est maintenant disponible pour environ 81% des espèces présentes le long des côtes méditerranéennes françaises (Charbonnel et al., 2017). J'ai ainsi pu appliquer le *metabarcoding* de l'ADNe pour tenter de répondre à des questions de conservation des écosystèmes marins côtiers méditerranéens français :

- (1) Quelle est l'efficacité des aires marines protégées dans la protection des différentes espèces de poissons ?
- (2) Quel est l'effet du dérangement (tel que la pollution sonore induite par les bateaux) sur les différentes espèces ?
- (3) Quelle est la distribution des espèces de poissons le long des côtes méditerranéennes françaises ?
- (4) Où se situent les zones à protéger en priorité pour atteindre les objectifs de la Convention sur la Diversité Biologique ?

Pour répondre à la première question, des échantillonnages d'ADNe ont été réalisés à l'intérieur et à l'extérieur d'AMPs à fort niveau de protection (pêche interdite).

Pour répondre à la deuxième question, des échantillonnages d'ADNe ont été réalisés pendant et hors de la période de confinement due à l'épidémie de Covid-19. En effet, lors de la période de confinement, l'activité humaine en mer, telle que la circulation des bateaux, a fortement chuté, offrant une opportunité unique d'étudier la réponse des espèces à une diminution temporaire des pressions humaines.

Enfin pour répondre aux deux dernières questions, des modèles de distribution des espèces ont été réalisés à partir de l'ensemble des données d'ADNe récoltées en

Méditerranée depuis 2018 par le laboratoire MARBEC. Les échantillonnages ont été réalisés à plusieurs profondeurs, des premiers mètres jusqu'à la zone mésophotique, très importante à prendre en compte dans les prochains programmes de conservation.

Ce travail est composé de quatre chapitres qui intègrent trois articles scientifiques (*Figure 1.13.*). Un premier chapitre présente plus en détail les différentes étapes du *metabarcoding* de l'ADNe ainsi que les missions d'échantillonnage auxquelles j'ai pu participer dans le cadre de cette thèse.

Le deuxième chapitre présente les connaissances actuelles sur la distribution spatiale et bathymétrique des espèces à l'échelle mondiale. Cet article met l'accent sur l'importance de protéger les écosystèmes de l'ensemble des couches bathymétriques et pas seulement ceux des 30 premiers mètres. Elle met aussi en avant le grand potentiel du *metabarcoding* de l'ADNe pour l'étude des écosystèmes des zones mésophotiques et aphotiques dans les prochaines années. Elle fait également un état des lieux de la disponibilité des séquences dans les bases de référence génétiques publiques pour le *metabarcoding* de l'ADNe. Cet article a été publié dans le journal *Ecology and Evolution* comme article de review. Les deux chapitres suivants portent sur la conservation des écosystèmes côtiers de la méditerranée française.

L'objectif du troisième chapitre est double :

- évaluer l'impact de la pêche en comparant la probabilité d'occurrence des différentes espèces de poisson à l'intérieur et à l'extérieur des réserves
- évaluer l'effet du dérangement et de la pollution sonore induite par le passage des bateaux en comparant la probabilité d'occurrence des différentes espèces de poisson pendant et hors confinement dû à l'épidémie de Covid-19.

Le quatrième chapitre s'intéresse à connaître la distribution des espèces de poissons le long de la côte méditerranéenne française grâce au *metabarcoding* de l'ADNe pour pouvoir évaluer les zones de fort intérêt pour la conservation.

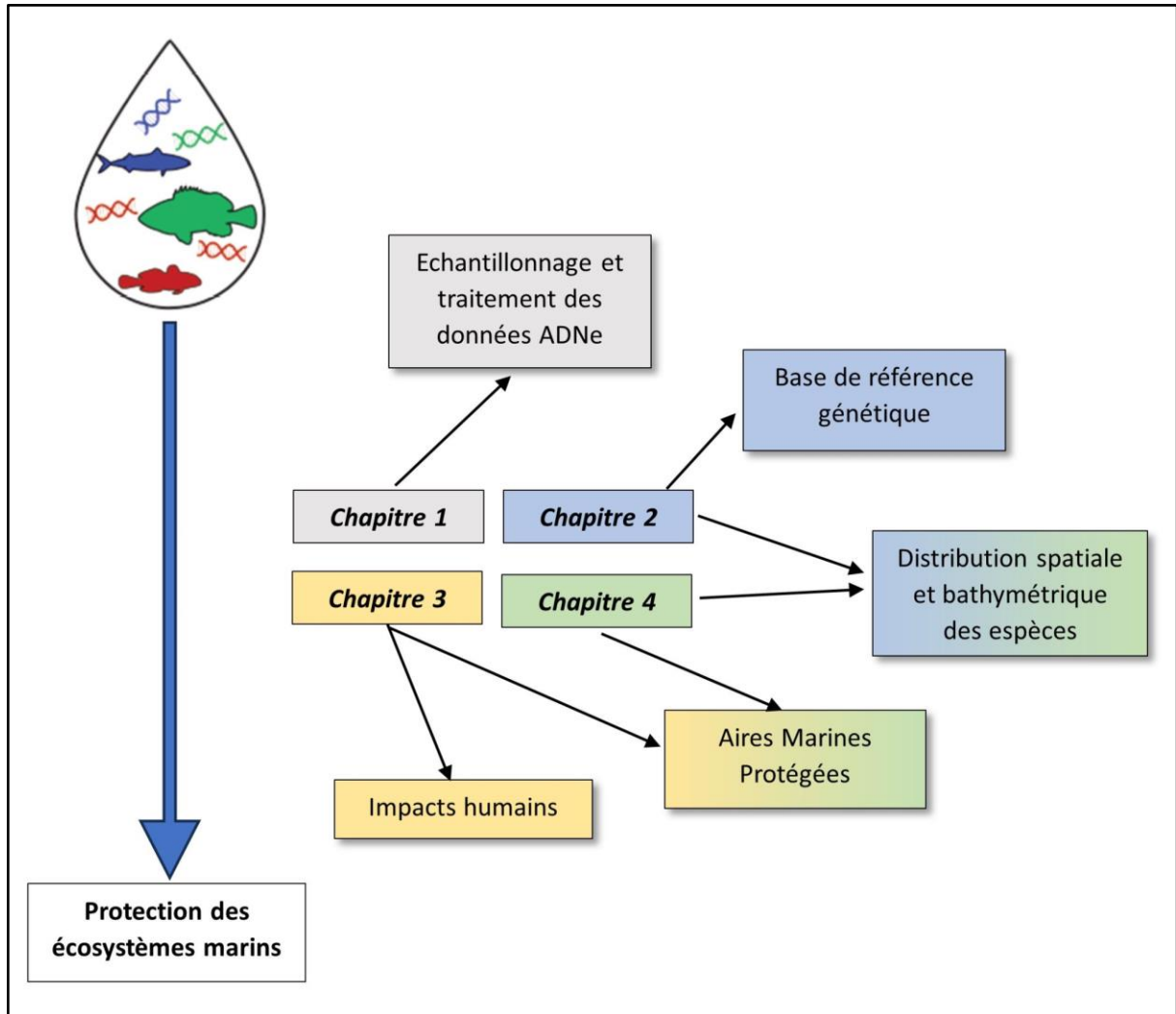


Figure 1.13. Représentation schématique des thèmes abordés dans les 4 chapitres de cette thèse.

Chapitre 1 – Méthodes

1) Sites d'échantillonnage de l'ADNe

Un important travail d'échantillonnage d'ADNe a été réalisé depuis 2018 le long des côtes Méditerranéennes françaises par le laboratoire MARBEC en partenariat avec le CEFE, l'ETH, Andromède Océanologie et les réserves marines. Les 459 échantillons, analysés dans les chapitres 3 et 4 de cette thèse, ont été récoltés de 2018 à 2022. Des échantillonnages ont pu être réalisés dans 11 réserves marines (*Figure 2.1.*).

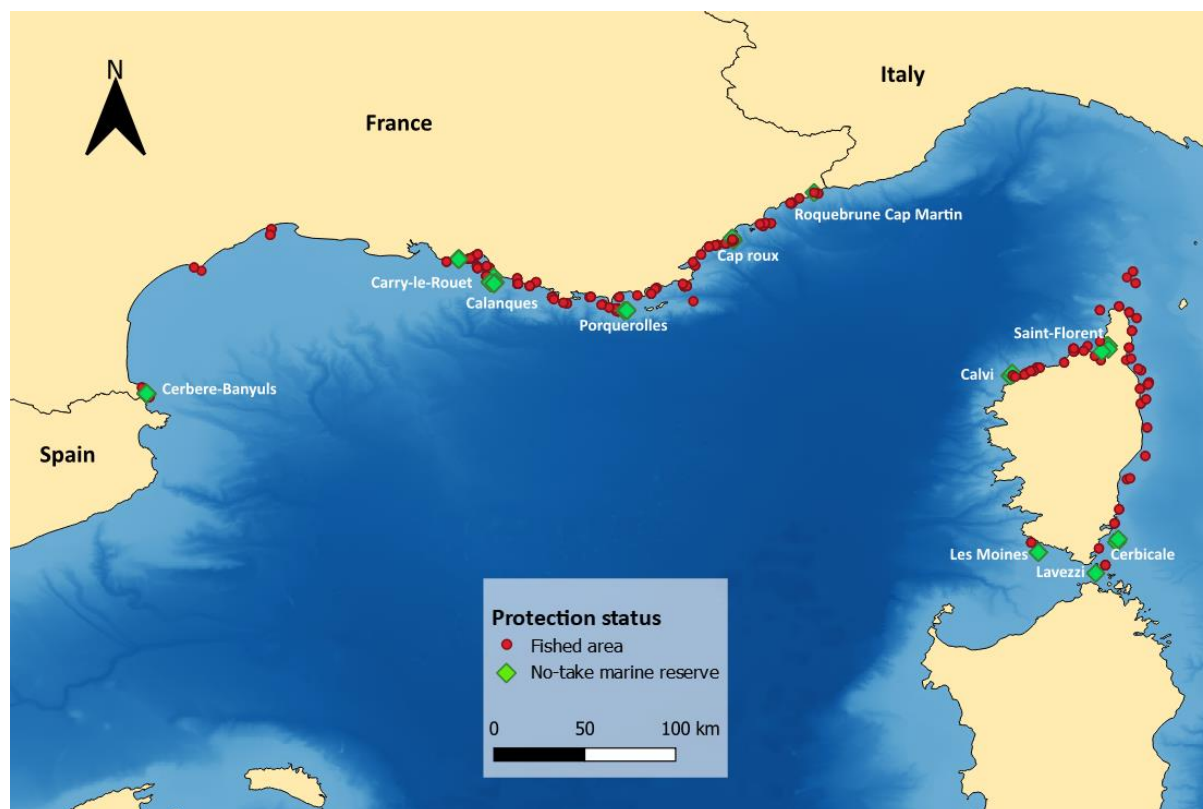


Figure 2.1. Carte des échantillonnages d'ADNe réalisés entre 2018 et 2022 le long des côtes méditerranéennes françaises.

2) Méthode d'échantillonnage de l'ADNe

30L d'eau de mer ont été pompés à un débit de 1L par minute grâce à une pompe péristaltique. Certains transects d'échantillonnages ont été réalisés en surface grâce à des pompes Athena® (Proactive Environmental Products LLC, Bradenton, Florida, USA) positionnées sur le bateau tandis que d'autre ont été réalisés en profondeur grâce à des pompes submersibles (Subspace, Geneva, Switzerland) (*Figure 2.2.*). Ces pompes ont été soit

tractées à grande profondeur par un bateau soit utilisées par des plongeurs. L'eau passe par un tuyau stérile équipé d'une crépine à son extrémité puis à travers une capsule de filtration contenant une membrane d'une porosité de $2\mu\text{m}$ (VigiDNA[®], SPYGEN, le Bourget du Lac, France) (Figure 2.2). Une fois la filtration terminée, la capsule de filtration est remplie avec la solution tampon de conservation CL1 (VigiDNA[®], SPYGEN, le Bourget du Lac, France).

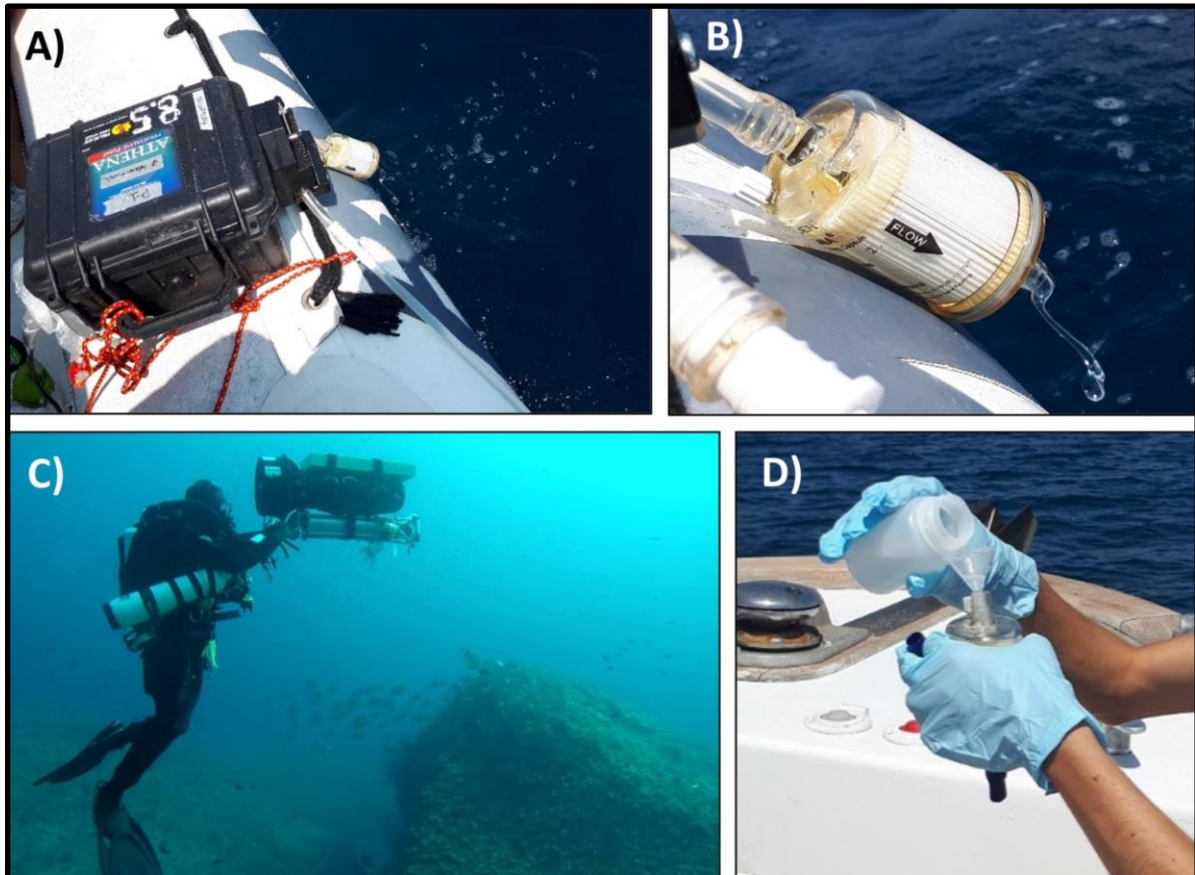


Figure 2.2. Méthode d'échantillonnage de l'ADNe. A) Filtration d'eau en surface effectuée avec la pompe péristaltique Athena[®]. B) Capsule de filtration utilisée. C) Filtration d'eau réalisée en plongée sous-marine. D) La capsule est remplie après filtration avec la solution tampon de conservation. Crédits : (C) R. Hocdé, (A, B et D) A. Duhamet.

3) Missions d'échantillonnage

a) Calanques de Marseille

J'ai participé à six missions d'échantillonnage d'ADNe (octobre 2021, mars 2022, juin 2022, octobre 2022, janvier 2023 et juin 2023) aux Calanques de Marseille dans le cadre du projet DEEP-HEART. Lors de ces missions, les pompes submersibles ont été utilisées pour filtrer de l'eau à 20m et 40m de profondeur à l'intérieur de la zone interdite à la pêche du parc national des Calanques (site « Moyade ») et à 20m et 80m de profondeur à l'extérieur de cette zone (site « Impérial du large ») (Figure 2.3).

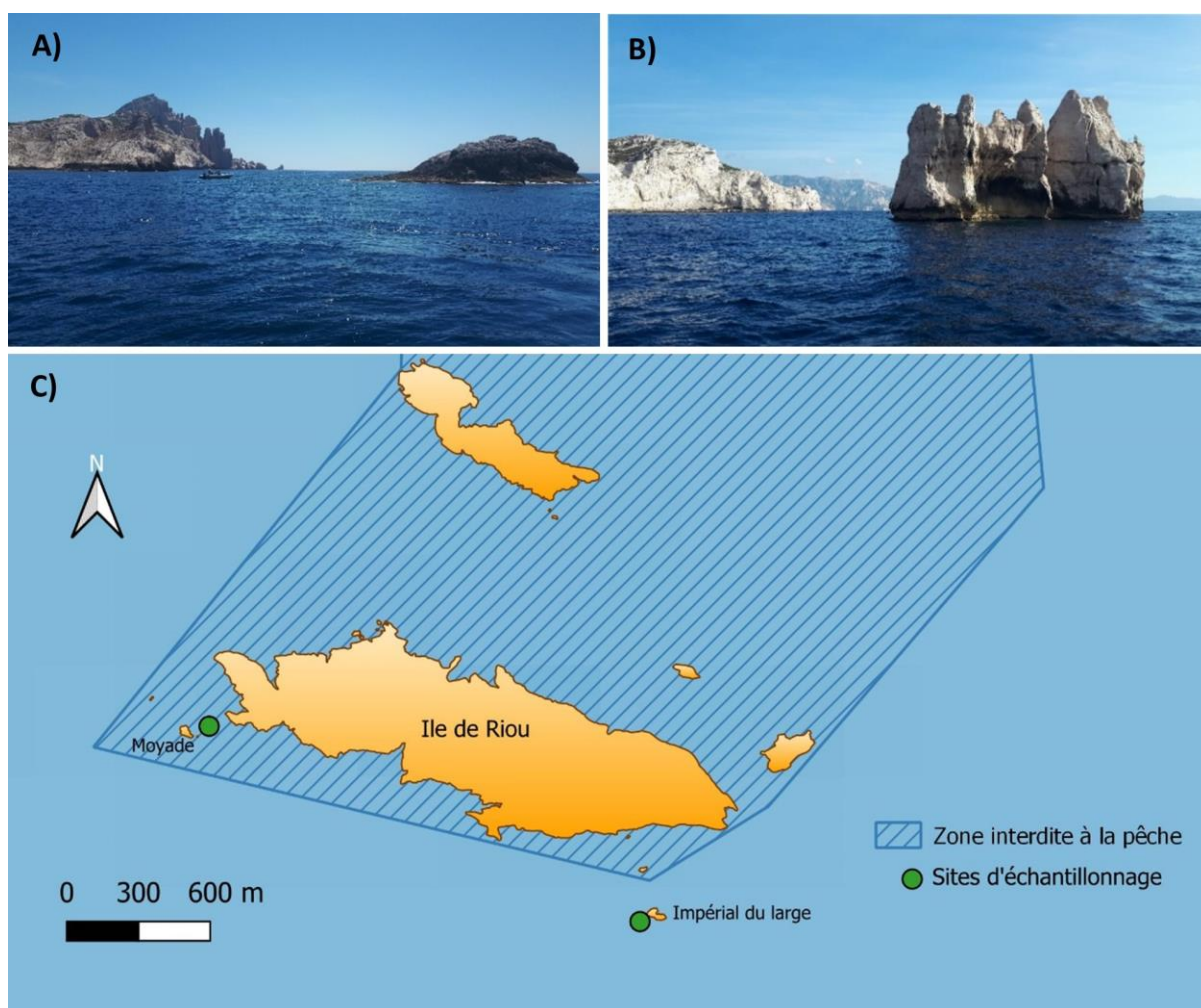


Figure 2.3. Sites d'échantillonnage de la mission aux Calanques de Marseille. A) Site Moyade situé à l'intérieur de la réserve. B) Site Impérial du large situé à l'extérieur de la réserve. C) Carte présentant les limites de la réserve et les sites d'échantillonnage. Crédits : (A, B) A. Duhamet

Les plongées ont été réalisées avec des recycleurs et les pompes ont été fixées à des scooters sous-marins. Deux plongeurs effectuent simultanément les filtrations afin d'avoir un réplicat d'échantillonnage. Pour limiter le temps de filtration, chaque pompe a été équipée de 2 têtes de pompes permettant de réaliser simultanément 2 filtrations de 15 minutes avec un débit de 1 litre par minute (*Figure 2.4*).

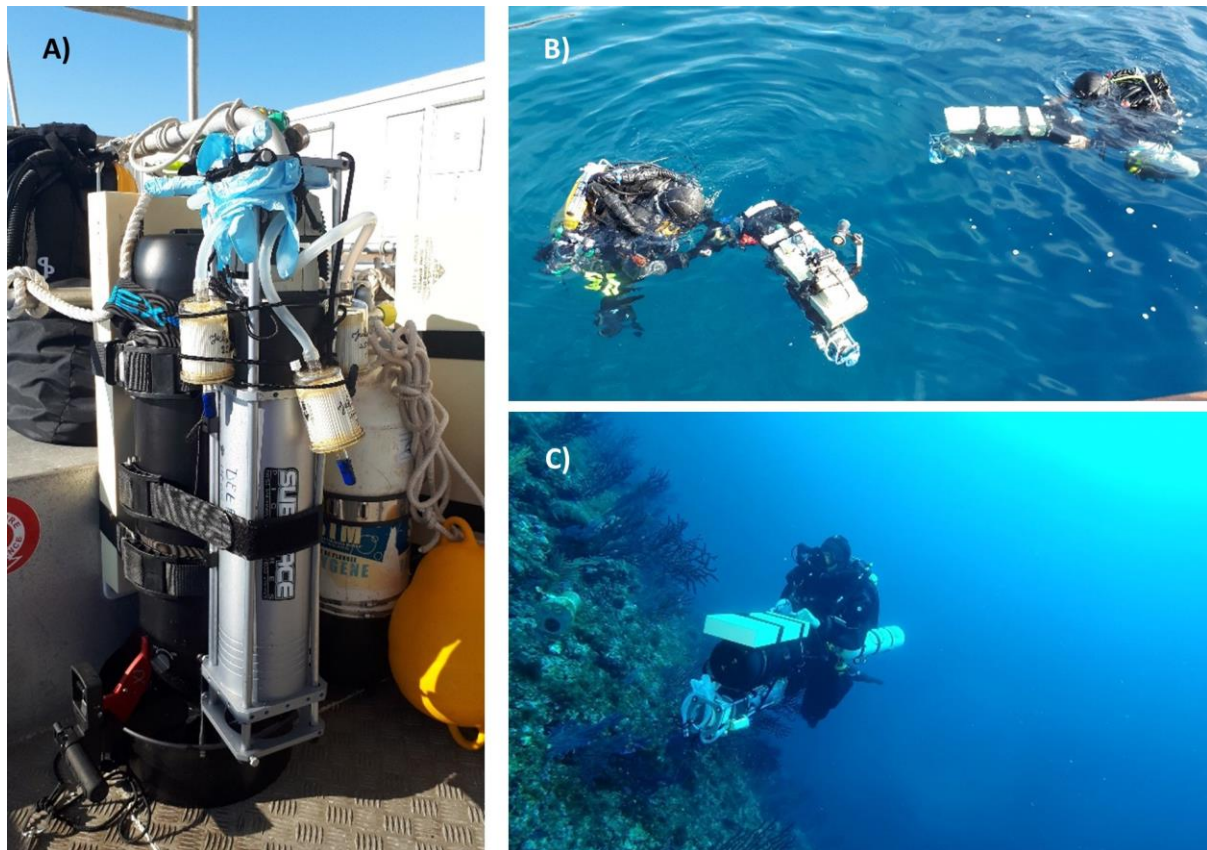


Figure 2.4. Mission d'échantillonnage d'ADNe aux Calanques de Marseille. A) Pompe submersible à double tête fixée au scooter sous-marin. B) Début de la plongée. C) Filtration d'ADNe. Crédits : (A, B) A. Duhamet, (C) R. Hocdé.

Ce suivi continuera au cours des prochaines années. Il permettra de comparer les communautés de poissons aux différentes profondeurs selon le statut de protection. Il permettra également d'évaluer l'effet saisonnier et annuel sur les communautés de poissons à différentes profondeurs selon le statut de protection. Ce suivi pourrait permettre de déterminer si la zone mésophotique joue ou non un rôle de refuge pour la biodiversité ichtyologique.

J'ai utilisé les données d'échantillons de 20m et 40m de profondeur de la campagne d'échantillonnage d'octobre 2021 dans le **chapitre 3**, et l'ensemble de ceux d'octobre 2021, mars 2022 et juin 2022 dans le **chapitre 4** de ma thèse. Le séquençage des échantillons des autres campagnes d'échantillonnage n'a pas pu être réalisé dans le temps imparti de la thèse.

En juillet 2021, j'ai participé à une autre mission d'échantillonnage d'ADNe aux Calanques de Marseille. Au cours de cette mission, un échantillonnage d'ADNe en surface a été réalisé le long de l'île de Riou ainsi que des premiers tests du planeur sous-marin SeaExplorer pour réaliser des échantillonnages d'ADNe en profondeur (*Figure 2.5*). Ce planeur sous-marin a été développé par l'entreprise ALSEAMAR. Le planeur a réalisé une filtration d'eau à 70m de profondeur. Je n'ai pas analysé les données d'échantillonnage d'ADNe issu de la filtration d'eau du planeur sous-marin mais j'ai utilisé les données d'échantillonnage de surface.



Figure 2.5. Planeur sous-marin SeaExplorer utilisé pour réaliser un échantillonnage d'ADNe. Crédit A. Duhamet

b) Réserve de Banyuls-Cerbère

J'ai participé à une mission d'échantillonnage d'ADNe dans la réserve marine de Cerbère-Banyuls. Cette mission a été financée par l'Agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse. Elle a consisté en des filtrations d'eau réalisées simultanément en surface et en plongée à 15m de profondeur (*Figure 2.6*). Ces filtrations ont été réalisées pendant 3 journées en début de matinée et en fin d'après-midi. Cette mission avait deux objectifs principaux. Le premier était de déterminer si l'heure de filtration influence la détection d'espèces. Le

deuxième est de savoir si une filtration près du substrat en plongée à 15m permettait une meilleure détection des espèces qu'une filtration effectuée depuis la surface. Je n'ai pas été chargée de ces analyses mais j'ai inclus ces données dans les travaux de modélisation que j'ai réalisés dans les **chapitres 3** et **4** de ma thèse.

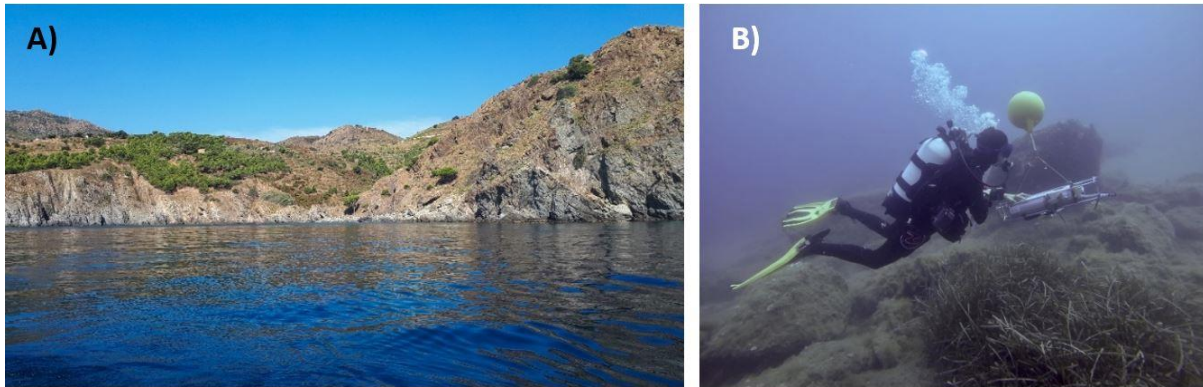


Figure 2.6. Mission d'échantillonnage dans la réserve marine de Cerbère-Banyuls. A) Cœur de la réserve marine de Cerbère-Banyuls. B) Échantillonnage d'ADNe en plongée dans la réserve de Cerbère-Banyuls. Crédits : (A) A. Duhamet, (B) A. Dalongeville.

4) Metabarcoding des échantillons d'ADNe

Les échantillons sont envoyés à l'entreprise Spygen qui effectue les traitements en laboratoire. L'ADN est extrait des filtres dans une salle dédiée avec renouvellement d'air fréquent, traitement UV et désinfection entre chaque manipulation pour éviter tout risque de contamination.

L'ADN extrait est ensuite amplifié par réaction en chaîne par polymérase (*Polymerase Chain Reaction* ; PCR) en utilisant les amorces *teleo* (Valentini et al., 2016) ciblant un fragment d'une soixantaine de paires de base situé à la fin du gène mitochondrial 12S. L'amorce « sens » Teleo-F est ACACCGCCCGTCACTCT et l'amorce « anti-sens » Teleo-R est CTTCCGGTACTTACCATG.

Les PCR sont constituées de plusieurs étapes :

- 1) Dénaturation à 95°C pendant 10 minutes
- 2) 50 cycles de 30 secondes à 95°C, 30 secondes à 55°C et 1 minutes à 72°C

3) Elongation à 72°C pendant 7 minutes

12 PCR sont réalisées sur chaque échantillon afin de permettre la détection d'espèces rares.

Une étape de multiplexage est ensuite réalisée. Elle consiste à ajouter à chaque séquence d'un réplicat PCR d'un échantillon une série de nucléotides unique et connue appelée « étiquette » ou « tag ». Ces étiquettes permettront de pouvoir ré-assigner les séquences à leur échantillon d'origine après le séquençage.

La préparation des librairies et le séquençage sont ensuite effectués par l'entreprise FASTERIS. Les librairies sont préparées par ligation des adaptateurs de séquençage et des index de librairies (Bohmann et al., 2022). Un séquençage Illumina en « double lecture » (« *paired-end* ») est réalisé. C'est-à-dire que chaque amplicon est lu à la fois dans le sens 5'-3' et 3'-5'.

5) Analyses bio-informatiques

Plusieurs traitements bio-informatiques doivent être réalisés pour obtenir une liste d'espèces au lieu d'échantillonnage à partir des données de séquençage d'ADNe. Voici les différentes étapes réalisées :

- 1) **Assemblage** : Au cours de cette étape, les séquences « sens » et « anti-sens » produites lors du séquençage en « double lecture » (« *paired-end* ») sont assemblées pour reconstituer le barcode.
- 2) **Démultiplexage** : Lors de cette étape, chaque séquence est assignée à un échantillon grâce à ses « étiquettes » et les étiquettes et amorces PCR sont éliminées.
- 3) **Dé-réplication** : Dans cette étape, les séquences 100% identiques au sein d'un échantillon sont comptées et une seule est conservée.
- 4) **Nettoyage des erreurs** : Cette étape consiste à détecter et éliminer les séquences issues d'erreurs de PCR et de séquençage.

- 5) **Assignment taxonomique** : Les séquences obtenues sont comparées à celles présentes dans la base de référence afin de les assigner à un taxon. Si la base de référence n'est pas complète ou si une séquence correspond à plusieurs espèces (c'est-à-dire que le marqueur n'est pas suffisamment résolutif), l'algorithme du plus proche ancêtre commun (Lower Common Ancestor, LCA, Aho et al., 1976) assigne au rang taxonomique le plus précis (Genre, Famille).

Deux autres filtres sont réalisés sur les données afin de limiter les erreurs pouvant conduire à des fausses présences d'espèces dans les échantillons :

- Les séquences issues d'une mauvaise assignation à un échantillon au cours du démultiplexage à cause du « *tag-jump* » (Schnell et al., 2015), c'est-à-dire à cause d'une contamination des tags lors de la construction des librairies, sont éliminées.
- Les séquences issues d'*Index-hopping*, c'est-à-dire de contaminations entre librairies sont également éliminées.
- Les séquences en trop faible nombre sont éliminées. Dans les études présentées ici le seuil a été fixé à 10 lectures (« *reads* »).

Ces analyses bio-informatiques ont été réalisées par Spygen.

6) Base de référence

Pour pouvoir assigner une séquence à une espèce, une base de référence est nécessaire. Or, les bases de références génétiques disponibles restent encore largement incomplètes (Marques et al., 2021). Un important travail a été réalisé au cours des dernières années par le laboratoire du CEFE en collaboration avec différents partenaires pour l'échantillonnage des tissus (ETH, MARBEC) pour compléter cette base de référence. J'ai personnellement participé à l'extraction et l'amplification des séquences des échantillons de tissus de 30 espèces de chondrichthyens. Les échantillons de tissus proviennent de spécimens de l'aquarium de Valence en Espagne et ont été conservés dans de l'éthanol 96°. L'ADN a été extrait avec le kit Qiagen DNeasy Blood & Tissue (*Figure 2.7. A*). Après extraction, l'ADN a été amplifié par PCR en utilisant l'amorces « sens » VO5F898 (AAACTCGTGCCAGCCACC) et

l'amorce « antisens » *teleo*-R (CTTCCGGTACACTTACCATG) ciblant une région d'environ 700 paires de bases du gène mitochondrial 12S (*Figure 2.7. B*).

La qualité de l'extraction et de l'amplification est ensuite vérifiée grâce à une électrophorèse sur gel d'agarose (*Figure 2.7. C*). Les échantillons sont ensuite séquencés par la méthode de Sanger et les chromatogrammes sont analysés grâce au logiciel Geneious ©.

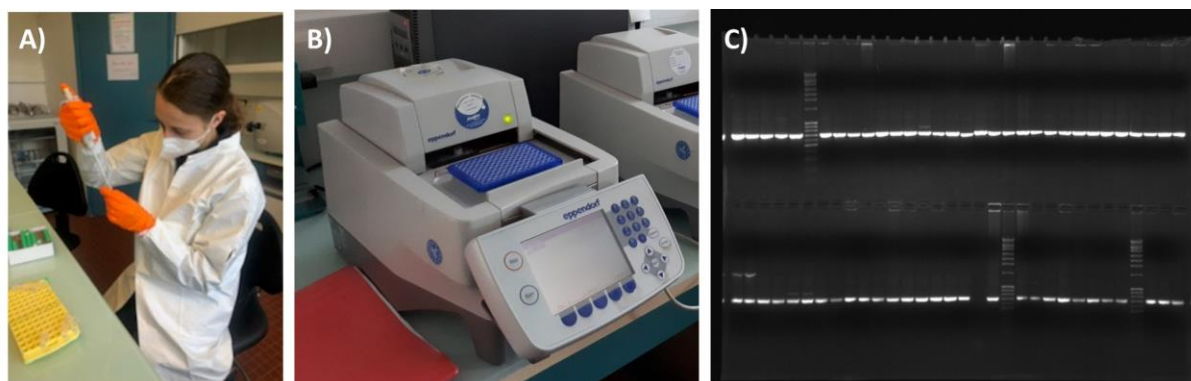


Figure 2.7. A) Extraction d'ADN, B) Thermocycleur utilisé pour amplifier l'ADN extrait, C) Electrophorèse sur gel d'agarose. Crédits : (A) F. Pichot, (B et C) A. Duhamet.

7) Analyses de données

Dans le **chapitre 2**, j'ai étudié les patrons globaux de distribution géographique et bathymétrique de 10 826 espèces d'actinoptérygiens et 960 espèces de chondrichthyens en utilisant les données provenant de Fishbase et OBIS (Ocean Biodiversity Information System). J'ai ainsi pu estimer la richesse spécifique à chaque profondeur et dans chaque océan. Une diversité β a également pu être calculée entre couches bathymétriques. J'ai ensuite analysé la disponibilité des séquences des marqueurs mitochondriaux 12S *teleo* (Valentini et al., 2016) et *MiFish-U/E* (Miya et al., 2015) dans les bases de données génétiques publiques en réalisant des PCR *in silico* avec l'outil *ecoPCR* du programme Obitools (Boyer et al., 2016).

Dans le **chapitre 3** j'ai utilisé les échantillons d'ADNe collectés le long des côtes méditerranéennes françaises de 2018 à 2021. J'ai employé des modèles linéaires généralisés à effet mixte (GLMM) avec la fonction *fitme* du package R spaMM (Rousset & Ferdy, 2014) afin de déterminer l'effet de la protection des réserves et du confinement Covid-19 du printemps 2020 sur les différentes espèces de poissons. Ces modèles tiennent compte des variables environnementales telles que le type et la diversité d'habitat, la profondeur, la

distance à la côte, la température et la productivité primaire aux sites d'échantillonnage. L'autocorrélation spatiale est prise en compte dans ces modèles en utilisant la fonction de covariance de Matérn.

Dans le **chapitre 4** j'ai analysé les données d'échantillonnage d'ADNe réalisés le long des côtes méditerranéennes françaises de 2018 à 2022. J'ai modélisé la répartition de 120 espèces de poissons en utilisant un modèle jSDM (joint Species Distribution Model) avec le package sjSDM (Pichler & Hartig, 2021). Ce modèle prend en compte les variables environnementales telles que le type d'habitat et la profondeur tout en intégrant les interactions entre espèces et l'autocorrélation spatiale. A partir de ces résultats de répartition j'ai utilisé un algorithme implémenté dans le package prioritizr (Hanson et al., 2023) permettant de déterminer les zones à inclure en priorité dans un plan de conservation.

Chapitre 2

Répartition bathymétrique et spatiale des espèces de poissons à l'échelle mondiale et disponibilité des séquences dans les bases génétiques publiques pour le metabarcoding de l'ADNe



Baudroie commune *Lophius piscatorius*

Préface

La distribution géographique et bathymétrique des espèces marines représente une information clé pour la conservation des écosystèmes puisque les efforts de protection devraient couvrir la plupart des niches environnementales de chacune d'entre elles. Cependant, la connaissance de cette distribution reste actuellement limitée. C'est particulièrement le cas pour les zones mésophotiques (30-150m) et les grands fonds marins dont la biodiversité reste encore largement méconnue alors qu'ils sont de plus en plus menacés par les pressions anthropiques et le changement climatique (Danovaro et al., 2020). Ce manque de connaissance est principalement dû à leur inaccessibilité et au manque d'outils de suivi des espèces appropriés pour ces écosystèmes. Le *metabarcoding* de l'ADN environnemental (ADNe) est une approche non invasive prometteuse pour étudier la biodiversité des poissons marins. Elle présente un fort potentiel pour l'étude de la biodiversité des poissons des milieux profonds (McClenaghan et al., 2020) car elle permet de surmonter la plupart des difficultés inhérentes aux méthodes classiques. Cependant, l'une des principales limites à l'application de cette méthode est le manque de séquences disponibles dans les bases de données génétiques publiques qui réduit l'étendue des espèces détectées (Marques, Milhau, et al., 2021).

Ce chapitre vise à établir une synthèse des connaissances actuelles de la distribution géographique et bathymétrique de 10 826 espèces d'actinoptérygiens et 960 espèces de chondrichthyens ainsi que leur statut de conservation et la disponibilité des séquences des principaux marqueurs mitochondriaux 12S de *metabarcoding* de l'ADNe actuellement utilisés, *teleo* (Valentini et al., 2016) et *MiFish-U/E* (Miya et al., 2015), dans les bases de données génétiques publiques. La pertinence de ces marqueurs pour étudier les poissons des zones profondes a également été testée au travers du décompte de mésappariements sur les amorces PCR.

Les résultats révèlent, et de manière encore plus marquée chez les actinoptérygiens, une importante diminution de la richesse spécifique avec l'augmentation de la profondeur dans l'ensemble des mers et océans. La composition des communautés change progressivement en fonction de la profondeur. A partir des analyses du nombre de mésappariements sur les amorces, les marqueurs étudiés semblent pertinents pour la

détection des espèces des milieux profonds. Cependant, les espèces « endémiques des profondeurs », c'est-à-dire celles qui ne remontent pas jusqu'à la couche de faible profondeur (0-30 m), sont moins séquencées que les autres. De même, les espèces dont le statut de conservation n'est pas connu sont peu couvertes par les bases génétiques publiques.

Cette étude souligne l'importance de protéger les écosystèmes des différentes profondeurs et met en avant la nécessité d'augmenter l'effort de séquençage des espèces « endémiques des profondeurs » et des espèces ayant un statut de conservation inconnu pour améliorer leur suivi via le *metabarcoding* de l'ADNe.

Manuscrit A

Publié dans *Ecology and Evolution* :

Duhamet, A., Albouy, C., Marques, V., Manel, S., & Mouillot, D. (2023). The global depth range of marine fishes and their genetic coverage for environmental DNA metabarcoding. *Ecology and Evolution*, 13, e9672. <https://doi.org/10.1002/ece3.9672>

The global depth range of marine fishes and their genetic coverage for environmental DNA metabarcoding

Agnès Duhamet^{1,2}  | Camille Albouy^{3,4} | Virginie Marques^{3,4} | Stephanie Manel² | David Mouillot^{1,5}

¹MARBEC, Univ Montpellier, CNRS, IRD, Ifremer, Montpellier, France

²CEFE, Univ Montpellier, CNRS, EPHE-PSL University, IRD, Montpellier, France

³Ecosystem and Landscape Evolution, Institute of Terrestrial Ecosystems, Department of Environmental Systems Science, ETH Zürich, Zürich, Switzerland

⁴Unit of Land Change Science, Swiss Federal Research Institute WSL, Birmensdorf, Switzerland

⁵Institut Universitaire de France, Paris, France

Correspondence

Agnès Duhamet, MARBEC, Univ Montpellier, CNRS, IRD, Ifremer, Montpellier, France.
Email: agnes.duhamet@gmail.com

Abstract

The bathymetric and geographical distribution of marine species represent a key information in biodiversity conservation. Yet, deep-sea ecosystems are among the least explored on Earth and are increasingly impacted by human activities. Environmental DNA (eDNA) metabarcoding has emerged as a promising method to study fish biodiversity but applications to the deep-sea are still scarce. A major limitation in the application of eDNA metabarcoding is the incompleteness of species sequences available in public genetic databases which reduces the extent of detected species. This incompleteness by depth is still unknown. Here, we built the global bathymetric and geographical distribution of 10,826 actinopterygian and 960 chondrichthyan fish species. We assessed their genetic coverage by depth and by ocean for three main metabarcoding markers used in the literature: teleo and MiFish-U/E. We also estimated the number of primer mismatches per species amplified by in silico polymerase chain reaction which influence the probability of species detection. Actinopterygians show a stronger decrease in species richness with depth than Chondrichthyans. These richness gradients are accompanied by a continuous species turnover between depths. Fish species coverage with the MiFish-U/E markers is higher than with teleo while threatened species are more sequenced than the others. "Deep-endemic" species, those not ascending to the shallow depth layer, are less sequenced than not threatened species. The number of primer mismatches is not higher for deep-sea species than for shallower ones. eDNA metabarcoding is promising for species detection in the deep-sea to better account for the 3-dimensional structure of the ocean in marine biodiversity monitoring and conservation. However, we argue that sequencing efforts on "deep-endemic" species are needed.

KEYWORDS

deep-sea, depth range, environmental DNA, genetic reference database, marine fishes, metabarcoding markers

TAXONOMY CLASSIFICATION

Applied ecology, Biodiversity ecology, Conservation ecology

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2023 The Authors. *Ecology and Evolution* published by John Wiley & Sons Ltd.

1 | INTRODUCTION

The deep-sea (>200m depth) represents the largest biome on Earth (>65% of the Earth's surface, and >95% of the world's ocean volume) but is also the least explored with many undescribed species (Danovaro et al., 2020). Yet, despite the inherent difficulty of accessing this environment, the deep-sea is increasingly threatened by multiple direct and indirect anthropogenic threats (Danovaro et al., 2020; Ramirez-Llodra et al., 2011) such as fisheries (Clark et al., 2016), climate change (Levin & Le Bris, 2015), pollution (Jamieson et al., 2017), and hydrocarbon extraction or mining (Gollner et al., 2017; Jones et al., 2017). For example, there is a growing interest in harvesting the mineral deep-sea resources to sustain "blue growth" and economic development (Wedding et al., 2015). However, these ecosystems are particularly sensitive to anthropogenic pressures (Niner et al., 2018). Indeed, the deep-sea environment is considered as being largely pristine, slow to recover and hosting a high number of rare and threatened species (Niner et al., 2018; Sigwart et al., 2019). Anthropogenic pressures jeopardize biodiversity and ecosystem services provided by the deep-sea such as the regulation of greenhouse gases, sea surface and atmospheric temperature or pollutants (Armstrong et al., 2012). In this context, the diversity of deep benthic and pelagic biota may experience a silent erosion with unknown consequences (Costello et al., 2012; Danovaro et al., 2014; Webb et al., 2010).

Deep-sea ecosystem knowledge has been revolutionized by the discovery of high productivity habitats, such as seamounts (Clark et al., 2010) or chemosynthetic environments (Jannasch, 1985). Recent investigations have revealed that deep-sea ecosystems are richer in species and more structured than previously thought owing to complex evolutionary history with multiple points of origin and radiations that may have been influenced by fluctuation of oxygen availability and temperature but also local patterns of oceanic circulation and habitat complexity (Danovaro et al., 2014; McClain & Hardy, 2010; Miller et al., 2022). Species composition varies widely along the water column and some species only occur at particular depths (Lesser et al., 2019; Macdonald et al., 2016; Stefanoudis, Gress, et al., 2019; Stefanoudis, Rivers, et al., 2019). For example, Lined hogfish (*Bodianus leucosticticus*) is a typical mesophotic fish living between 50- and 75-m depth (Rocha et al., 2018). This information is key in conservation, particularly for the design and monitoring of Marine Protected Areas (MPAs) that should cover most species habitats and environments (Hanson et al., 2020) beyond the basic target of spatial coverage (10% in 2020 and 30% in 2030 for the marine realm) to safeguard or rebuild biodiversity (Duarte et al., 2020). So, marine conservation planning urgently needs to take into account the 3-dimensional nature of the oceans and deep-sea ecosystems (Levin et al., 2017). However, even if we have accumulated a large amount of knowledge on deep-sea ecosystems in the last 130 years (McClain & Hardy, 2010; Paulus, 2021), we still misunderstand how their biodiversity is distributed due to its inaccessibility and large water volume (Everett & Park, 2018; Ramirez-Llodra et al., 2011). Indeed, visual surveys with cameras are

limited while fisheries data are often unreliable, biased, opportunistic, and sometimes forbidden in the deep-sea (Rourke et al., 2022; Wormuth & Roper, 1983). Rare, elusive and cryptobenthic species are less detected than the others with these methods (Boussarie et al., 2018; Bozec et al., 2011). Furthermore, the use of Remotely Operated Vessels and Autonomous Underwater Vehicles in deep-sea research remains too expensive and limited in space and time (Canals et al., 2021). Thus, new methods are urgently needed to fill this knowledge gap and monitor these deep-sea and mesophotic ecosystems facing increasing disturbances (Paulus, 2021).

Environmental DNA metabarcoding has recently emerged as a promising non-invasive approach to survey many marine taxa, complementing and often outperforming traditional inventory methods for detecting a wide breadth of species or Molecular Operational Taxonomic Units (MOTUs; e.g., Boussarie et al., 2018; Miya, 2022; Polanco Fernández, Marques, et al., 2021). Traditional methods like fishing nets and visual surveys are relevant to analyze fish size, maturity stage, abundance and behavior (McLean et al., 2018), while eDNA metabarcoding is complementary to these methods by improving species detection (Paulus, 2021; Ruppert et al., 2019). Environmental DNA (eDNA) is the DNA released by organisms in their environment through their mucus, shed skins or feces. eDNA is retrieved by water filtering and then analyzed using metabarcoding. For that, eDNA is amplified by Polymerase Chain Reaction (PCR) using markers designed to target different taxonomic groups (Ficetola et al., 2008; Miya, 2022). The amplified DNA fragments are sequenced and then assigned to species or taxa using available genetic databases (e.g., European Nucleotide Archive (ENA); Taberlet et al., 2012). eDNA metabarcoding has high potential to study and reveal deep-sea biodiversity since it overcomes most difficulties inherent to classical methods (Brandt et al., 2021; Govindarajan et al., 2021; McClenaghan et al., 2020). For example, Visser et al. (2021) described deep-sea cephalopod communities along the water column (between 50 and 1600m depth) around Terceira Island using eDNA metabarcoding. Thomsen et al. (2016) demonstrated that eDNA metabarcoding can efficiently detect marine fishes in deep oceanic habitats. Moreover, Canals et al. (2021) used environmental DNA to assess fish species-specific vertical distributions and movements through the water column such as the diel migratory behavior of some mesopelagic species. However, the major limitation to the large-scale application of eDNA inventories is the incompleteness of species sequences available in public genetic databases which reduces the breadth of detected taxa (Deiner et al., 2017; Marques et al., 2021; Mathon et al., 2022; Ruppert et al., 2019). These knowledge gaps are particularly striking in megadiverse regions such as the neotropics where even well-documented taxa such as marine fishes are poorly documented in genetic reference databases (Juhel et al., 2020). This is a major concern since fishes are among the most threatened vertebrates on Earth, particularly Chondrichthyes (Dulvy et al., 2021). Another limitation is the affinity of primers to the target sequences. Some species are well amplified by PCR with the selected metabarcoding markers while others are unlikely to be amplified due to mismatches between

primers and target sequences reducing their detection probability (Elbrecht et al., 2018).

Thus, while the potential of deep-sea eDNA metabarcoding to reveal new biodiversity patterns and refugia remains unachieved, it has the potential to drive new management actions or MPA establishments to reach conservation targets (Maxwell et al., 2020). Moreover, to our knowledge, neither the distribution of fish species richness (Actinopterygii and Chondrichthyes) nor their turnover according to depth (from shallow to bathypelagic layers) has ever been assessed at global scale. Such differences can be estimated through the number of species occupying a given depth (α -diversity) but also by the turnover in species composition between depths (β -diversity; Mittelbach & McGill, 2019). Here we took advantage of online resources such as FishBase (Froese & Pauly, 2022) and Ocean Biogeographic Information and System (OBIS, 2018) to build a global database of fish species depth range. Then, we assessed species genetic coverage by depth and oceanic basin for the three principal 12S mitochondrial primer pairs used in the literature: teleo (Valentini et al., 2016), MiFish-U and MiFish-E (Miya et al., 2015) which perform well to monitor fish biodiversity (Polanco Fernández, Richards, et al., 2021). The region targeted by the teleo primer pair is around 60bp in length and is located at the end of the 12S mtDNA (Valentini et al., 2016). The region targeted by MiFish-U primer pair is around 170bp located at the beginning of the 12S mtDNA and is designed for actinopterygian sequence amplification (Miya et al., 2015). MiFish-E primer pair targets the same region as MiFish-U but is designed for chondrichthyan sequence amplification (Miya et al., 2015). We completed this study by analyzing primer affinity through the number of mismatches between each target sequence and the forward and reverse primers of each metabarcoding marker.

2 | METHODS

2.1 | Geographic distribution, depth range and IUCN status of marine fishes

Albouy et al. (2019) extracted the occurrence data (spanning the period 1826–2013) of 12,865 marine actinopterygian species from the OBIS database (<https://obis.org>) to construct their distribution map. These spatial data were structured on a 1° global grid. For Chondrichthyes, we used the Spatial Data & Mapping Resources of the IUCN Red List (downloaded in September 2021) containing polygons for 1127 marine Chondrichthyes species. We overlapped these polygons with a 1° resolution spatial grid, allowing us to determine species presence or absence in each 1° cell. We checked and updated all fish names using the WoRMS website (<https://www.marinespecies.org>) as the unique reference.

We retrieved the depth range of these marine fish species from FishBase (<https://www.fishbase.se>) in March 2022. Depth range was fully documented on FishBase for 9083 of these actinopterygian and 870 of these chondrichthyan species. To complete the minimum or maximum depth for the remaining fish species, we collected their

occurrences from the OBIS database and intersected these occurrences with the bathymetric grid (etopo 1; NOAA, 2009) to determine the 1% and 99% quantiles of the bathymetric distribution for each species with at least 20 occurrences. We set these thresholds to avoid extreme, and sometimes unrealistic, values which can bias the estimation of species depth ranges.

Then, we applied different strategies to implement the missing depth range values. For demersal species, we considered 1% and 99% quantiles as the maximum and minimum depth, respectively. For bathydemersal species, we added the condition that the minimum depth had to be equal or deeper than 200m. For reef-associated species, we added the condition that the maximum depth had to be equal or shallower than 200m. For bathypelagic species, the minimum depth had to be equal or deeper than 1000m. For pelagic-oceanic and benthopelagic species, we considered that the depth range is between the surface (0 m) and the 1% quantile. For pelagic-neritic species, we added the condition that the maximum depth range had to be equal or shallower than 200m. By applying these rules, we completed the bathymetric information for 1743 actinopterygian and 90 chondrichthyan species.

We downloaded the species IUCN red list status in September 2021 using the R package "rredlist" (Chamberlain, 2018) to assess the bathymetric distribution of threatened species and their genetic sequence coverage for eDNA metabarcoding according to depth. We grouped together Near Threatened, Vulnerable, Endangered and Critically endangered in one category called Threatened/Near Threatened (THR). Each species was assigned to one of these four IUCN Red list categories: Data Deficient (DD; for which data are insufficient to evaluate their conservation status), Not evaluated (NE), Least Concern (LC) and THR. There are no NE Chondrichthyes in our dataset because the Spatial Data & Mapping Resources of the IUCN Red List dataset only contains evaluated species.

2.2 | α - and β -diversity

We estimated the number of species for each meter depth between 0 and 4000 m to obtain a vertical gradient of α -diversity for all Actinopterygii and Chondrichthyes but also for each ocean (Figure S1). Next, we coupled this information with the IUCN Red List to assess the proportion of THR, LC, NE and DD species by depth. We partitioned the whole potential bathymetric range into five depth layers to study fish species composition changes according to depth: shallow (0–29 m), mesophotic (30–149 m), rariphotic (150–299 m; Baldwin et al., 2018), mesopelagic (300–999 m), and bathypelagic (1000–4000 m) depth layers (Figure S2). The bathymetric depth range was chosen to match with both coastal and pelagic environments.

We recorded the presence/absence of each species in each of these depth layers. To investigate compositional change, we used the two components of β -diversity: (i) species turnover, which represents the replacement of species between depths and (ii) species nestedness, where depths with lower species richness would be subsets of

those with higher species richness (Baselga, 2010). We calculated the turnover and nestedness components of β -diversity by comparing the species composition of each pair of bathymetric ranges (e.g., Rocha et al., 2018). We used the Simpson pairwise dissimilarity index to calculate the turnover component and the nestedness-fraction of the Sorensen pairwise dissimilarity with the R function `beta.pair` of the "Betapart" package (Baselga & Orme, 2012).

2.3 | Species genetic sequence coverage

For the species genetic gap analysis, we considered 10,826 Actinopterygii species (61% of all marine Actinopterygii recorded in WoRMS) and 960 Chondrichthyes species (74% of all marine Chondrichthyes recorded in WoRMS) for which we have completed spatial and bathymetric information.

We downloaded the public genetic reference database ENA (Kanz et al., 2005) in June 2021 that we converted using *obiconvert* and extracted the sequences by in silico PCR using the *ecoPCR* from Obitools toolkit (Boyer et al., 2016) for the three markers: *teleo* (*teleo* forward primer—ACACGCGCCGTCCTCT, *teleo* reverse primer—CTTCCGGTACACTTACCATG; Valentini et al., 2016), *MiFish-U* (*MiFish-U* forward primer—GTCGGTAAACTCGTGCCAGC, *MiFish-U* reverse primer—CATAGTGGGGTATCTAATCCAGTTTG) and *MiFish-E* (*MiFish-E* forward primer—GTTGGTAAATCTCGTCCAGC, *MiFish-E* reverse primer—CATAGTGGGGTATCTAATCTAGTTTG; Miya et al., 2015) primer pairs. In silico PCRs are simulated PCR based on primer affinity for sequences. We allowed up to three mismatches on forward and reverse primers using *ecoPCR*. With this approach, we can only extract sequences which include the primer binding sites. Sequence entries which lack the primer binding sites cannot be extracted which might lead to an underestimation of species genetic coverage. To circumvent this issue, we complemented the *ecoPCR* output from the ENA database with a custom published database (Miya et al., 2020) for both *MiFish-U* and *-E* markers since many sequences were available online and accessible via BLAST but could not be extracted using *ecoPCR* due to the lack of primer binding sites.

We then extracted the number of primer mismatches on each primer for each sequence obtained, except those from the custom *MiFish* database since primer sequences were not available. If there was some variability in the number of mismatches between individuals of the same species, we considered the one with the highest number of mismatches in a conservative approach. We compared all species amplified by the three primer pairs to fish checklists of the Atlantic, Indian, Pacific and Polar oceans, but also Mediterranean and Black seas and southeast Asia seas (Figure S1) to obtain the percentage of species sequenced by ocean or sea and depth (between 0 and 4000m) for all primers. At each depth, we assessed the proportion of species with 0, 1, 2 or 3 mismatches on the forward and/or reverse primer *teleo*, *MiFish-U* and *MiFish-E* sequences amplified by in silico PCRs to estimate primer affinity, which influences the probability of sequence amplification.

Some species are "depth generalist", i.e., they are recorded in the surface as well as in deeper layers. Other species, coined as "deep-endemic" species in our study, are the one that have never been recorded in the shallow depth layer. To evaluate the genetic coverage of those "deep-endemic" species, we classified each species according to their ability to ascend to a specific depth. This specific depth represents the minimal depth at which a given species can live.

3 | RESULTS

3.1 | Global bathymetric distribution of fish species

At the global scale, the number of Actinopterygii species is highest in the first 20m where it reaches circa 6000 species and drops rapidly with increasing depth to reach around 300 species at 4000m (Figure 1a). The number of Chondrichthyes also decreases with increasing depth but more slowly (Figure 1b). At 1000m, four times fewer actinopterygian species are recorded compared with the first few meters. In comparison, only two times less chondrichthyan species are recorded at 1000m compared with the first meters. This pattern is shared by the different oceans and seas considered in our study (Figure 1c,d). Yet, the decrease in fish species richness with depth is less marked for the polar oceans and the Mediterranean and Black seas. The difference in species richness between oceans is greater for shallow waters than for deep waters (Figure 1c,d).

The proportion of Actinopterygian species classified as THR from the IUCN red list is low at all depths (between 1% and 3% of species), but the proportion of DD species and NE species is high, with a maximum value of 40% at 250m depth (Figure 1e). Contrary to Actinopterygii, the proportion of THR Chondrichthyes is very high while the proportion of DD species is low. The proportion of THR species decreases continuously between shallow (65%) and 1000m depth (25%; Figure 1f). Below 2500m the number of Chondrichthyes species is too low to make any interpretation.

This expected drop in species richness with increasing depth, which explains the nestedness component of β -diversity, is accompanied by a species turnover ranging between 0.13 and 0.59 for Actinopterygii and between 0.08 and 0.8 for Chondrichthyes (Figure 2). The highest turnover values between neighbor depth layers are observed between the rariphotic and mesopelagic layers for both Actinopterygii and Chondrichthyes but also between mesophotic and rariphotic layers for Chondrichthyes, suggesting that the rariphotic layer acts as a major boundary in the ocean. For Actinopterygii, shallow waters also host a unique composition since species turnover with other depth layers ranges between 0.2 and 0.59.

3.2 | Bathymetric distribution of species genetic coverage

The diversity of marine fishes for which we have bathymetric and geographical distribution is not well covered in public genetic

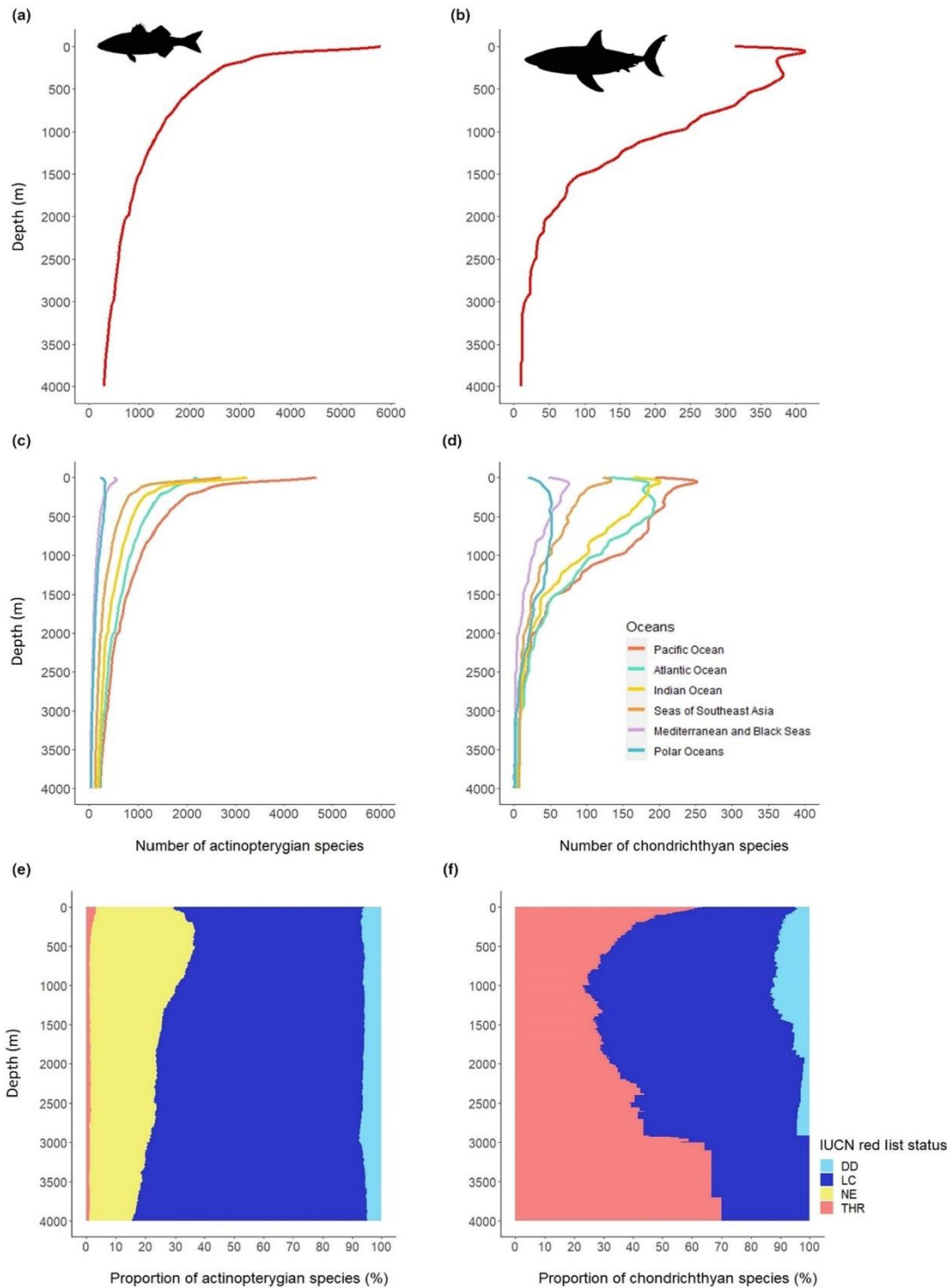


FIGURE 1 Number of (a) actinopterygian species by depth in all the oceans, (b) chondrichthyan species by depth in all the oceans, (c) actinopterygian species by depth and by ocean and (d) chondrichthyan species by depth and by ocean. (e) Proportion of THR, LC, DD and NE actinopterygian species by depth. (f) Proportion of THR, LC, NE and DD chondrichthyan species by depth

20457758, 2023, 1, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ece3.9672 by Cochrane France, Wiley Online Library on [01/10/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

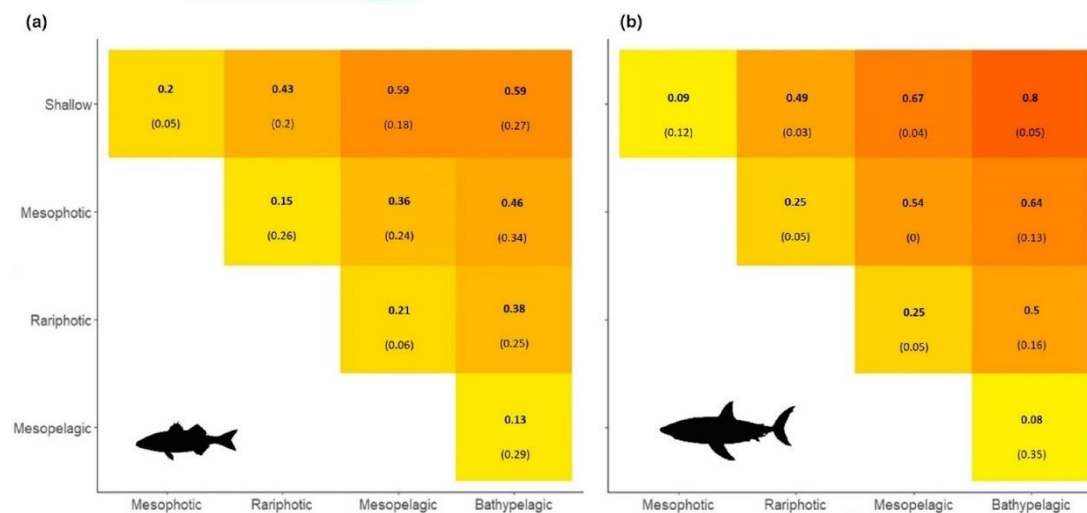


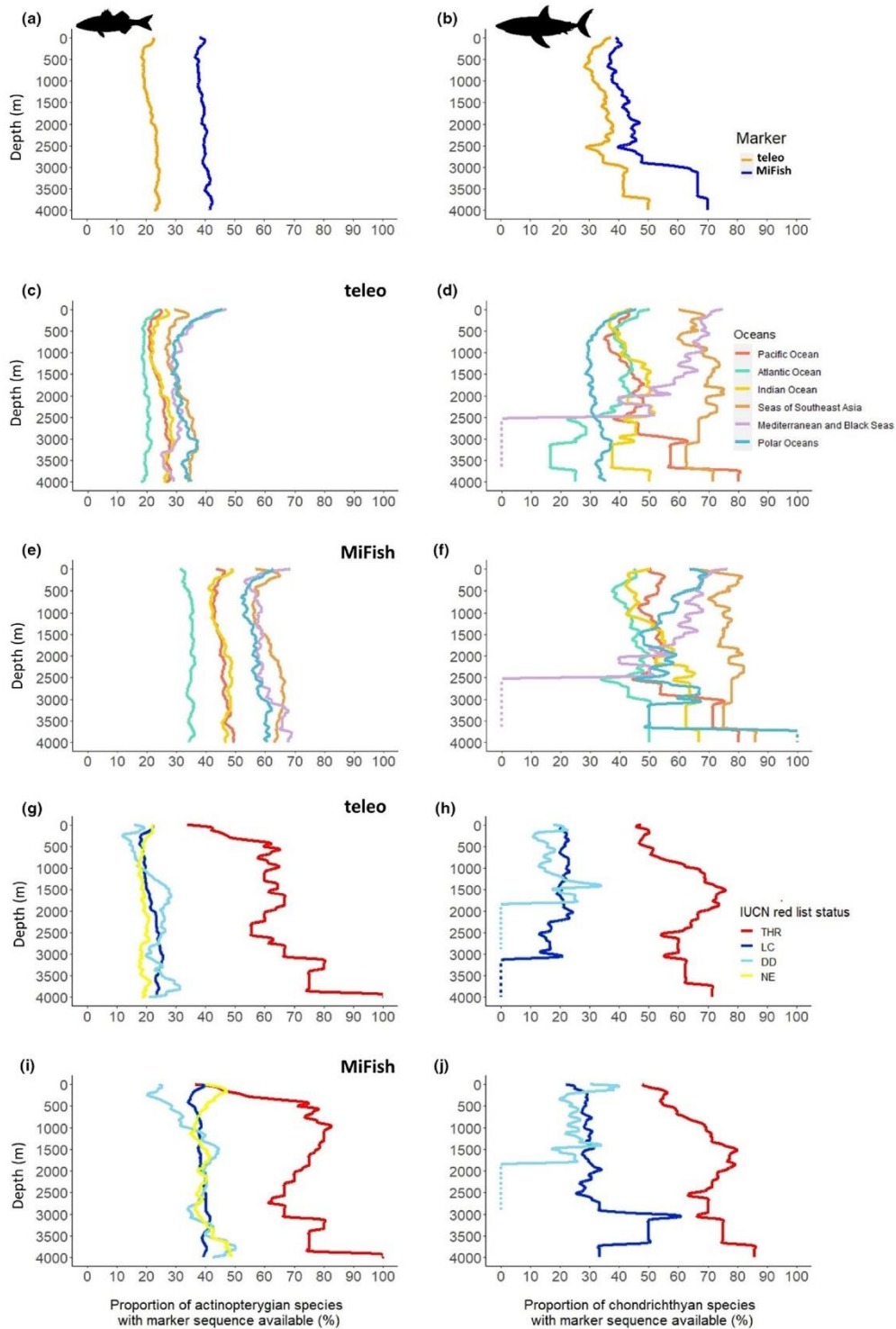
FIGURE 2 Species turnover (numbers in bold, Simpson pairwise dissimilarity) and nestedness components (numbers in brackets, nestedness-fraction of the Sorensen pairwise dissimilarity) of β -diversity for (a) actinopterygii and (b) chondrichthyes between depth layers. The diagonal contains the values of β -diversity components between neighbor depth layers.

databases with 34% (3678 species) and only 18% (1963 species) of Actinopterygii covered by MiFish-U/E and teleo markers, respectively. For Chondrichthyes, species coverage is 29% (282 species) and 25% (237 species), respectively, for the MiFish-U/E and teleo markers. Two times more Actinopterygii species have a sequence available for MiFish compared with teleo in the public genetic database. Across depths, this difference in species genetic coverage remains similar: around 20% for teleo and 40% for MiFish (Figure 3a). For chondrichthyan species, species genetic coverage also remains similar across depths until 2500 m (Figure 3b). Across the oceans, species genetic coverage is weakly influenced by depth except for the teleo marker and Actinopterygii in the Mediterranean and Black Seas and polar oceans where species genetic coverage decreases from 45% to 30% in the first 500 m (Figure 3c-f). The Atlantic Ocean has the lowest species genetic coverage for Actinopterygii. At all depths, species genetic coverage is higher for THR species compared with DD, NE and LC species (Figure 3g-j). For both Actinopterygii and Chondrichthyes, the proportion of THR species with their sequence available increases with depth. For example, the proportion of THR Actinopterygii sequenced for the teleo marker increases from 35% in the first meters to 60% at 500 m depth (Figure 3g) and from 48% in the first meters to 75% at 1500 m depth for MiFish (Figure 3h).

Among Actinopterygii, 7954 species can ascend to the shallow depth range, 1422 species to the mesophotic range, 574 species to the rariphotic range, 672 species to the mesopelagic range and 204 species to the bathypelagic range. Among Chondrichthyes, 441 species can ascend to the shallow depth range, 174 species to the mesophotic range, 127 species to the rariphotic range, 197 species to the mesopelagic range and 21 species to the bathypelagic range. The “deep-endemic” species (species not recorded in the shallow depth layer but only in mesophotic, rariphotic, mesopelagic or bathypelagic layers) are less covered than those that can ascend to the shallow depth range (0–30 m; Figure 4). For Actinopterygii, less than 10% of the 574 species occurring only from rariphotic to deeper layers have a teleo marker sequence available while more than 20% of the 7954 species that can ascend to the shallow depth range have a teleo sequence available (Figure 4a).

For Actinopterygii, the number of mismatches on forward and reverse teleo primers is for almost all species sequenced with around 80% species at all depths having 0 mismatch (Figure 5a,b). For MiFish-U, there are few mismatches on the reverse primer for most species with around 90% having 0 mismatch at all depths but there are more mismatches on the forward primer with around 70% of species having one mismatch and 20% having two or three mismatches at all depths (Figure 5c,d).

FIGURE 3 Genetic database coverage across all depth layers. Proportion of (a) actinopterygian and (b) chondrichthyan species with teleo or MiFish sequence available in the public genetic database. Proportion of (c) actinopterygian and (d) chondrichthyan species with teleo sequence available in the public genetic database per ocean. Proportion of (e) actinopterygian and (f) chondrichthyan species with MiFish sequence available in the public genetic database per ocean. Proportion of THR, LC, NE and DD (g) actinopterygian and (h) chondrichthyan species by depth with teleo sequence available in the public genetic databases. Proportion of THR, LC, NE and DD (i) actinopterygian and (j) chondrichthyan species by depth with MiFish sequence available in the public genetic databases



2045778, 2023, 1, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ece3.3972 by Centrale France, Wiley Online Library on [01/11/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

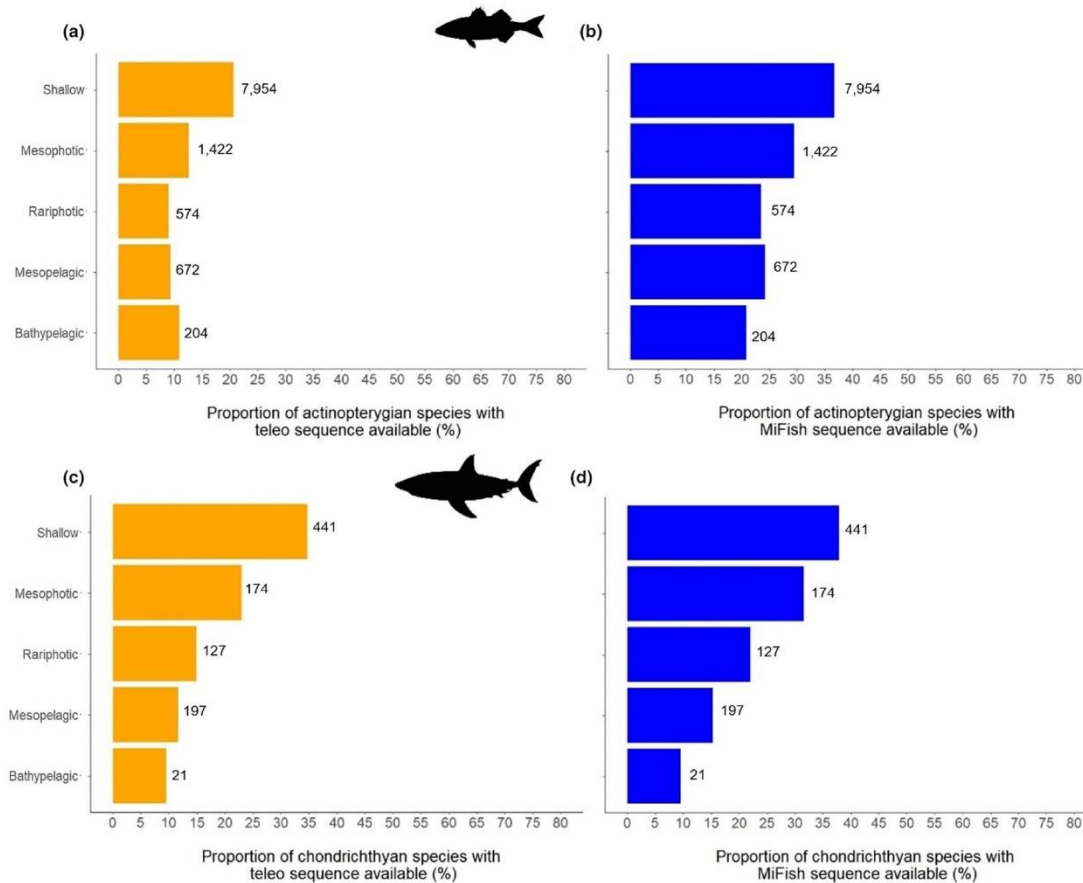


FIGURE 4 Number of actinopterygian species that can ascend to the shallow, mesophotic, rariphotic, mesopelagic or bathypelagic depth layer (number of species on right of the bars) and their coverage (x-axis) in the genetic reference database for the teleo (a) and MiFish (b) markers. Number of chondrichthyan species that can ascend to the shallow, mesophotic, rariphotic, mesopelagic or bathypelagic depth layer (number of species on right of the bars) and their coverage (x-axis) in the genetic reference database for the teleo (c) and MiFish (d) markers.

Actinopterygii species found at low depth do not display more primer mismatches than their shallower counterparts for any marker.

For Chondrichthyes, almost all sequenced species have 0 mismatch on the forward teleo primer while they have 0, 1, 2 or 3 mismatches on the reverse teleo primer (Figure 5e,f). The number of mismatches on the reverse MiFish-E primer is 1 or 2 for almost all sequenced species (Figure 5h) while it ranges between 0 and 3 for most species with only 0 and 1 mismatch for the forward MiFish-E primer. Deep chondrichthyan species do not have more primer mismatches than shallow species for all markers.

4 | DISCUSSION

Our species depth range analysis shows a strong decrease in species richness with increasing depth. This is consistent with the

global pattern observed by Costello and Chaudhary (2017) on all marine taxa combined. At smaller geographical and bathymetric scale, this fish species richness pattern has also been observed around the Bermuda archipelago (Stefanoudis, Gress, et al., 2019) and in the Tsitsikamma National Park Marine Protected Area (South Africa; Heyns-Veale et al., 2016). The strong decrease in actinopterygian and chondrichthyan species richness with increasing depth (Figure 1a,b) can be explained by several phenomena. Firstly, fish species' bathymetric fundamental niche is constrained by their physiological ability to support abiotic conditions of the deep-sea: low temperature, high pressure, scarce food, darkness and low oxygen availability (Spence & Tingley, 2020; Treberg & Speers-Roesch, 2016). Few species might be adapted to these harsh conditions. Secondly, the deep ocean has been underexplored and is under-represented in global databases of marine biological records (Webb et al., 2010). Many deep-sea species

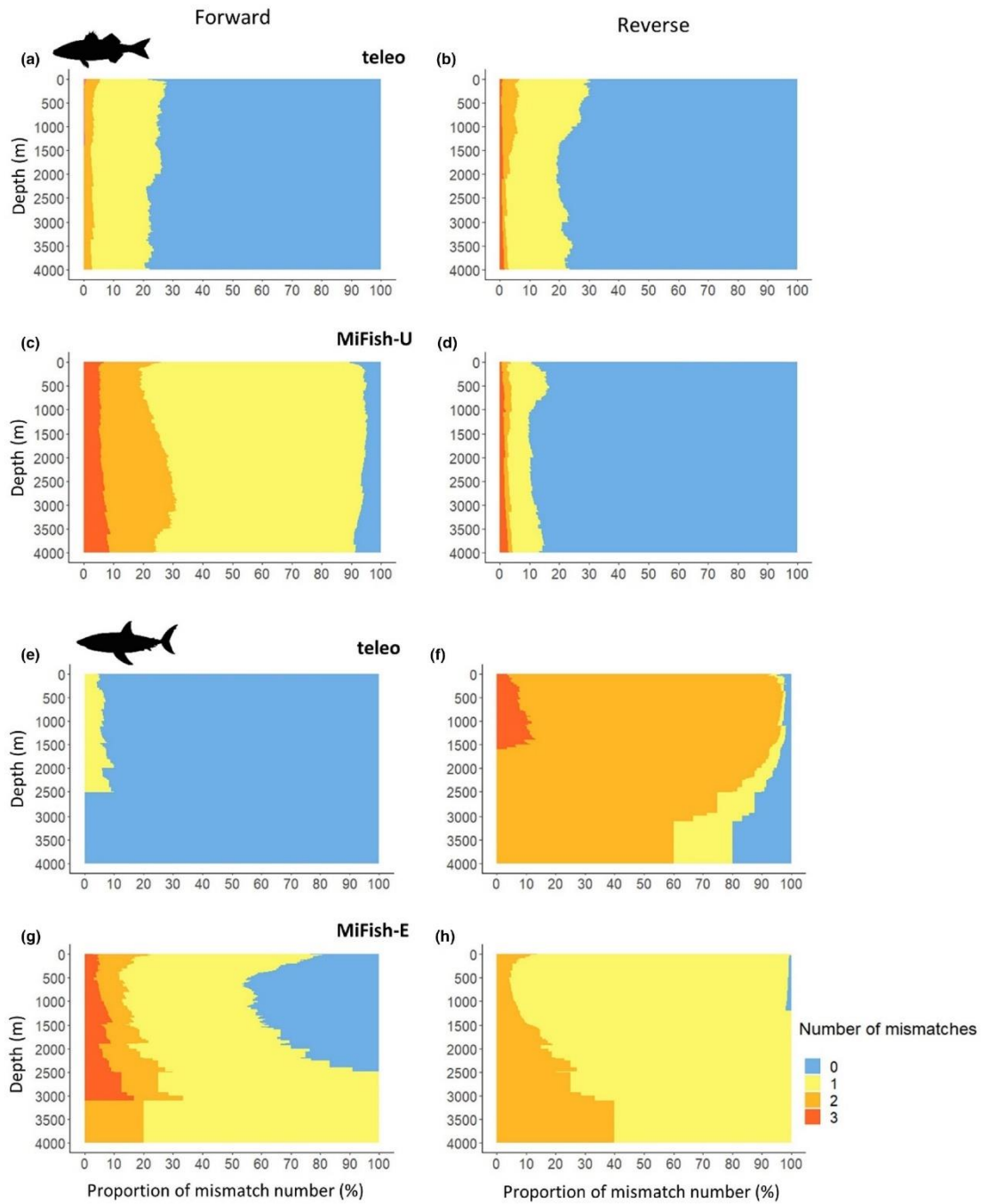


FIGURE 5 Number of primer mismatches for (a) teleo forward primer, (b) teleo reverse primer, (c) MiFish-U forward primer and (d) MiFish-U reverse primer for Actinopterygii. Number of primer mismatches for (e) teleo forward primer, (f) teleo reverse primer, (g) MiFish-E forward primer and (h) MiFish-E reverse primer for Chondrichthyes

20457758, 2023, 1, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ece3.3972 by Cochrane France, Wiley Online Library on [01/10/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

have certainly not yet been discovered (Costello et al., 2012), and the depth range of some known species may have been underestimated. Moreover, these fish biodiversity patterns are not homogeneous among the oceans (Figure 1c,d). Difference in species richness between oceans is much higher at shallow depth than in deep waters. The decrease in fish richness with increasing depth is steeper in the Pacific Ocean, Indian Ocean and seas of southern Asia than in the Polar oceans and in the Mediterranean and Black Seas. It can be partly explained by the development of a complex mosaic of coral reef habitats in shallow waters of tropical regions which has been a major driver of cladogenesis (Cowman & Bellwood, 2011). For example, reef-associated Scaridae (89 species in our data set) and Chaetodontidae (122 species in our data set) families have, respectively, 94% and 77% of their species exclusively living in the first 100m. In addition to the high diversification rate, large-scale spatial patterns of species richness can be explained by the difference in time-for-speciation, related to geological and colonization history (Miller et al., 2018). The present-day actinopterygian species richness bathymetric gradient is the result of ancient diversification and colonization events within deep-sea and shallow habitats over the past 200 million years (Miller et al., 2022).

Conversely to Actinopterygii, Chondrichthyes species richness is still high in the mesophotic and in the rariphotic zones until 400 m depth (Figure 1b,d) but communities change gradually (Figure 2b). As already described (Musick & Cotton, 2015; Priede et al., 2006; Treberg & Speers-Roesch, 2016), we show that this taxonomic group is almost absent in abyssal regions below 3000m and uncommon below 2000m. To explain this observation, Priede et al. (2006) suggest that even if they are well-adapted to life at high pressure, Chondrichthyes are excluded from the abyss because of their high-energy demand which cannot be sustained in abyssal conditions. The proportion of threatened and near threatened chondrichthyan species decreases with increasing depth, suggesting that either deep-sea species have been up to now less impacted by human activities or are just currently unknown to be impacted as the deep-sea remains difficult to monitor and time series are lacking. A quarter of all chondrichthyan species is nevertheless threatened or near threatened at 1000m depth while deep-sea Chondrichthyes are considered as highly vulnerable to fishing since having slow population recovery rates (Simpfendorfer & Kyne, 2009). Deep-sea fishes generally grow slowly, live longer and have later age at maturity and a lower fecundity (Drazen & Haedrich, 2012). These life history traits make them more vulnerable to human disturbances (Mindel et al., 2018). This highlights the importance of protecting shallow waters but also mesophotic and deep-sea layers which have unique fish communities (Levin et al., 2017).

Beyond the level of α -diversity, the amount of species turnover between adjacent depth layers, or β -diversity, is key to the resilience of marine ecosystems owing to connectivity where refugia can act as sources of individuals toward impacted layers (Bongaerts et al., 2010). For instance, it has been shown that mesophotic coral ecosystems can act as a refugia for some exploited species (Lindfield

et al., 2015). Chaikin et al. (2022) describe a deepening shift pattern for Chondrichthyes but a depth range shrinkage when sea surface temperature increases in the Mediterranean Sea, suggesting a capacity of deep layers to act as refugia under ocean warming. However, the rapid diminution of Actinopterygian species richness with increasing depth (Figure 1a,c) coupled to a gradual species turnover across depths (Figure 2a) suggests a limited ability of mesophotic layers to act as refugia for many species. Rocha et al. (2018) also refuted the mesophotic refugia hypothesis by revealing, from in situ observations, distinct fish communities between the mesophotic and shallow marine ecosystems near the Bahamas. Specifically, the species turnover component of β -diversity calculated with the Jaccard's dissimilarity index between adjacent depth ranges is comprised between 0.5 and 0.75. Yet, this unexpected high species turnover may be partly explained by the lack of data and the underestimation of α -diversity in the mesophotic reefs, particularly for rare, elusive and cryptic species (Muff et al., 2022). For example, Brandl et al. (2018) report that half of cryptic species are ignored in classical surveys. So, species turnover may be underestimated in our analysis because of uncertainty in our species depth ranges which are based on records with potential outliers. So even if we removed the 1% higher and lower recorded depths, we may still overestimate depth range so underestimate β -diversity. Some species depth ranges extracted from Fishbase might also be overestimated. Thus, new sampling methods, able to assess more exhaustively fish marine biodiversity and to operate in the deep sea, are urgently needed to better address the question of whether mesophotic ecosystems can act as a refugia for shallow marine waters under threats. Yet, our knowledge in geographic, depth range and conservation status of fish species, which are of primary importance for marine conservation, is still very incomplete, imprecise, and biased toward some species groups (Menegotto & Rangel, 2018; Miquelzeiz et al., 2020).

eDNA has been shown to fill biodiversity inventory gaps for still poorly known habitats such as mesophotic ecosystems (Muff et al., 2022), and species groups like cryptobenthic fishes (Boulanger et al., 2021; Mathon et al., 2022). eDNA metabarcoding is thus a promising tool to detect fish species occurrences in the deep-sea (Canals et al., 2021). One of the principal limitations in the use of eDNA metabarcoding for inventories is the incompleteness of genetic reference databases. Global species genetic coverage is low for fish species (Marques et al., 2021) but is weakly influenced by depth for the teleo and MiFish-U/E markers (Figure 3c-f). However, by distinguishing "deep-endemic" species from "depth generalist" species we show that "deep-endemic" species are less covered than those that can ascend to the shallow depth range (0–30 m; Figure 4) while eDNA could provide a relevant tool for their monitoring. We thus need to focus our efforts on sequencing "deep-endemic" fish species. Our analysis also reveals that THR species have a better genetic coverage than LC, DD and NE species. The number of threatened species estimated by the IUCN Red List is likely underestimated. So, a lot of DD and NE species might be threatened (Dulvy et al., 2021). We argue that an important sequencing effort should be dedicated to DD species and not

yet evaluated species to improve their monitoring through eDNA metabarcoding.

Beyond the incompleteness of genetic reference databases, some species can be missed when applying eDNA metabarcoding due to mismatches between primers and the target sequences (Elbrecht et al., 2018). Our analysis on the number of primer mismatches for MiFish-U/E and teleo metabarcoding primers demonstrates that these primers are equally well-adapted for both shallow water and deep-sea fish species detection (Figure 5). So, in theory, teleo and MiFishU/E are valid markers to study deep-water fish communities with eDNA metabarcoding. Our study only considers *in silico* PCR results to assess global species genetic coverage. However, some species theoretically detected by *in silico* PCR may remain undetected by real PCR even if they occur in the sampling site. For example, four-armed frogfish (*Tetrabrachium ocellatum*) is unlikely to be amplified by real PCR with the teleo primer pair due to its high number of mismatches (three mismatches on forward and three mismatches on reverse primer). For this species, another primer pair such as Vert01 12S should be used (Riaz et al., 2011). Stat et al. (2017) highlight the need to use multi-marker approaches to better evaluate biodiversity through eDNA metabarcoding. Moreover, our approach did not include the mismatch position, which is important in the probability of species sequence amplification beyond the number of mismatches. Mismatches at the last two positions of the 3' end of a primer are known to be particularly detrimental to PCR amplification (Zhang et al., 2020), so studies focusing on deep-water species should pay a particular attention to the location of potential mismatches for the primer pair chosen to identify any amplification bias toward their group of interest. Another limitation for species assignment using eDNA metabarcoding is the marker taxonomic resolution. Some closely related species share the same marker sequence like *Dentex gibbosus*, *Pagrus auriga* and *Dentex dentex* (Sparidae) which have all the same teleo 12S sequence, preventing assignment at the species level. Another limitation in the use of eDNA to study fish depth distribution is the potential eDNA passive vertical transport which remains understudied. There is some evidence suggesting that this phenomenon is limited (Jeunen et al., 2020; Monuki et al., 2021). However, Canals et al. (2021) have highlighted a vertical transport of eDNA from upper to deeper layers through the sinking process of organic matter (scales, feces, or corpses among others).

The future improvement in reference databases requires collaborating with aquariums and museums to sequence some fish species like deep-sea fishes or rare species which are difficult to capture in the wild. Extraction of ancient DNA from museum samples is challenging but the advances in this field are promising (Silva et al., 2019) and initiatives such the one of Margaryan et al. (2020) for vertebrates in Denmark open new perspectives for the development of genetic databases. Currently, few studies (Gaither et al., 2018; Tenggardjaja et al., 2014) have focused on the vertical connectivity of fish species and their potential ecotypes across depth which is a key information in conservation. Collecting genetic samples of fish individuals at different depths is often challenging and invasive. The emergent field of eDNA-based population genetics could have

a great potential to study fish population connectivity across depths (Adams et al., 2019). For instance, eDNA has been recently used to investigate diversity within populations of Striped red mullet (*Mullus surmuletus*; e.g., Macé et al., 2022), or Blackfoot pāua (*Haliotis iris*; Adams et al., 2022), and to successfully estimate population genetic differentiation like for the whale shark (Sigsgaard et al., 2016). Only through standard, sustained and multi-objectives observations at all depths we could get the insights needed to understand the fundamental ecological processes that govern the dynamics of marine ecosystems, and design depth-specific strategies to effectively protect them in the future. eDNA has the potential to fulfill these requirements by providing estimates of α - and β -diversity for species, taxa, MOTUs and genes.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Agnès Duhamet: Conceptualization (equal); data curation (lead); formal analysis (equal); investigation (lead); methodology (lead); resources (equal); software (equal); writing – original draft (lead); writing – review and editing (equal). **Camille Albouy:** Formal analysis (supporting); methodology (supporting); supervision (supporting); writing – review and editing (equal). **Virginie Marques:** Methodology (supporting); resources (supporting); software (supporting); writing – review and editing (equal). **Stephanie Manel:** Supervision (supporting); writing – review and editing (equal). **David Mouillot:** Conceptualization (equal); investigation (supporting); supervision (lead); writing – review and editing (equal).

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Rupert Collins and the anonymous reviewers for their comments on the manuscript.

CONFLICT OF INTEREST

All authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Data are available on Figshare. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.20403111>.

ORCID

Agnès Duhamet  <https://orcid.org/0000-0001-7868-5917>

REFERENCES

- Adams, C. I. M., Hepburn, C., Jeunen, G.-J., Cross, H., Taylor, H. R., Gemmell, N. J., Bunce, M., & Knapp, M. (2022). Environmental DNA reflects common haplotypic variation. *Environmental DNA*, 1–14. <https://doi.org/10.1002/edn3.352>
- Adams, C. I. M., Knapp, M., Gemmell, N. J., Jeunen, G.-J., Bunce, M., Lamare, M. D., & Taylor, H. R. (2019). Beyond biodiversity: Can environmental DNA (eDNA) cut it as a population genetics tool. *Genes*, 10(3), 192. <https://doi.org/10.3390/genes10030192>
- Albouy, C., Archambault, P., Appeltans, W., Araújo, M. B., Beauchesne, D., Cazelles, K., Cirtwill, A. R., Fortin, M.-J., Galiana, N., Leroux, S. J., Pellissier, L., Poisot, T., Stouffer, D. B., Wood, S. A., & Gravel, D. (2019). The marine fish food web is globally connected. *Nature*

- Ecology & Evolution*, 3(8), 1153–1161. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-0950-y>
- Armstrong, C. W., Foley, N. S., Tinch, R., & van den Hove, S. (2012). Services from the deep: Steps towards valuation of deep sea goods and services. *Ecosystem Services*, 2, 2–13. <https://doi.org/10.1016/j.ecoser.2012.07.001>
- Baldwin, C. C., Tornabene, L., & Robertson, D. R. (2018). Below the mesophotic. *Scientific Reports*, 8(1), 4920. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23067-1>
- Baselga, A. (2010). Partitioning the turnover and nestedness components of beta diversity. *Global Ecology and Biogeography*, 19(1), 134–143. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2009.00490.x>
- Baselga, A., & Orme, C. D. L. (2012). Betapart: An R package for the study of beta diversity. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(5), 808–812. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2012.00224.x>
- Bongaerts, P., Ridgway, T., Sampayo, E. M., & Hoegh-Guldberg, O. (2010). Assessing the 'deep reef refugia' hypothesis: Focus on Caribbean reefs. *Coral Reefs*, 29(2), 309–327. <https://doi.org/10.1007/s00338-009-0581-x>
- 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. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 288, 20210112. <https://doi.org/10.1098/rspb.2021.0112>
- Boussarie, G., Bakker, J., Wangenstein, O. S., Mariani, S., Bonnin, L., Juhel, J.-B., Kiszka, J. J., Kulbicki, M., Manel, S., Robbins, W. D., Vigliola, L., & Mouillot, D. (2018). Environmental DNA illuminates the dark diversity of sharks. *Science Advances*, 4(5), eaap9661. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aap9661>
- Boyer, F., Mercier, C., Bonin, A., Le Bras, Y., Taberlet, P., & Coissac, E. (2016). Obitools: A unix-inspired software package for DNA metabarcoding. *Molecular Ecology Resources*, 16(1), 176–182. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12428>
- Bozec, Y. M., Kulbicki, M., Laloë, F., Mou-Tham, G., & Gascuel, D. (2011). Factors affecting the detection distances of reef fish: Implications for visual counts. *Marine Biology*, 158(5), 969–981. <https://doi.org/10.1007/s00227-011-1623-9>
- 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. *Biological Reviews*, 93(4), 1846–1873. <https://doi.org/10.1111/brv.12423>
- Brandt, M. I., Pradillon, F., Trouche, B., Henry, N., Liautard-Haag, C., Cambon-Bonavita, M.-A., Cuffe-Gauchard, V., Wincker, P., Belsler, C., Poulain, J., Arnaud-Haond, S., & Zeppilli, D. (2021). Evaluating sediment and water sampling methods for the estimation of deep-sea biodiversity using environmental DNA. *Scientific Reports*, 11(1), 7856. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86396-8>
- Canals, O., Mendibil, I., Santos, M., Irigoien, X., & Rodríguez-Ezpeleta, N. (2021). Vertical stratification of environmental DNA in the open ocean captures ecological patterns and behavior of deep-sea fishes. *Limnology and Oceanography Letters*, 6(6), 339–347. <https://doi.org/10.1002/lol2.10213>
- Chaikin, S., Dubiner, S., & Belmaker, J. (2022). Cold-water species deepen to escape warm water temperatures. *Global Ecology and Biogeography*, 31(1), 75–88. <https://doi.org/10.1111/geb.13414>
- Chamberlain, S. (2018). rredlist: 'IUCN' Red List Client. R package version.
- Clark, M. R., Althaus, F., Schlacher, T. A., Williams, A., Bowden, D. A., & Rowden, A. A. (2016). The impacts of deep-sea fisheries on benthic communities: A review. *ICES Journal of Marine Science*, 73(suppl_1), i51–i69. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsv123>
- Clark, M. R., Rowden, A. A., Schlacher, T., Williams, A., Consalvey, M., Stocks, K. I., Rogers, A. D., O'Hara, T. D., White, M., Shank, T. M., & Hall-Spencer, J. M. (2010). The ecology of seamounts: Structure, function, and human impacts. *Annual Review of Marine Science*, 2(1), 253–278. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120308-8-081109>
- Costello, M., & Chaudhary, C. (2017). Marine biodiversity, biogeography, Deep-Sea gradients, and conservation. *Current Biology*, 27, R511–R527. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.04.060>
- Costello, M. J., Wilson, S., & Houlding, B. (2012). Predicting Total global species richness using rates of species description and estimates of taxonomic effort. *Systematic Biology*, 61(5), 871. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syr080>
- Cowman, P. F., & Bellwood, D. R. (2011). Coral reefs as drivers of cladogenesis: Expanding coral reefs, cryptic extinction events, and the development of biodiversity hotspots. *Journal of Evolutionary Biology*, 24(12), 2543–2562. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2011.02391.x>
- Danovaro, R., Fanelli, E., Aguzzi, J., Billett, D., Carugati, L., Corinaldesi, C., Dell'Anno, A., Gjerde, K., Jamieson, A. J., Kark, S., McClain, C., Levin, L., Levin, N., Ramirez-Llodra, E., Ruhl, H., Smith, C. R., Snelgrove, P. V. R., Thomsen, L., Van Dover, C. L., & Yasuhara, M. (2020). Ecological variables for developing a global deep-ocean monitoring and conservation strategy. *Nature Ecology & Evolution*, 4(2), 181–192. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-1091-z>
- Danovaro, R., Snelgrove, P. V. R., & Tyler, P. (2014). Challenging the paradigms of deep-sea ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 29(8), 465–475. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.06.002>
- Deiner, K., Bik, H. M., Mächler, E., Seymour, M., Lacoursière-Roussel, A., Altermatt, F., Creer, S., Bista, I., Lodge, D. M., de Vere, N., Pfrender, M. E., & Bernatchez, L. (2017). Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities. *Molecular Ecology*, 26(21), 5872–5895. <https://doi.org/10.1111/mec.14350>
- Drazen, J. C., & Haedrich, R. L. (2012). A continuum of life histories in deep-sea demersal fishes. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 61, 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2011.11.002>
- Duarte, C. M., Agusti, S., Barbier, E., Britten, G. L., Castilla, J. C., Gattuso, J.-P., Fulweiler, R. W., Hughes, T. P., Knowlton, N., Lovelock, C. E., Lotze, H. K., Predragovic, M., Poloczanska, E., Roberts, C., & Worm, B. (2020). Rebuilding marine life. *Nature*, 580(7801), 39–51. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2146-7>
- Dulvy, N. K., Pacoureau, N., Rigby, C. L., Pollom, R. A., Jabado, R. W., Ebert, D. A., Finucci, B., Pollock, C. M., Cheok, J., Derrick, D. H., Herman, K. B., Sherman, C. S., VanderWright, W. J., Lawson, J. M., Walls, R. H. L., Carlson, J. K., Charvet, P., Bineesh, K. K., Fernando, D., ... Simpfendorfer, C. A. (2021). Overfishing drives over one-third of all sharks and rays toward a global extinction crisis. *Current Biology*, 31(21), 4773–4787.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.08.062>
- Elbrecht, V., Hebert, P. D. N., & Steinke, D. (2018). Slippage of degenerate primers can cause variation in amplicon length. *Scientific Reports*, 8(1), 10999. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29364-z>
- Everett, M. V., & Park, L. K. (2018). Exploring deep-water coral communities using environmental DNA. *Results of Telepresence-Enabled Oceanographic Exploration*, 150, 229–241. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2017.09.008>
- Ficetola, G. F., Miaud, C., Pompanon, F., & Taberlet, P. (2008). Species detection using environmental DNA from water samples. *Biology Letters*, 4(4), 423–425. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2008.0118>
- Froese, R., & Pauly, D. (Eds.). (2022). FishBase. <https://www.fishbase.org/>
- Gaither, M. R., Gkafas, G. A., de Jong, M., Sarigol, F., Neat, F., Regnier, T., Moore, D., Gröcke, D. R., Hall, N., Liu, X., Kenny, J., Lucaci, A., Hughes, M., Haldenby, S., & Hoelzel, A. R. (2018). Genomics of habitat choice and adaptive evolution in a deep-sea fish. *Nature Ecology & Evolution*, 2(4), 680–687. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0482-x>

- Gollner, S., Kaiser, S., Menzel, L., Jones, D. O. B., Brown, A., Mestre, N. C., van Oevelen, D., Menot, L., Colaço, A., Canals, M., Cuvelier, D., Durden, J. M., Gebruk, A., Egho, G. A., Haeckel, M., Marcon, Y., Mevenkamp, L., Morato, T., Pham, C. K., ... Martinez Arbizu, P. (2017). Resilience of benthic deep-sea fauna to mining activities. *Marine Environmental Research*, 129, 76–101. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.04.010>
- Govindarajan, A. F., Francolini, R. D., Jech, J. M., Lavery, A. C., Llopiz, J. K., Wiebe, P. H., & Zhang, W. (2021). Exploring the use of environmental DNA (eDNA) to detect animal taxa in the mesopelagic zone. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9, 574877. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.574877>
- Hanson, J. O., Rhodes, J. R., Butchart, S. H. M., Buchanan, G. M., Rondinini, C., Ficetola, G. F., & Fuller, R. A. (2020). Global conservation of species' niches. *Nature*, 580(7802), 232–234. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2138-7>
- Heyns-Veale, E. R., Bernard, A. T. F., Richoux, N. B., Parker, D., Langlois, T. J., Harvey, E. S., & Götz, A. (2016). Depth and habitat determine assemblage structure of South Africa's warm-temperate reef fish. *Marine Biology*, 163(7), 158. <https://doi.org/10.1007/s00227-016-2933-8>
- Jamieson, A. J., Malkocs, T., Pierny, S. B., Fujii, T., & Zhang, Z. (2017). Bioaccumulation of persistent organic pollutants in the deepest ocean fauna. *Nature Ecology & Evolution*, 1(3), 0051. <https://doi.org/10.1038/s41559-016-0051>
- Jannasch, H. W. (1985). Review lecture—The chemosynthetic support of life and the microbial diversity at deep-sea hydrothermal vents. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 225(1240), 277–297. <https://doi.org/10.1098/rspb.1985.0062>
- Jeunen, G.-J., Lamare, M. D., Knapp, M., Spencer, H. G., Taylor, H. R., Stat, M., Bunce, M., & Gemmill, N. J. (2020). Water stratification in the marine biome restricts vertical environmental DNA (eDNA) signal dispersal. *Environmental DNA*, 2(1), 99–111. <https://doi.org/10.1002/edn3.49>
- Jones, D. O. B., Kaiser, S., Sweetman, A. K., Smith, C. R., Menot, L., Vink, A., Truettblood, D., Greinert, J., Billett, D. S. M., Arbizu, P. M., Radziejewska, T., Singh, R., Ingole, B., Stratmann, T., Simon-Lledó, E., Durden, J. M., & Clark, M. R. (2017). Biological responses to disturbance from simulated deep-sea polymetallic nodule mining. *PLoS One*, 12(2), e0171750. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171750>
- Juhel, J.-B., Utama, R. S., Marques, V., Vimono, I. B., Sugeha, H. Y., Kadarusman, n., Pouyaud, L., Dejean, T., Mouillot, D., & Hocdé, R. (2020). Accumulation curves of environmental DNA sequences predict coastal fish diversity in the coral triangle. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 287(1930), 20200248. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.0248>
- Kanz, C., Aldebert, P., Althorpe, N., Baker, W., Baldwin, A., Bates, K., Browne, P., van den Broek, A., Castro, M., Cochrane, G., Duggan, K., Eberhardt, R., Faruque, N., Gamble, J., Diez, F. G., Harte, N., Kulikova, T., Lin, Q., Lombard, V., ... Apweiler, R. (2005). The EMBL nucleotide sequence database. *Nucleic Acids Research*, 33(suppl_1), D29–D33. <https://doi.org/10.1093/nar/gki098>
- Lesser, M. P., Slattery, M., Laverick, J. H., Macartney, K. J., & Bridge, T. C. (2019). Global community breaks at 60 m on mesophotic coral reefs. *Global Ecology and Biogeography*, 28(10), 1403–1416. <https://doi.org/10.1111/geb.12940>
- Levin, L. A., & Le Bris, N. (2015). The deep ocean under climate change. *Science*, 350(6262), 766–768. <https://doi.org/10.1126/science.aad0126>
- Levin, N., Kark, S., & Danovaro, R. (2017). Adding the third dimension to marine conservation. *Conservation Letters*, 11(3), e12408. <https://doi.org/10.1111/conl.12408>
- Lindfield, S., Harvey, E., Halford, A., & McIlwain, J. (2015). Mesophotic depths as refuge areas for fishery-targeted species on coral reefs. *Coral Reefs*, 35, 125–137. <https://doi.org/10.1007/s00338-015-1386-8>
- Macdonald, C., Bridge, T., & Jones, G. (2016). Depth, bay position and habitat structure as determinants of coral reef fish distributions: Are deep reefs a potential refuge? *Marine Ecology Progress Series*, 561, 217–231. <https://doi.org/10.3354/meps11953>
- Macé, B., Hocdé, R., Marques, V., Guerin, P.-E., Valentini, A., Arnal, V., Pellissier, L., & Manel, S. (2022). Evaluating bioinformatics pipelines for population-level inference using environmental DNA. *Environmental DNA*, 4, 674–686. <https://doi.org/10.1002/edn3.269>
- Margaryan, A., Noer, C., Richter, S., Restrup, M., Bülow-Hansen, J. L., Leerhøi, F., Langkjær, E., Gopalakrishnan, S., Carøe, C., Gilbert, M., & Bohmann, K. (2020). Mitochondrial genomes of Danish vertebrate species generated for the national DNA reference database, DNAMark. *Environmental DNA*, 3, 472–480. <https://doi.org/10.1002/edn3.138>
- Marques, V., Milhau, T., Albouy, C., Dejean, T., Manel, S., Mouillot, D., & Juhel, J.-B. (2021). GAPeDNA: Assessing and mapping global species gaps in genetic databases for eDNA metabarcoding. *Diversity and Distributions*, 27, 1880–1892. <https://doi.org/10.1111/ddi.13142>
- Mathon, L., Marques, V., Mouillot, D., Albouy, C., Andreollo, M., Baletaud, F., Borrero-Perez, G., Dejean, T., Edgar, G., Grondin, J., Guerin, P.-E., Hocdé, R., Juhel, J.-B., Maire, E., Mariani, G., McLean, M., Polanco, A., Pouyaud, L., & Manel, S. (2022). Cross-ocean patterns and processes in fish biodiversity on coral reefs through the lens of eDNA metabarcoding. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 289, 1–10. <https://doi.org/10.1098/rspb.2022.0162>
- Maxwell, S. L., Cazalis, V., Dudley, N., Hoffmann, M., Rodrigues, A. S. L., Stolton, S., Visconti, P., Woodley, S., Kingston, N., Lewis, E., Maron, M., Strassburg, B. B. N., Wenger, A., Jonas, H. D., Venter, O., & Watson, J. E. M. (2020). Area-based conservation in the twenty-first century. *Nature*, 586(7828), 217–227. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2773-z>
- McClain, C. R., & Hardy, S. M. (2010). The dynamics of biogeographic ranges in the deep sea. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1700), 3533–3546. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.1057>
- McClenaghan, B., Fahner, N., Cote, D., Chawarski, J., McCarthy, A., Rajabi, H., Singer, G., & Hajibabaei, M. (2020). Harnessing the power of eDNA metabarcoding for the detection of deep-sea fishes. *PLoS One*, 15(11), e0236540. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236540>
- McLean, M., Mouillot, D., Lindegren, M., Engelhard, G., Villéger, S., Marchal, P., Brind'Amour, A., & Auber, A. (2018). A climate-driven functional inversion of connected marine ecosystems. *Current Biology*, 28(22), 3654–3660.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.09.050>
- Menegotto, A., & Rangel, T. F. (2018). Mapping knowledge gaps in marine diversity reveals a latitudinal gradient of missing species richness. *Nature Communications*, 9(1), 4713. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07217-7>
- Miller, E. C., Hayashi, K. T., Song, D., & Wiens, J. J. (2018). Explaining the ocean's richest biodiversity hotspot and global patterns of fish diversity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285(1888), 20181314. <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.1314>
- Miller, E. C., Martinez, C. M., Friedman, S. T., Wainwright, P. C., Price, S. A., & Tornabene, L. (2022). Alternating regimes of shallow and deep-sea diversification explain a species-richness paradox in marine fishes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(43), e2123544119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2123544119>
- Mindel, B. L., Neat, F. C., Webb, T. J., & Blanchard, J. L. (2018). Size-based indicators show depth-dependent change over time in the deep sea. *ICES Journal of Marine Science*, 75(1), 113–121. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsx110>
- Miqueleiz, I., Böhm, M., Ariño, A., & Miranda, R. (2020). Assessment gaps and biases in knowledge of conservation status of fishes. *Aquatic*

- Conservation Marine and Freshwater Ecosystems*, 30, 225–236. <https://doi.org/10.1002/aqc.3282>
- Mittelbach, G. G., & McGill, B. J. (2019). *Community ecology*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oso/9780198835851.001.0001>
- Miya, M. (2022). Environmental DNA metabarcoding: A novel method for biodiversity monitoring of marine fish communities. *Annual Review of Marine Science*, 14(1), 161–185. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-041421-082251>
- Miya, M., Gotoh, R. O., & Sado, T. (2020). MiFish metabarcoding: A high-throughput approach for simultaneous detection of multiple fish species from environmental DNA and other samples. *Fisheries Science*, 86(6), 939–970. <https://doi.org/10.1007/s12562-020-01461-x>
- Miya, M., Sato, Y., Fukunaga, T., Sado, T., Poulsen, J. Y., Sato, K., Minamoto, T., Yamamoto, S., Yamanaka, H., Araki, H., Kondoh, M., & Iwasaki, W. (2015). MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: Detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society Open Science*, 2(7), 150088. <https://doi.org/10.1098/rsos.150088>
- Monuki, K., Barber, P. H., & Gold, Z. (2021). EDNA captures depth partitioning in a kelp forest ecosystem. *PLoS One*, 16(11), e0253104. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253104>
- Muff, M., Jaquier, M., Marques, V., Ballesta, L., Deter, J., Bockel, T., Hocdé, R., Juhel, J.-B., Boulanger, E., Guellati, N., Fernández, A. P., Valentini, A., Dejean, T., Manel, S., Albouy, C., Durville, P., Mouillot, D., Holon, F., & Pellissier, L. (2022). Environmental DNA highlights fish biodiversity in mesophotic ecosystems. *Environmental DNA*, 1–17. <https://doi.org/10.1002/edn3.358>
- Musick, J. A., & Cotton, C. F. (2015). Bathymetric limits of chondrichthyans in the deep sea: A re-evaluation. *Biology of Deep-Water Chondrichthyans*, 115, 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2014.10.010>
- Niner, H. J., Ardron, J. A., Escobar, E. G., Gianni, M., Jaekel, A., Jones, D. O. B., Levin, L. A., Smith, C. R., Thiele, T., Turner, P. J., Van Dover, C. L., Watling, L., & Gjerde, K. M. (2018). Deep-Sea mining with no net loss of biodiversity—An impossible aim. *Frontiers in Marine Science*, 5, 53. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00053>
- NOAA National Geophysical Data Center. (2009). ETOPO1 1 Arc-Minute Global Relief Model NOAA National Centers for Environmental Information.
- OBIS. (2018). Ocean Biodiversity Information System. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. <https://obis.org/>
- Paulus, E. (2021). Shedding light on Deep-Sea biodiversity—A highly vulnerable habitat in the face of anthropogenic change. *Frontiers in Marine Science*, 8, 667048. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.667048>
- Polanco Fernández, A., Marques, V., Fopp, F., Juhel, J.-B., Borrero-Pérez, G. H., Cheutin, M.-C., Dejean, T., González Corredor, J. D., Acosta-Chaparro, A., Hocdé, R., Eme, D., Maire, E., Spescha, M., Valentini, A., Manel, S., Mouillot, D., Albouy, C., & Pellissier, L. (2021). Comparing environmental DNA metabarcoding and underwater visual census to monitor tropical reef fishes. *Environmental DNA*, 3(1), 142–156. <https://doi.org/10.1002/edn3.140>
- Polanco Fernández, A., Richards, E., Flück, B., Valentini, A., Altermatt, F., Brosse, S., Walsler, J.-C., Eme, D., Marques, V., Manel, S., Albouy, C., Dejean, T., & Pellissier, L. (2021). Comparing the performance of 125 mitochondrial primers for fish environmental DNA across ecosystems. *Environmental DNA*, 3, 1113–1127. <https://doi.org/10.1002/edn3.232>
- Priede, I. G., Froese, R., Bailey, D. M., Bergstad, O. A., Collins, M. A., Dyb, J. E., Henriques, C., Jones, E. G., & King, N. (2006). The absence of sharks from abyssal regions of the world's oceans. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1592), 1435–1441. <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3461>
- Ramirez-Llodra, E., Tyler, P. A., Baker, M. C., Bergstad, O. A., Clark, M. R., Escobar, E., Levin, L. A., Menot, L., Rowden, A. A., Smith, C. R., & Van Dover, C. L. (2011). Man and the last great wilderness: Human impact on the Deep Sea. *PLoS One*, 6(8), e22588. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022588>
- Riaz, T., Shehzad, W., Viari, A., Pompanon, F., Taberlet, P., & Coissac, É. (2011). EcoPrimers: Inference of new DNA barcode markers from whole genome sequence analysis. *Nucleic Acids Research*, 39, e145. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr732>
- Rocha, L. A., Pinheiro, H. T., Bart, S., Papastamatiou, Y. P., Luiz, O. J., Pyle, R. L., & Pim, B. (2018). Mesophotic coral ecosystems are threatened and ecologically distinct from shallow water reefs. *Science*, 361(6399), 281–284. <https://doi.org/10.1126/science.aag1614>
- Rourke, M. L., Fowler, A. M., Hughes, J. M., Broadhurst, M. K., DiBattista, J. D., Fielder, S., Wilkes Walburn, J., & Furlan, E. M. (2022). Environmental DNA (eDNA) as a tool for assessing fish biomass: A review of approaches and future considerations for resource surveys. *Environmental DNA*, 4(1), 9–33. <https://doi.org/10.1002/edn3.185>
- Ruppert, K. M., Kline, R. J., & Rahman, M. S. (2019). Past, present, and future perspectives of environmental DNA (eDNA) metabarcoding: A systematic review in methods, monitoring, and applications of global eDNA. *Global Ecology and Conservation*, 17, e00547. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00547>
- Sigsgaard, E. E., Nielsen, I. B., Bach, S. S., Lorenzen, E. D., Robinson, D. P., Knudsen, S. W., Pedersen, M. W., Jaidah, M. A., Orlando, L., Willerslev, E., Møller, P. R., & Thomsen, P. F. (2016). Population characteristics of a large whale shark aggregation inferred from seawater environmental DNA. *Nature Ecology & Evolution*, 1(1), 4. <https://doi.org/10.1038/s41559-016-0004>
- Sigwart, J. D., Chen, C., Thomas, E. A., Allcock, A. L., Böhm, M., & Seddon, M. (2019). Red listing can protect deep-sea biodiversity. *Nature Ecology & Evolution*, 3(8), 1134. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-0930-2>
- Silva, P. C., Malabarba, M. C., Vari, R., & Malabarba, L. R. (2019). Comparison and optimization for DNA extraction of archived fish specimens. *MethodsX*, 6, 1433–1442. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2019.06.001>
- Simpfendorfer, C. A., & Kyne, P. M. (2009). Limited potential to recover from overfishing raises concerns for deep-sea sharks, rays and chimaeras. *Environmental Conservation*, 36(2), 97–103. <https://doi.org/10.1017/S0376892909990191>
- Spence, A. R., & Tingley, M. W. (2020). The challenge of novel abiotic conditions for species undergoing climate-induced range shifts. *Ecography*, 43(11), 1571–1590. <https://doi.org/10.1111/ecog.05170>
- Stat, M., Huggett, M. J., Bernasconi, R., DiBattista, J. D., Berry, T. E., Newman, S. J., Harvey, E. S., & Bunce, M. (2017). Ecosystem bio-monitoring with eDNA: Metabarcoding across the tree of life in a tropical marine environment. *Scientific Reports*, 7(1), 12240. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12501-5>
- Stefanoudis, P., Gress, E., Pitt, J. M., Smith, S. R., Kincaid, T., Rivers, M., Andradi-Brown, D. A., Rowlands, G., Woodall, L. C., & Rogers, A. D. (2019). Depth-dependent structuring of reef fish assemblages from the shallows to the rariphotic zone. *Frontiers in Marine Science*, 6, 307. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00307>
- Stefanoudis, P., Rivers, M., Smith, S., Schneider, C., Wagner, D., Ford, H., Rogers, A., & Woodall, L. (2019). Low connectivity between shallow, mesophotic and rariphotic zone benthos. *Royal Society Open Science*, 6, 190958. <https://doi.org/10.1098/rsos.190958>
- Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Brochmann, C., & Willerslev, E. (2012). Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*, 21(8), 2045–2050. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05470.x>
- Tenggardjaja, K. A., Bowen, B. W., & Bernardi, G. (2014). Vertical and horizontal genetic connectivity in Chromis verater, an endemic damselfish found on shallow and mesophotic reefs in the Hawaiian

- archipelago and adjacent Johnston atoll. *PLoS One*, 9(12), e115493. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115493>
- Thomsen, P. F., Møller, P. R., Sigsgaard, E. E., Knudsen, S. W., Jørgensen, O. A., & Willerslev, E. (2016). Environmental DNA from seawater samples correlate with trawl catches of subarctic, Deepwater Fishes. *PLOS ONE*, 11(11), e0165252. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165252>
- Treberg, J. R., & Speers-Roesch, B. (2016). Does the physiology of chondrichthyan fishes constrain their distribution in the deep sea? *Journal of Experimental Biology*, 219(5), 615–625. <https://doi.org/10.1242/jeb.128108>
- 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., ... Dejean, T. (2016). Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*, 25(4), 929–942. <https://doi.org/10.1111/mec.13428>
- Visser, F., Merten, V. J., Bayer, T., Oudejans, M. G., de Jonge, D. S. W., Puebla, O., Reusch, T. B. H., Fuss, J., & Hoving, H. J. T. (2021). Deep-sea predator niche segregation revealed by combined cetacean biologging and eDNA analysis of cephalopod prey. *Science Advances*, 7(14), eabf5908. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abf5908>
- Webb, T. J., Vanden Berghe, E., & O'Dor, R. (2010). Biodiversity's big wet secret: The global distribution of marine biological records reveals chronic under-exploration of the deep Pelagic Ocean. *PLoS One*, 5(8), e10223. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010223>
- Wedding, L., Reiter, S., Smith, C., Gjerde, K., Kittinger, J., Friedlander, A., Gaines, S., Clark, M., Thurnherr, A., Mincks, S., & Crowder, L. (2015). OCEANS. Managing mining of the deep seabed. *Science*, 349, 144–145. <https://doi.org/10.1126/science.aac6647>
- Wormuth, J. H., & Roper, C. F. E. (1983). Quantitative sampling of oceanic cephalopods by nets: Problems and recommendations. *Biological Oceanography*, 2(2–4), 357–377. <https://doi.org/10.1080/01965581.1983.10749466>
- Zhang, S., Zhao, J., & Yao, M. (2020). A comprehensive and comparative evaluation of primers for metabarcoding eDNA from fish. *Methods in Ecology and Evolution*, 11(12), 1609–1625. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13485>

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: Duhamet, A., Albouy, C., Marques, V., Manel, S., & Mouillot, D. (2023). The global depth range of marine fishes and their genetic coverage for environmental DNA metabarcoding. *Ecology and Evolution*, 13, e9672. <https://doi.org/10.1002/ece3.9672>

SUPPORTING INFORMATION

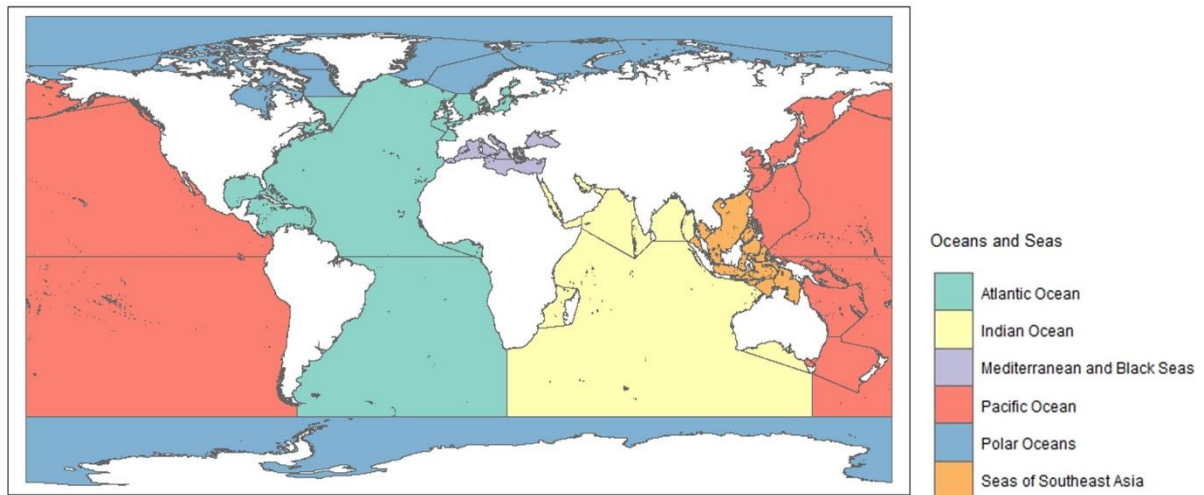


Figure S1: Seas and oceans delineation

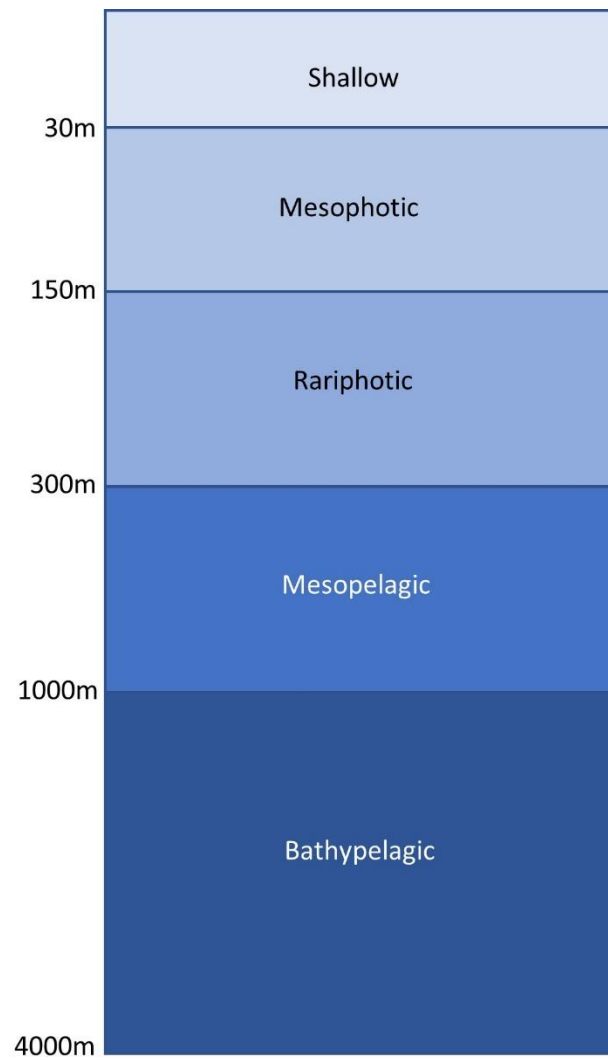


Figure S2: Delineation of the five depth layers



Mérrou brun *Epinephelus marginatus*



Poisson lune *Mola mola*

Chapitre 3

Influence relative des réserves marines et du confinement Covid-19 sur la probabilité d'occurrence des espèces de poissons le long des côtes méditerranéennes françaises



Sar commun *Diplodus sargus*



Tripterygion rouge *Tripterygion tripteronotum*

Préface

Les réserves marines où la pêche est strictement interdite sont les principaux outils utilisés pour sauvegarder la biodiversité marine (Sala & Giakoumi, 2018). Cependant leur effet peut être limité par les pressions anthropiques qui s'exercent autour d'elles (Cinner et al., 2018), leur trop faible superficie, un manque de respect des règles de protection (Dureuil et al., 2018; Harasti et al., 2019) ainsi que la pollution sonore et le dérangement induit par une sur-fréquentation de ces zones (Buscaino et al., 2016; Williams et al., 2015). Au cours du printemps 2020, un confinement lié à l'épidémie de Covid-19 a eu lieu en France. Il a engendré une diminution temporaire (4 mois) de la présence des hommes en mer et sur les côtes. Ces conditions offrent donc une occasion unique de comparer l'effet des réserves marines où les activités de pêche sont interdites pendant une longue période mais dans une zone restreinte, et l'effet d'une baisse temporaire mais généralisée des activités humaines et de la pollution sonore sur les occurrences des espèces de poissons le long des côtes méditerranéennes française.

J'ai modélisé l'effet de la protection des réserves et du confinement Covid-19 sur les probabilités d'occurrence de 87 espèces de poissons. Pour cela j'ai utilisé les données des 375 échantillons d'ADNe collectés de 2018 à 2021. Le laboratoire MARBEC a eu la chance de pouvoir échantillonner l'ADNe durant la période de confinement (160 échantillons).

Les résultats révèlent que 59% des espèces répondent positivement à la protection des réserves. 62% des espèces répondent positivement au confinement Covid-19 mais il ne s'agit pas exactement du même assemblage d'espèces. Toutes les espèces ne réagissent pas de la même manière à la protection des réserves et au confinement. Cette étude suggère que la mise en place de plusieurs types de protection complémentaires dont de grandes réserves interdites d'accès permettraient d'améliorer la protection d'un plus grand nombre d'espèces.

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, les bases de références génétiques publiques sont encore largement incomplètes, ce qui limite l'utilisation du *metabarcoding* de l'ADNe. Seules 55% des espèces de poissons vivant le long des côtes méditerranéennes françaises ont leur séquence du marqueur *metabarcoding teleo* disponible dans les bases de référence génétique publiques. Grâce à l'important travail de séquençage réalisé par les

Chapitre 3

laboratoires MARBEC, CEFE, et ETH, j'ai pu disposer d'une base de référence contenant les séquences du marqueur *metabarcoding teleo* (Valentini et al., 2016) de 81% des espèces de poissons de cette région géographique (Charbonnel et al., 2017).

Manuscrit B

Journal visé : Journal of Applied Ecology

The COVID-19 lockdown disentangles the relative influence of fisheries and boat traffic on coastal fish occurrences

A. Duhamet^{1,2}, J. Deter^{1,3}, P. Boissery⁴, L. Velez¹, R. Hocdé¹, A. Valentini⁵, T. Bockel^{1,3}, E. Charbonnel⁶, A. Dalongeville^{1,5}, L. Fullgrabe⁷, V. Hartmann⁸, F. Holon³, P. Lenfant⁹, M. Marengo⁷, F. Pichot¹, N. Tomasi¹⁰, S. Manel^{2,11}, D. Mouillot^{1,11}

¹ MARBEC, Univ Montpellier, CNRS, IFREMER, IRD, Montpellier, France

² CEFE, Univ Montpellier, CNRS, EPHE-PSL University, IRD, Montpellier, France

³ Andromède océanologie, Mauguio, France

⁴ Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse, Délégation de Marseille, 2 rue Barbusse, CS 90464, 13207 Marseille Cedex 01, France

⁵ SPYGEN, 17 rue du Lac Saint-André, 73370 Le Bourget-du-Lac, France

⁶ Parc Marin de la Côte Bleue. Observatoire, plage du Rouet. 31 Av. J. Bart. BP 42. 13620 Carry-le-Rouet, France

⁷ Station de Recherche Océanographiques et Sous-marines STARESO, Punta Revellata, 20260 Calvi, France

⁸ Réserve naturelle marine de Cerbère Banyuls, 5 Rue Roger David. 66650 - Banyuls-sur-Mer, France

⁹ Université Perpignan Via Domitia, Centre de Formation et de Recherche sur les Environnements Méditerranéens, UMR 5110, 58 Avenue Paul Alduy, F-66860 Perpignan, France

¹⁰ Parc naturel marin du cap Corse et de l'Agriate, Avenue Rue Paratojo 20200 Bastia, France

¹¹ Institut Universitaire de France, IUF, Paris, France

Abstract

The Mediterranean Sea is a biodiversity hotspot threatened by overfishing, habitat degradation and anthropony. No-take marine reserves are the principal management tools potentially safeguarding fish diversity against multiple threats. Yet, noise pollution induced by the numerous ship passages and human pressure surrounding their boundaries may affects their effectiveness. In spring 2020, a forced lockdown owing to the COVID-19 pandemic drastically reduced human presence on the French Mediterranean coast, offering the unique opportunity to test fish species responses to boat traffic. Here we modeled the difference in occurrence probability of 87 fish species inside and outside no-take marine reserves but also during and outside the lockdown period using 375 environmental DNA samples and their metabarcoding analysis. 59% of species have a higher probability of occurrence inside no-take marine reserves than outside while 62% fish species are more detected during the lockdown period than outside. Given the short period of this lockdown, a higher probability of occurrence cannot result from population growth but is only due to rapid changes in fish home range, behavior, or activity. Overall, this result suggests that limiting human disturbances, beyond fishing pressure, can have a positive effect on coastal marine biodiversity, additionally and complementary to standard no-take reserves. It also highlights that the dual mandates of most marine reserves to conserve biodiversity and promote recreational activities can be in conflict and pose a serious challenge to MPA management in touristic places like the Mediterranean coast.

Keywords: Marine reserve, No-take, Mediterranean Sea, noise pollution, environmental DNA metabarcoding, fish, IUCN

Introduction

Marine biodiversity is primarily threatened by overexploitation and climate change (Jaureguiberry et al., 2022) but also by habitat degradation (Yan et al., 2021) and anthropony (Duarte et al., 2021) with consequences on ecosystem functioning (Lefcheck et al., 2021) but also human livelihood and wellbeing (Eddy et al., 2021). Marine Protected Areas (MPA), and particularly no-take MPAs also called marine reserves (Costello 2015) where all kinds of fishing activities are prohibited (Sala & Giakoumi, 2018), are the principal management tools to halt marine biodiversity erosion and sustain services upon which billions of people depend (Grorud-Colvert et al., 2021 ; Marcos et al., 2021). Yet, even if MPAs are widely recognized as efficient management tools to support greater fish biomass (Campbell et al., 2018; Sanabria-Fernandez et al., 2019), their effect on fish species richness is more nuanced (Loiseau et al., 2021 ; Dalongeville et al., 2022), heterogeneous among species groups (Giakoumi et al., 2017; Hadj-Hammou et al., 2021) and even counter-intuitive (Boulanger et al., 2021). Compensatory processes may indeed shape the level of species richness, e.g., prey species may aggregate in areas where human activities like fisheries target predators according to the mesopredator release hypothesis (Bond et al., 2019). Thus, while a disturbance or MPA establishment may have little impact on biodiversity, it can induce changes at the species level and modify ecosystem functioning (Lefcheck et al., 2021). Thus, more species-specific investigations are required to better understand the role of MPAs on fish conservation.

This absence of clear consensus may partly come from uncontrolled human pressure either outside MPA boundaries (Cinner et al., 2018) or within their boundaries in case of low compliance that decreases their effectiveness (Dureuil et al., 2018 ; Harasti et al., 2019). Moreover, most MPA, including marine reserves, are not or weakly protected from many threats (noise, collision) induced by the maritime transport and touristic activities (Buscaino et al., 2016; Carreño & Lloret, 2021; Williams et al., 2015). Human-induced noise pollution is known to have many detrimental effects on fish such as the disruption of intraspecific communication, behavioral patterns and physiology (Di Franco et al., 2020). So, on the balance, the relative influence of fisheries and boat traffic on fish occurrences is poorly known since both effects cannot be disentangled in crowded coastal regions like the Mediterranean Sea (Williams et al. 2022).

In spring 2020, a forced lockdown owing to the COVID-19 pandemic drastically reduced human presence on the coast and at sea since touristic activities were forbidden while most beaches and coastlines were inaccessible to the public. During this period, maritime traffic slowed down (March et al., 2021; Pita et al., 2022) and recreational fishing activities halted while artisanal fisheries were limited owing to lower local market demand (Spagnol et al., 2021). These exceptional conditions thus offered a unique opportunity to compare and disentangle the effect of marine reserves, where fishing activities are prohibited for a long time but in small areas, and the effect of COVID-19 lockdown, when boat traffic and noise pollution temporary dropped over a large spatial scale along the Mediterranean coast, on species-specific fish occurrences.

Since most fish species are hardly detectable on rocky shore habitats due to their elusive, nocturnal or crypto-benthic behavior (Sigsgaard et al., 2020; Valdivia-Carrillo et al., 2021), we used environmental DNA (eDNA) metabarcoding to census fish occurrences. eDNA is released by living organisms in their environment via their shed skins, feces or mucus (Miya, 2022). Its collection by water filtering, sequencing and then analysis using a genetic reference database allows this non-invasive approach to accurately detect most fish species (Polanco et al., 2021) and revolutionize biomonitoring (Takahashi et al., 2023). Here, taking advantage of an extensive fish eDNA survey along the Mediterranean coast before, during and after the COVID-19 forced human lockdown but also inside and outside no-take marine reserves, we aim at modelling and better understanding species-specific responses to protection and boat traffic. We also propose new management strategies limiting noise disturbances, beyond restrictions on fishing activities.

Methods

Study area and sampling design

We filtered 375 eDNA samples along the French Mediterranean coast from March 2018 to October 2021 (*Figure 1; Figure S1*). One hundred and twelve of these eDNA samples were collected inside 11 no-take marine reserves (*Table S1*) while 160 eDNA samples were collected during the human-forced COVID-19 lockdown between May and June 2020 (*Figure 1*). Samples were collected at different depths ranging from 1 to 70 meters (*Figure S2*). Samples consist of 30L of seawater filtered using peristaltic pumps, sterile tubes and a

VigiDNA 0.2 μ M cross-flow filtration capsules. Athena[®] peristaltic pumps (Proactive Environmental Products LLC, Bradenton, Florida, USA; nominal flow of \sim 1.0 L/min) were used to sample eDNA at 1m depth and submersible pumps (Subspace, Geneva, Switzerland; nominal flow of \sim 1.0 L/min) were used to collect eDNA at greater depths (Muff et al., 2022). The capsules were emptied of the remaining water and filled with 80 ml of CL1 lysis conservation buffer just after the filtration (Polanco et al., 2021; Marques et al., 2021). Each sample was collected using single use filtration equipment and disposable gloves to avoid contaminations. The filtration capsules were stored at room temperature until DNA extraction.

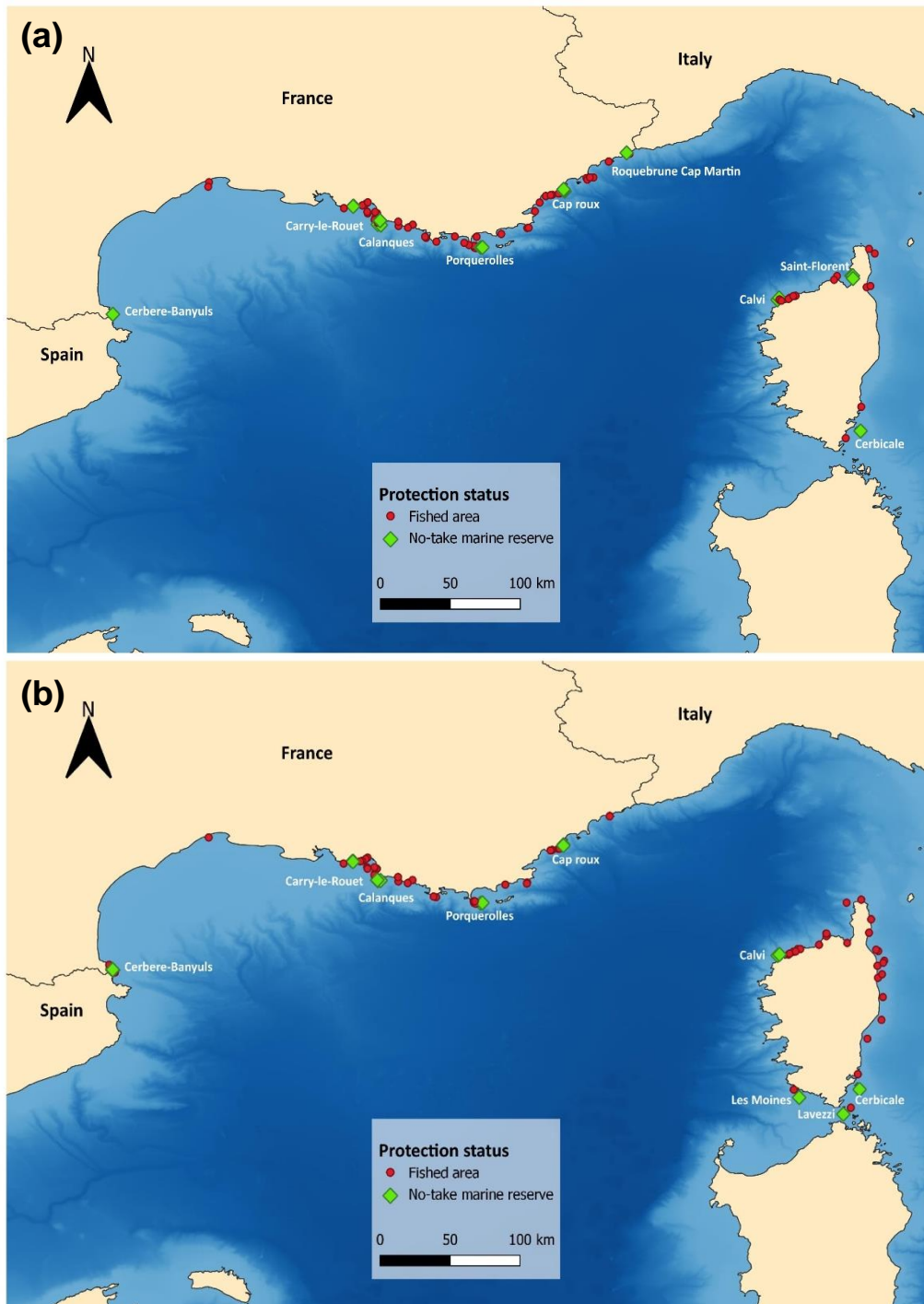


Figure 1: Locations of eDNA samples collected along the French Mediterranean coast inside (red dots) and outside (green diamonds) eleven no-take marine reserves during (a) and outside (b) the COVID-19 human lockdown period (March-June 2020).

eDNA extraction and sequencing

eDNA extraction was carried out in a room of a dedicated DNA laboratory equipped with UV treatment, positive air pressure and frequent air renewal following the protocol of Polanco

et al. (2020). Decontamination procedures were performed before and after each extraction. The amplification of eDNA was carried out using the teleost and elasmobranch specific *teleo* primer pair (forward primer - ACACCGCCCGTCACTCT, reverse primer - CTTCCGGTACTTACCATG) targeting a roughly 60 bp region of the 12S mitochondrial rRNA gene following the protocol described in Valentini et al. (2016). The PCR mixture was denatured at 95 °C for 10 minutes, followed by 50 cycles of 30 seconds at 95 °C, 30 seconds at 55 °C and 1 minute at 72 °C, and a final elongation step at 72 °C for 7 minutes. Twelve PCRs were conducted on each sample. The primers were 5'-labeled with an eight-nucleotide tag unique to each PCR replicate and identical for the forward and reverse primers. After amplification, the PCR products were titrated using capillary electrophoresis QIAxcel (Qiagen GmbH, Hilden, Germany). The PCR products are then purified using a MinElute PCR purification kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany) and pooled in equal volumes to reach a theoretical sequencing depth of 1,000,000 reads per sample. Fifty-six libraries were prepared using the MetaFast protocol (Fasteris, Plan-les-Ouates, Switzerland). Paired-end sequencing (2 × 125 bp) on eparated MiSeq runs was performed on 44 libraries (Illumina, San Diego, CA, USA) using the MiSeq Flow Cell Kit Version3 (Illumina, San Diego, CA, USA). Twelve libraries were sequenced using a NextSeq (2 × 150 bp+8) (Illumina) and the NextSeq Mid kit (Illumina). DNA extraction and PCR negatives controls were systematically amplified (12 replicates) and sequenced in parallel of the samples.

Bioinformatic analysis

Paired-end sequencing outputs were processed using the Obitools toolkit (Boyer et al., 2016) as follows: reads were merged using *illuminapairedend*, demultiplexed using *ngsfilter*, dereplicated using *obiuniq*. Sequences shorter than 20 bp, with less than 10 reads and labelled “internal” by the *obiclean* software were discarded. We accounted for index-hopping and tag-jumps (Polanco Fernández et al., 2020; Richards et al., 2021). Taxonomic assignments were carried out using *ecotag* on both sequences retrieved from GenBank® release 247 publicly available from ENA and those of our Mediterranean database comprising 222 species. With this combination our reference database covers 81% of the regional fish species pool (Charbonnel et al., 2017). Species assignments were only validated for 100% sequence match over the entire sequence length. Sequences showing less than 98% similarity to the reference databases were removed.

Habitat and environmental covariates

A total of nine habitat and environmental covariates (*Table 1*) were extracted for each eDNA sample to take into account the spatial and temporal variability between sampling sites and periods in the statistical analyses. Values were extracted from the environmental raster in each database using the *exact_extract* function of the R package *exactextractr* v4.0.2 (Baston, 2022).

Table 1: list and data sources of environmental and habitat variables

Category	Variable	Source
Habitat	Principal habitat	DONIA EXPERT Medtrix platform
	Number of different habitat types	https://medtrix.fr/portfolio_page/donia-a-expert/
Accessibility	Mean distance to the nearest port	DONIA EXPERT (2023) Medtrix platform https://medtrix.fr/portfolio_page/donia-a-expert/
	Mean distance to the coastline	
Climate	Mean sea surface temperature the week of the survey (7 days before sampling and day of sampling)	MARS3D (Model for Applications at Regional Scales; Lazure & Dumas, 2008) Model F2-MARS3D-MENOR1200 Spatial Resolution of 1.2 km. Time-step of three hours.
	Mean annual sea surface temperature (period 2000-2014)	Bio-ORACLE (Assis et al., 2018; Tyberghein et al., 2012) https://www.bio-oracle.org/ Spatial resolution of 5 arcmin (approximately 9.2 km at the equator)
Bathymetry	Mean bathymetry	Produced by multibeam echosounder and downloaded from the MEDTRIX platform: https://medtrix.fr/portfolio_page/donia-a-expert/

Productivity	Mean surface chlorophyll-a during the week of the survey (8 days including sampling day)	NASA Aqua MODIS (NASA Goddard Space Flight Center, 2018) https://modis.gsfc.nasa.gov/data/dataproduct/chlor_a.php Spatial resolution of 4 km
	Mean annual surface chlorophyll-a (period 2000-2014)	Bio-ORACLE (Assis et al., 2018; Tyberghein et al., 2012) https://www.bio-oracle.org/ Spatial resolution of 5 arcmin (approximately 9.2 km at the equator)

Given the strong correlation between the nine habitat and environmental covariates listed above and sampling variables (sampling depth and method), we performed a Principal Coordinates Analysis (PCoA) on these 11 variables using the *pcoa()* function in the *ape* R package after calculating a 'gower' distance between eDNA samples. To determine the lower dimensional space which represents correctly the initial space of covariates we used two approaches (Mouillot et al., 2021): the AUC (Area Under the Curve) metric with a threshold of 0.7 and the elbow inflection point. These methods allowed us to reduce the dimensionality of the covariate dataset and construct the models with three independent synthetic covariates which are PCoA axes. The AUC threshold method indicated that the first three axes are needed to obtain a good positioning of eDNA samples in the multi-dimensional space (AUC= 0.725) while the elbow inflection point method indicates that two axes are enough, but we choose to conserve the first three axes (*Figure S3*).

Protection and lockdown effects on species occurrences

We performed Generalized Linear Mixed Models (GLMMs) with spatially autocorrelated random effects to assess the lockdown and reserve effects on each species occurrence probability using the *fitme()* function in the *spaMM* R package (Rousset & Ferdy, 2014) while controlling for covariates by including the three first PCoA axes as fixed effects. Spatial autocorrelation was taken into account thanks to the Matérn correlation function placed as a random effect in the model. Each of the 87 species detected was modelled with a binomial

response if present in at least 20 samples ($\approx 5\%$ of the samples). To evaluate model quality, the AUC metric was used.

For each species, the occurrence probability predicted by the binomial GLMM inside reserves, outside reserves, during lockdown and outside lockdown were extracted while controlling for the other factors (i.e., at the means of the three PCoA axes). We then calculated the Risk Ratio (RR), classically used in biomedical research as the relative risk of a clinical event among people who are exposed to the risk factor compared to unexposed people (Ranganathan et al., 2015), to assess the reserve and lockdown effects as follows:

$$RR \text{ Reserve} = \frac{\text{Occurrence probability inside reserves}}{\text{Occurrence probability outside reserves}}$$

$$RR \text{ Lockdown} = \frac{\text{Occurrence probability during lockdown}}{\text{Occurrence probability outside lockdown}}$$

If the reserve risk ratio is equal to 1, it means that the species has the same probability to be present inside vs. outside marine reserves. If the risk ratio >1 , it means that the species has a higher probability to be present inside reserves than outside while if the risk <1 it means that the species has a lower probability to be observed inside reserves than outside. If the lockdown risk ratio is equal to 1, it means that the species has the same occurrence probability during and outside lockdown. If the risk ratio >1 , it means that the species has a higher probability to be present during lockdown. We then compared the level of risk ratio between reserve and lockdown over all fish species using the Wilcoxon test.

Influence of species traits on risk ratios

We then assessed the influence of species fishing vulnerability, IUCN Red List status and vertical distribution (benthic – demersal - pelagic) on reserve and lockdown risk ratios. Species IUCN Red List Status was downloaded in February 2023 using the R package *rredlist* (Gearty et al., 2022). Critically Endangered, Endangered, Vulnerable species were classified in one category called "endangered species". Near Threatened, Least Concern and Data Deficient species were classified as "non-endangered species". The vulnerability of species to fishing was extracted from FishBase (Cheung et al., 2005) while vertical distribution was extracted

from Fishmed (Albouy et al., 2015). A Generalized Linear Model (GLM) was carried out to test the influence of these traits on species reserve and lockdown risk ratios using a Gaussian link.

Results

Protection and lockdown effects on species occurrences

All binomial GLMMs had an AUC value higher than 0.7 suggesting that species occurrences were accurately predicted using our set of covariates and space but also the reserve and lockdown effects (*Figure S4*). Among the 87 species, 59 were very accurately predicted (AUC > 0.9).

Reserve increases the probability of occurrence for 59% of species, and COVID-19 lockdown for 62% of species, compared to fished conditions without lockdown (*Figure 2*). Lockdown has a slightly higher but not significant (*Wilcoxon test p-value = 0.491*) overall positive effect on fish species occurrences (Median Risk Ratio of lockdown effect = 1.18) than protection (Median Risk Ratio of Reserve Effect = 1.07) (*Figure 2*). It means that half of fish species have at least 7% more chance to be detected inside than outside marine reserves and that half of fish species have at least 18% more chance to be detected during than outside the lockdown period. Thirty-three percent of species have an occurrence probability increasing by more than 50% (RR > 1.5) during lockdown and 21% of species have an occurrence probability increasing by more than 50% (RR > 1.5) inside no-take marine reserves compared to outside.

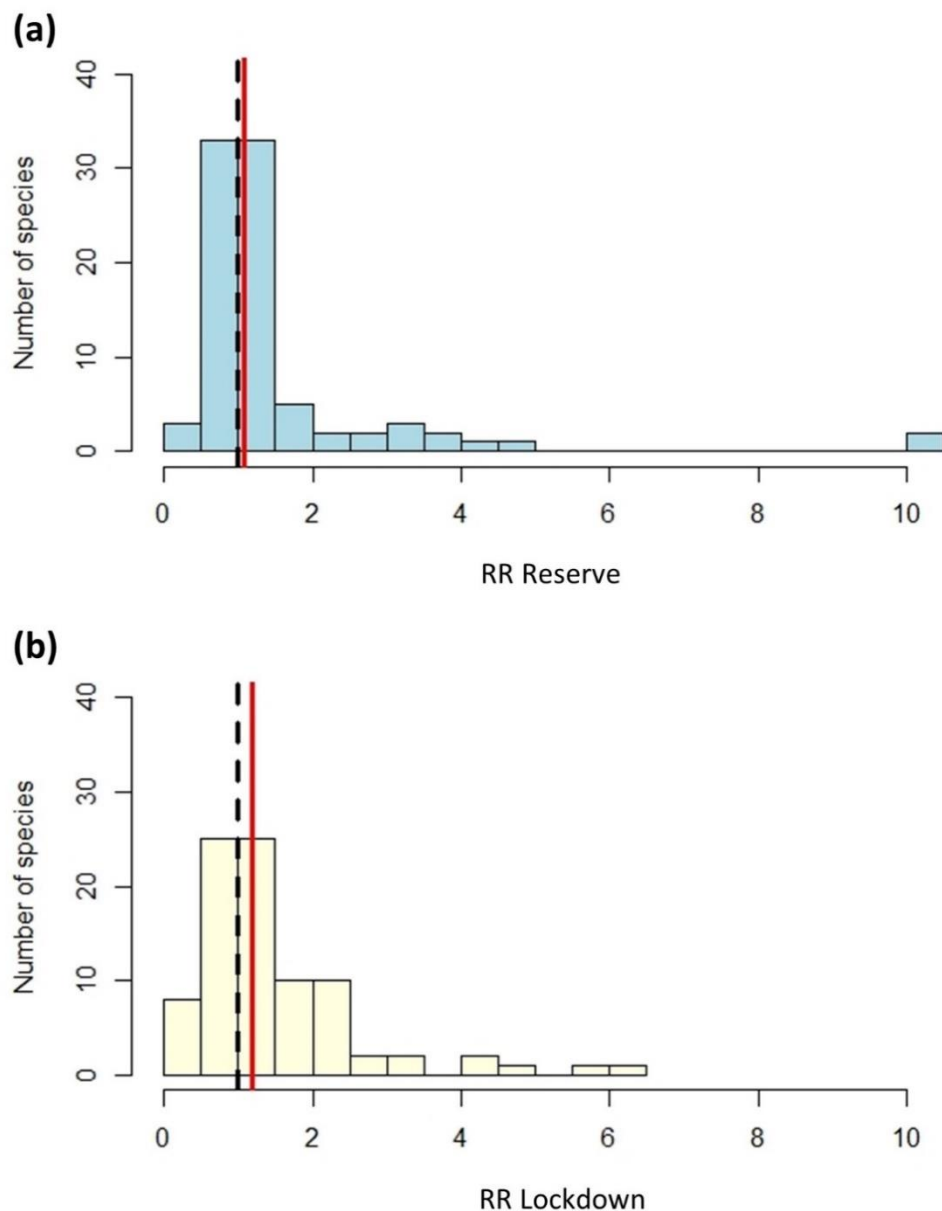


Figure 2: Distribution of the Risk Ratio (RR) for the effect of no-take marine reserves (a) and Covid-19 lockdown (b) on occurrences for 87 fish species. The RR Reserve corresponds to the occurrence probability of a fish species inside reserves divided by its occurrence probability outside reserves. The RR lockdown corresponds to the occurrence probability of a fish species during lockdown divided by its occurrence probability outside lockdown. These occurrence probabilities were estimated for each fish species using predictions of the binomial Generalized Linear Mixed Models (GLMMs). The red line represents the median of the distribution. The dotted line corresponds to a Risk Ratio of 1 so no effect of reserve or lockdown on species-specific fish probability of occurrence.

Among the 87 species, 33 species so 38% are more present both inside no-take marine reserves and during the lockdown period than outside these conditions (*Figure 3*). An archetypical species in this situation is the Brown meagre *Sciaena umbra* showing a risk ratio of 2.31 for the reserve effect and of 2.28 for the lockdown effect. Yet, species benefiting from reserve and lockdown effects are not always the same. Indeed, 21% of species only are more present inside marine reserves than outside and 24% only more present during the COVID-19 lockdown period than outside (*Figure 3; Figure S5*). For instance, four out of the five Elasmobranch species (*Dasyatis pastinaca*, *Myliobatis aquila*, *Dasyatis tortonesei* and *Dasyatis marmorata*) show a higher occurrence probability inside reserves than outside. While these vulnerable species also show a higher occurrence probability during the lockdown period than outside, the reserve effect seems to be more beneficial to them than the lockdown effect.

Moreover, 9 out of the 14 Sparidae species have a positive response to protection (risk ratio > 1) like those of the *Diplodus spp.* and in particular the Zebra seabream *Diplodus cervinus*. Among the Sparidae species responding positively to protection, seven also respond positively to lockdown. Serranidae species show a positive response to protection (risk ratio > 1). The Dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Serranidae) has two times more chance to be present inside than outside marine reserves (risk ratio = 2.08) but poorly responds to lockdown (risk ratio = 1.07). Two species of the *Serranus spp.* present a highly positive response to lockdown. Labridae species tend to show a slight response to protection but only the Ornate wrasse *Thalassoma pavo* positively responds to lockdown (risk ratio = 2.19). Two out of the four Mugilidae species (*Chelon labrosus* and *Chelon ramada*) present a positive response to protection but only the Thinlip mullet *Chelon ramada* occurred more frequently during lockdown (risk ratio = 1.37). The Ocean sunfish *Mola mola* (species of the Molidae family) only shows a higher occurrence probability during lockdown (risk ratio = 1.3) but not inside reserves (risk ratio = 0.75). Cryptobenthic species (Gobiidae, Blennidae and Trypterigidae families) tend to react positively to lockdown (17 out of the 23 species so 74%) but show a more balanced response to protection with only 13 out of the 23 species responding positively.

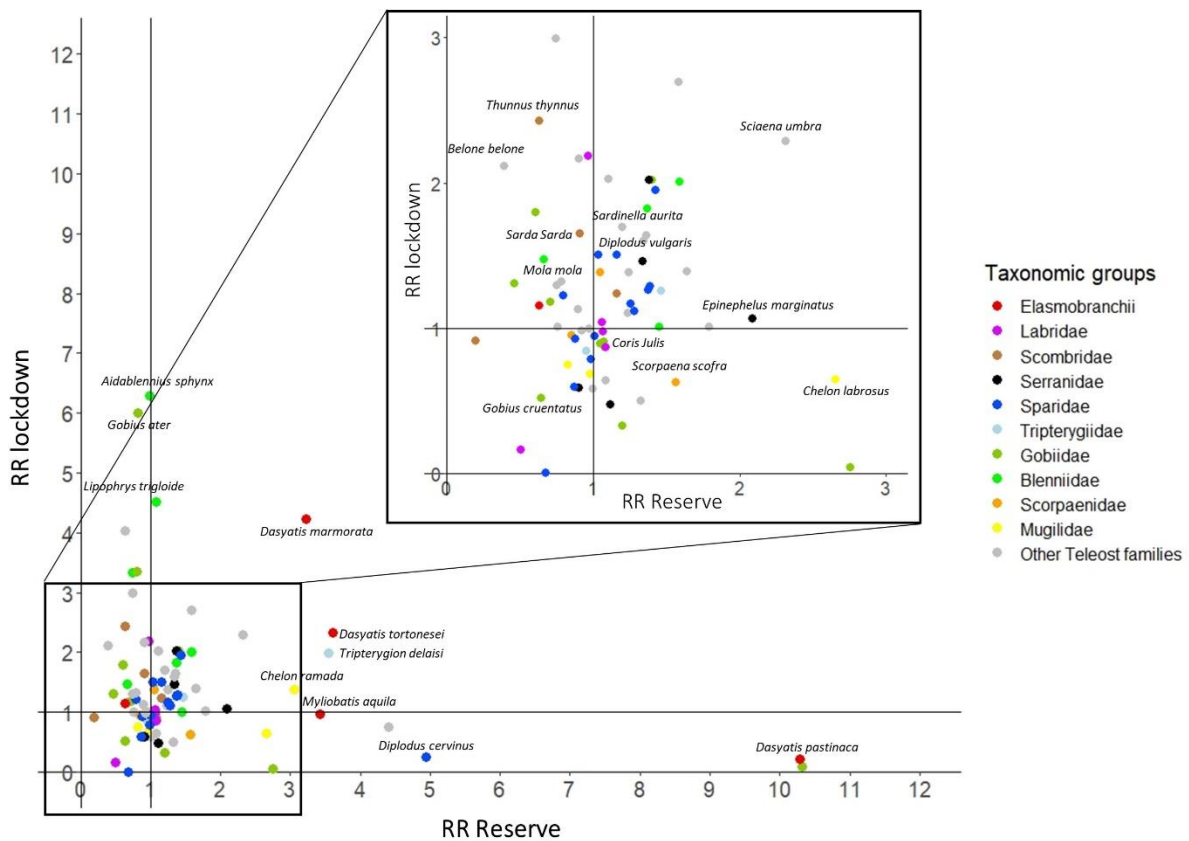


Figure 3: Fish species responses to no-take marine reserves and COVID-19 lockdown in terms of Risk Ratios (RR). The Reserve RR corresponds to the occurrence probability of a fish species inside reserves divided by its occurrence probability outside reserves. The Lockdown RR corresponds to the occurrence probability of a fish species during lockdown divided by its occurrence probability outside lockdown. These occurrence probabilities were estimated for each fish species using predictions of the binomial Generalized Linear Mixed Models (GLMMs). Colors correspond to taxonomic groups. The 20 families for which less than three species were detected are not shown (Other Teleost families).

Influence of species traits on risk ratios

Overall, no significant effect (p -values > 0.05) of species fishing vulnerability, IUCN status and vertical distribution (benthic/demersal/pelagic) was detected on their response to lockdown using GLMs predicting species risk ratios. No significant effect (p -values > 0.05) of species fishing vulnerability and vertical distribution was detected on reserve effect either. However, a significant positive effect of species IUCN status was detected on risk ratio response to protection (p -value = 0.004). Among the five species classified as threatened, three present a higher probability of occurrence inside reserves than during lockdown (*Dasyatis pastinaca*,

Myliobatis aquila and *Epinephelus marginatus*) while two present a higher probability of occurrence during lockdown than inside reserves (*Mola mola* and *Torpedo marmorata*) (Figure 4).

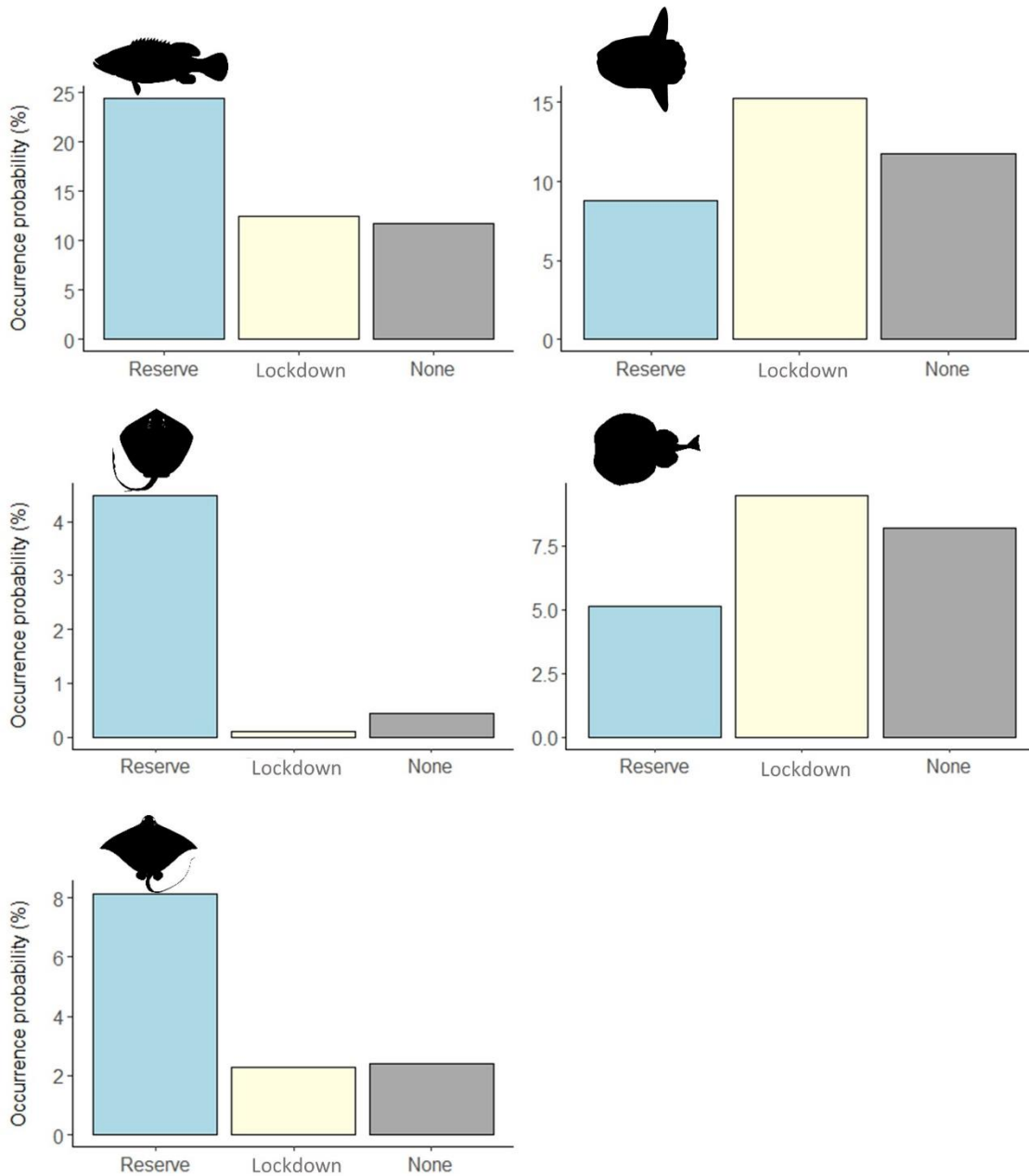


Figure 4: Occurrence probability of five endangered Red-Listed fish species (a) Dusky grouper (*Epinephelus marginatus*) (b) Ocean sunfish (*Mola mola*) (c) Common stingray (*Dasyatis Pastinaca*) (d) Marbled electric ray (*Torpedo marmorata*) and (e) Common eagle ray (*Myliobatis aquila*) inside marine reserves, during COVID-19 lockdown or outside marine reserves without lockdown (None).

Discussion

In our study, we used eDNA data collected from 2018 to 2021 along the French Mediterranean coast to assess the relative effects of protection and COVID-19 lockdown on the occurrence probability of 87 fish species while controlling for environmental, habitat and sampling covariates but also spatial autocorrelation between sites. Our main finding is that most species respond differently to no-take marine reserves and boat traffic during lockdown (*Figure 3*). We highlight that 59% of species have a higher probability of occurrence inside no-take marine reserves than outside, confirming their importance to safeguard marine fish biodiversity (Sala & Giakoumi, 2018) but not for all species (Loiseau et al. 2021). For instance, the endangered and emblematic Dusky grouper (*Epinephelus marginatus*) is more than twice as likely to occur inside marine reserves compared to outside. This species is known to be sedentary with a small home range and to be highly dependent on marine reserves (Hackradt et al., 2014; Pastor et al., 2009). By contrast, its response to the reduction of boat traffic was low (risk ratio = 1.07). The lockdown was probably too short in time to induce a change in the density or home range of this highly territorial species. Our results also suggest that marine reserves are efficient to protect two endangered elasmobranchs: the Common eagle ray *Myliobatis aquila* and the Common stingray *Dasyatis pastinaca*. In the context of a marked decrease in elasmobranch populations across the oceans (Dulvy et al., 2021) and the poor protection offered by partially protected areas to elasmobranchs in the Mediterranean Sea (Di Lorenzo et al., 2022), this result highlights the potential unique role of no-take marine reserves to counteract the decline of such vulnerable species (Pacoureau et al., 2023), even the actual sizes of no-takes zones studied are too small, in comparison to the large home range of these species.

The COVID-19 lockdown, which severely decreased (-51%) the number of vessels in spring 2020 in the Western Mediterranean Sea (March et al. 2021), promoted the occurrence probability for 62% fish species which are more detected during this period than outside (before and after), most of them (21 species) not benefiting from marine reserves (*Figure 3*). Given the short period of this lockdown (4 months), a higher probability of occurrence cannot result from population growth but is only due to rapid changes in home range, behavior, or activity. Such sudden species responses to COVID-19 lockdowns for terrestrial vertebrates

were already reported including inside the highly protected areas suggesting that even 'low-impact' recreational activities may affect wildlife (Wilmers et al., 2021).

Overall, this result suggests that limiting human disturbances, beyond fishing pressure, can have a positive effect on coastal marine biodiversity, additionally and complementary to the reserve effect. Some species like the Ocean sunfish *Mola mola* and the Bluefin Tuna *Thunnus thynnus* do not benefit from marine reserves but their occurrence probability along the French coast increased during the lockdown with a risk ratio of 1.3 and 2.4, respectively. These two pelagic species, particularly vulnerable to fisheries, have a large home range and are known to migrate over long distances in the high sea (Cermeño et al., 2015; Pope et al., 2010). Coastal no-take marine reserves with too limited sizes are not appropriate to safeguard these large home range species on the IUCN Red List. During the lockdown, limiting human presence at sea and boat traffic, the decrease of fishing effort and of noise pollution may have offered them favorable conditions to recolonize the coast. Indeed, Sarà et al. (2007) show that the schooling behavior and movement of Bluefin tunas are affected by the noise of motorboats while Ocean sunfish perform vertical migrations and float at the surface (Potter & Howell, 2011) so can be disturbed or even collide with boats (Schoeman et al., 2020).

Some other species may have moved closer to the coast and live at a shallower depth as human disturbances decrease (Weng et al., 2023). Indeed, anthropogenic noise may affect fish species in many ways (Duarte et al., 2021; Di Franco et al., 2020). For example, noise pollution induced by motorboats is known to increase hiding behavior of the Brown meagre which is usually related to predation risk (La Manna et al., 2016). The noise of motorboats also acts on the behavior of the Mediterranean Damselfish *Chromis chromis* by significantly changing their daily foraging habits (Bracciali et al., 2012). Some fish species may have therefore increased their overall activity during lockdown resulting in a higher detection probability with eDNA metabarcoding as shown in experiments (Thalinger et al., 2021).

Some species have a higher occurrence probability both inside marine reserves and during lockdown showing their high vulnerability to multiple forms of human pressure. This is the case of the iconic Brown meagre. This near-threatened species had been particularly affected by fishing activities and in particular by spearfishing leading to low abundance in Mediterranean unprotected areas (Harmelin-Vivien et al., 2015). Since 2013, the Brown meagre is protected in France against recreational fishing (spearfishing, hook). During the

COVID-19 crisis, the sudden lockdown of recreational activities (boat traffic and poaching) may partly explain the positive response of such species. We also reveal that the Marbled ray *Dasyatis marmorata* has a higher probability of occurrence both inside marine reserves and during lockdown. To our knowledge this species has never been observed along the French Mediterranean coast (Pergent-Martini & Provost, 2022). This species may have expanded its range and recently arrived along the French coast from Greece where the first record of this species was noticed in 2019 (Chatzisprou et al., 2020). Our detections were mainly located in Corsica and the Banyuls marine reserve so the southern entries of the French Mediterranean coast. Almost all the 57 detections of this ray were held from 2020 (only one detection in 2018 and one detection in 2019). Yet, the Marbled ray presence needs to be confirmed by visual observation.

Like every monitoring tool, eDNA metabarcoding has currently some limitations. Behavioral and physiological effects on eDNA release need more investigations (Stewart, 2019). In addition, this method cannot provide information about the size, age, life history stage, and sex of individuals (Miya, 2022) and is still debated about abundance estimates (Sanchez et al., 2022). In our study we fail to find a significant correlation between species vulnerability to fishing and a reserve effect on occurrence. Early life stages or residual populations, often undetectable by standard surveys, may still occur in unprotected areas and be detected by eDNA only (Boussarie et al., 2018 ; Dalongeville et al., 2022). Fish biomass inside marine reserves is key to maintain reproduction capacity (Marshall et al., 2019) and to spillover towards nearby fisheries (Di Lorenzo et al., 2016). So, underwater visual surveys (Harmelin-Vivien et al., 1985; Edgar et al., 2020) and eDNA metabarcoding are necessary complementary methods to monitor protection effectiveness and human impacts (Gold et al., 2021; Mathon et al., 2022). For instance, under tourism shut down due to COVID-19 pandemic restrictions, reef fish biomass increased in Hawaii (Weng et al., 2023), a pattern that may have remained silent when using eDNA metabarcoding only and which suggests a major change in ecosystem functioning.

Our study highlights the importance of no-take marine reserves in biodiversity conservation but also their potential limited benefits for an unexpected high proportion of species in terms of occurrence (41%). This result echoes previous findings showing the weak or even inexistant effect of some marine protected areas on fish biodiversity (Sanabria-Fernandez et al., 2019; Loiseau et al., 2021; Dalongeville et al., 2022) and that protected areas

slow declines only for some lineages across the Tree of Life (Justin Nowakowski et al., 2023). Our results ultimately reveal that French Mediterranean marine reserves are not protected from other forms of disturbance such as noise pollution (Buscaino et al., 2016) produced by touristic boats (La Manna et al., 2016) or even smaller motorboats (Nedelec et al., 2022). We suggest that large no-entry marine reserves, which limit all human disturbances including noise pollution over large areas, should be more efficient to protect more fish biodiversity. For instance, grey reef sharks *Carcharhinus amblyrhynchos* in New-Caledonia are mainly present and only abundant in large no-entry marine reserves (Juhel et al., 2019). As more realistic alternatives, a regulation of visitors and recreational activities or the use of electric boats and more silent boat propellers may be promoted inside marine reserves. At the regional scale, a balanced mix of different protection types such as partially protected areas, no-take marine reserves, and no-entry or 'quiet' marine reserves is certainly needed to achieve the multiple objectives of protected areas which may appear antagonistic (Adams et al., 2023), i.e., conserve biodiversity, host recreational activities and sustain local fisheries. We are still far from this kind of regional design in the Mediterranean Sea since only 0.23% of sea surface is highly or fully protected and only 0.06% is really fully protected (Claudet et al. 2020).

Data availability statement

The data used for this article will be made available in an appropriate public repository upon publication. The codes used for the analyses will be available at https://github.com/agnes-duhamet/reserves_lockdown_fish_species_occurrences upon publication.

Conflict of interest

Teleo primers and the use of amplified fragments for identifying fish diversity from environmental samples are patented by the CNRS and the Université Grenoble Alpes. This patent only restricts commercial applications and has no implications for the use by academic researchers. SPYGEN owns a licence for this patent. AV is research scientists at SPYGEN.

Supplementary material

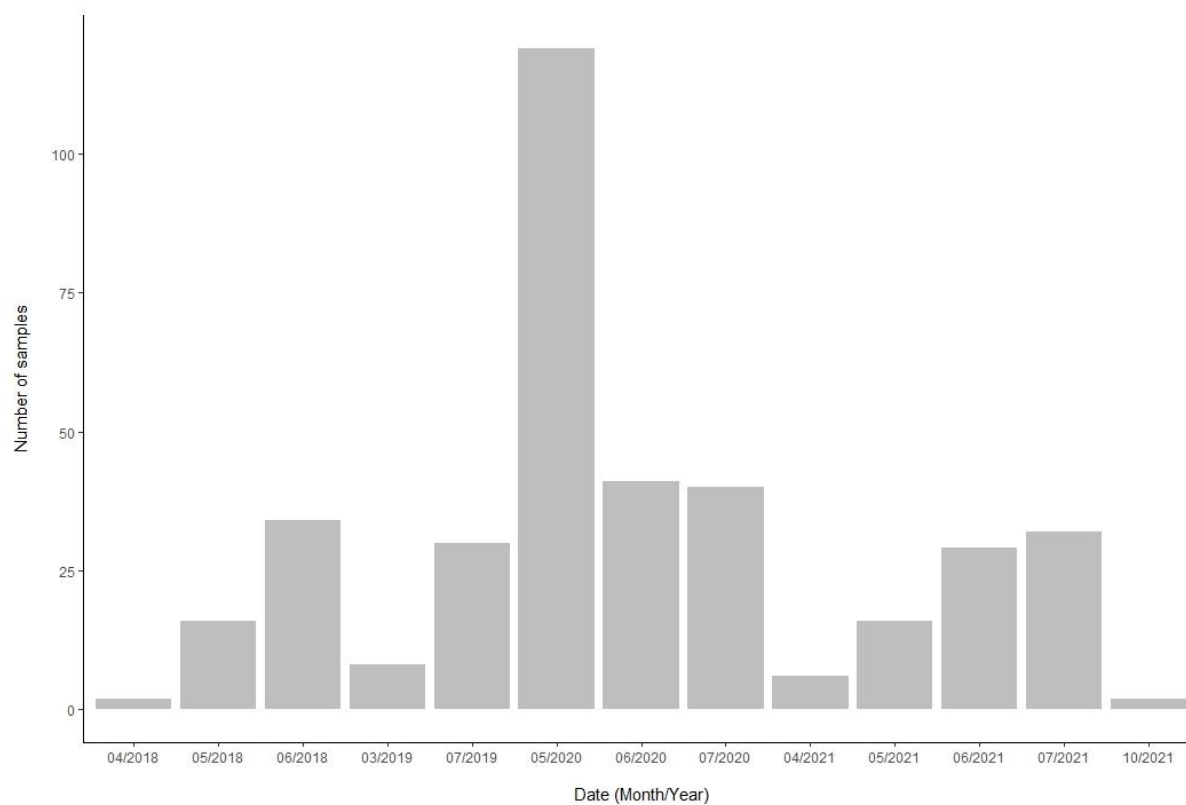


Figure S1: eDNA Sampling calendar

Tables S1: Marine reserves and their characteristics

Site	Marine reserve name	Year of establishment	Size of the no-take zone (ha)
Calvi	Cantonnement de pêche (established and managed by fishermen)	1978	1074
Saint-Florent	Cantonnement de pêche (established and managed by fishermen)	1977	1674
Les Moines	Natural reserve of Bouches de Bonifacio	1999	416
Cerbicale	Natural reserve of Bouches de Bonifacio	1999	126
Lavezzi	Natural reserve of Bouches de Bonifacio	1999	84
Cerbere-Banyuls	Natural Marine reserve of Cerbère-Banyuls	1974	65
Carry-le-Rouet	Côte Bleue Marine Park	1982	85
Calanques	Calanques National Park	2012	1007
Porquerolles	Port-Cros National Park	2007	152
Cap Roux	Cantonnement de pêche (established and managed by fishermen)	2003	445
Roquebrune Cap Martin	Cantonnement de pêche (established and managed by fishermen)	1988	45

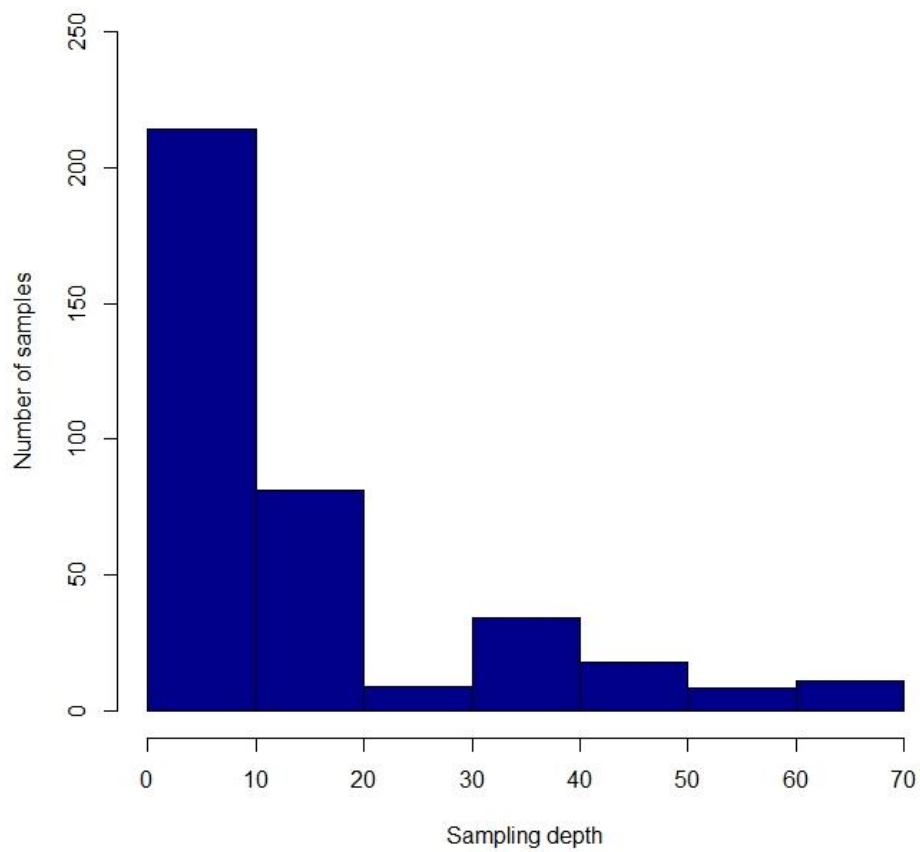


Figure S2: Bathymetric distribution of the 375 eDNA samples

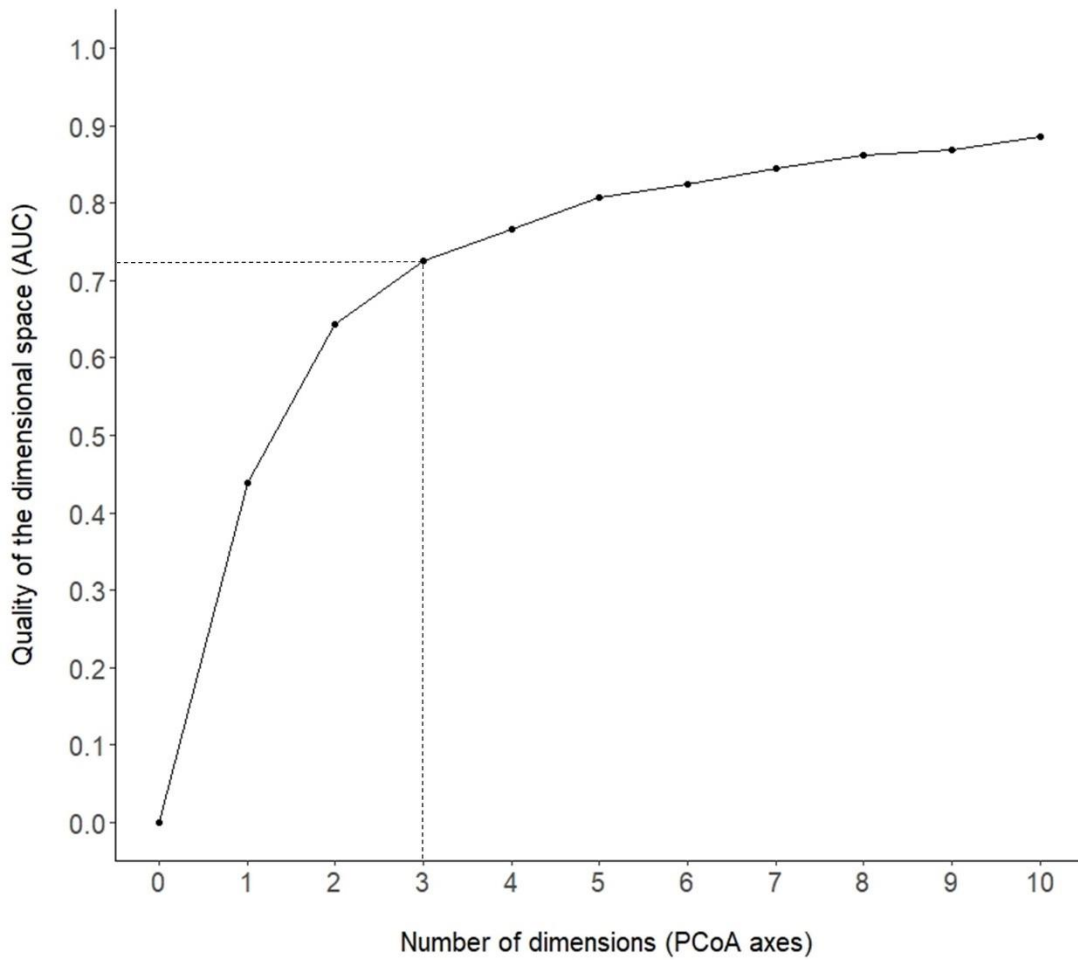


Figure S3: Influence of the number of dimensions (number of retained PCoA axes) on the quality (AUC) of the dimensional space summarizing environmental and methodological variables. The 3 first axes of the PCoA were identified as the most parsimonious by the AUC threshold and elbow-based methods (see Methods).

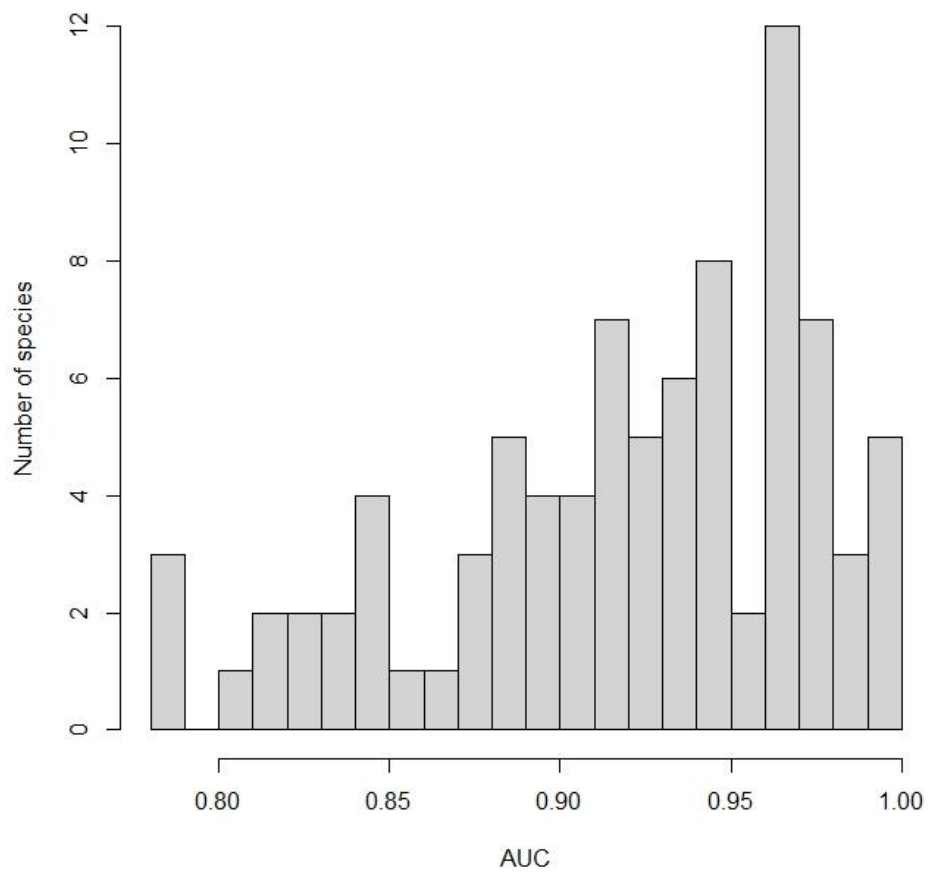


Figure S4: Distribution of species model accuracy (AUC)

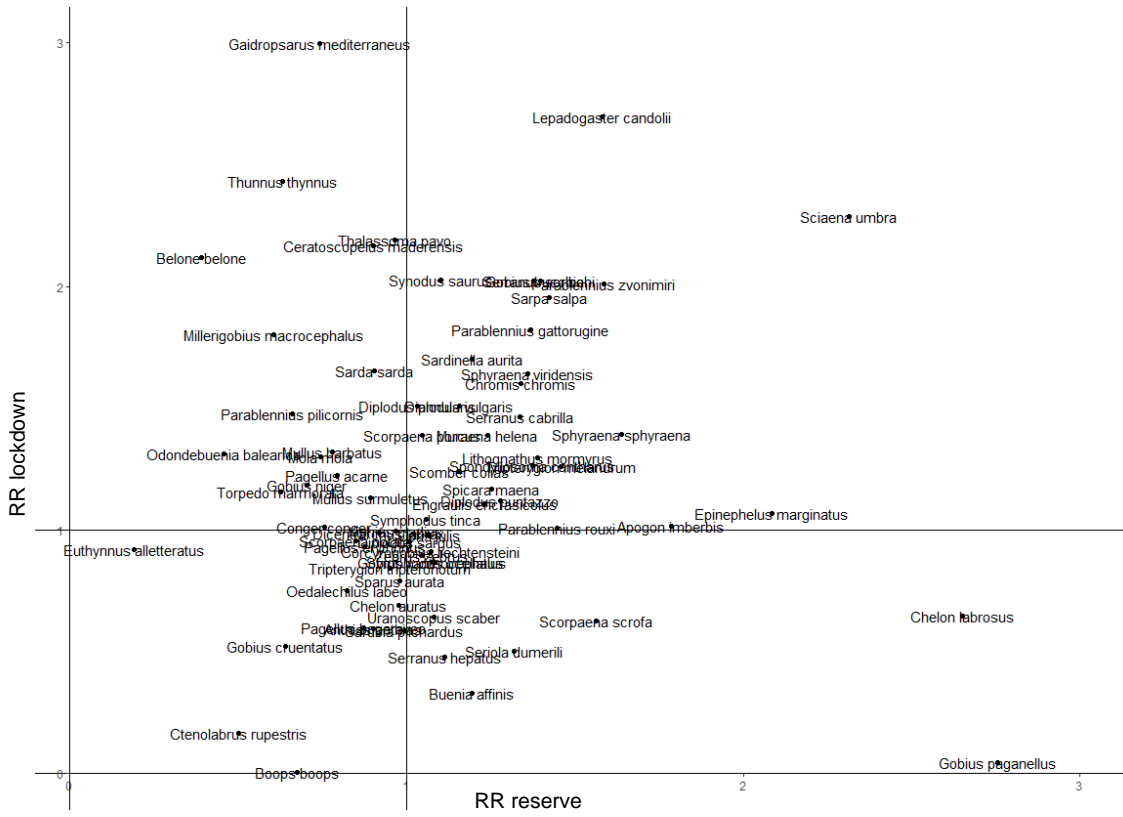


Figure S5: Detailed species responses to reserve and lockdown effects with RR reserve and RR lockdown comprised between 0 and 3

References

- Adams, V. M., Chauvenet, A. L. M., Stoudmann, N., Gurney, G. G., Brockington, D., & Kuempel, C. D. (2023). Multiple-use protected areas are critical to equitable and effective conservation. *One Earth*, 6(9), 1173-1189.
<https://doi.org/10.1016/j.oneear.2023.08.011>
- Albouy, C., Lasram, F. B. R., Velez, L., Guilhaumon, F., Meynard, C. N., Boyer, S., Benestan, L., Mouquet, N., Douzery, E., Aznar, R., Troussellier, 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(8), 2312-2313. <https://doi.org/10.1890/14-2279.1>
- Assis, J., Tyberghein, L., Bosch, S., Verbruggen, H., Serrão, E. A., & De Clerck, O. (2018). Bio-ORACLE v2.0 : Extending marine data layers for bioclimatic modelling. *Global Ecology and Biogeography*, 27(3), 277-284. <https://doi.org/10.1111/geb.12693>
- Baston, D. (2022). *Exactextractr : Fast extraction from raster datasets using polygons. R package version 0.8.2*. <https://CRAN.R-project.org/package=exactextractr>
- Bond, M. E., Valentin-Albanese, J., Babcock, E. A., Heithaus, M. R., Grubbs, R. D., Cerrato, R., Peterson, B. J., Pikitch, E. K., & Chapman, D. D. (2019). Top predators induce habitat shifts in prey within marine protected areas. *Oecologia*, 190(2), 375-385.
<https://doi.org/10.1007/s00442-019-04421-0>
- 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. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 288. <https://doi.org/10.1098/rspb.2021.0112>

- Boussarie, Bakker Judith, Wangensteen Owen S., Mariani Stefano, Bonnin Lucas, Juhel Jean-Baptiste, Kiszka Jeremy J., Kulbicki Michel, Manel Stephanie, Robbins William D., Vigliola Laurent, & Mouillot David. (2018). Environmental DNA illuminates the dark diversity of sharks. *Science Advances*, 4(5), eaap9661.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.aap9661>
- Boyer, F., Mercier, C., Bonin, A., Le Bras, Y., Taberlet, P., & Coissac, E. (2016). obitools : A unix-inspired software package for DNA metabarcoding. *Molecular Ecology Resources*, 16(1), 176-182. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12428>
- Bracciali, C., Campobello, D., Giacoma, C., & Sarà, G. (2012). Effects of Nautical Traffic and Noise on Foraging Patterns of Mediterranean Damselfish (*Chromis chromis*). *PLOS ONE*, 7(7), e40582. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040582>
- Buscaino, G., Ceraulo, M., Pieretti, N., Corrias, V., Farina, A., Filiciotto, F., Maccarrone, V., Grammata, R., Caruso, F., Giuseppe, A., & Mazzola, S. (2016). Temporal patterns in the soundscape of the shallow waters of a Mediterranean marine protected area. *Scientific Reports*, 6(1), 34230. <https://doi.org/10.1038/srep34230>
- Campbell, S. J., Edgar, G. J., Stuart-Smith, R. D., Soler, G., & Bates, A. E. (2018). Fishing-gear restrictions and biomass gains for coral reef fishes in marine protected areas. *Conservation Biology*, 32(2), 401-410. <https://doi.org/10.1111/cobi.12996>
- Carreño, A., & Lloret, J. (2021). Environmental impacts of increasing leisure boating activity in Mediterranean coastal waters. *Ocean & Coastal Management*, 209, 105693.
<https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2021.105693>
- Cermeño, P., Quílez-Badia, G., Ospina-Alvarez, A., Sainz-Trápaga, S., Boustany, A. M., Seitz, A. C., Tudela, S., & Block, B. A. (2015). Electronic Tagging of Atlantic Bluefin Tuna (*Thunnus thynnus*, L.) Reveals Habitat Use and Behaviors in the Mediterranean Sea.

PLOS ONE, 10(2), e0116638. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116638>

Charbonnel, E., Coudre, C., & Francour, P. (2017). Inventaire des espèces de poissons rencontrées sur la Côte Bleue.

Chatzisprou, A., Gubili, C., Laiaki, M., Mantopoulou-Palouka, D., & Kavadas, S. (2020). First record of the marbled ray, *Dasyatis marmorata* (Elasmobranchii : Dasyatidae), from Greece (central Aegean Sea). *Biodiversity Data Journal*, 8, e51100.

<https://doi.org/10.3897/BDJ.8.e51100>

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(1), 97-111. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.01.017>

Cinner, J. E., Maire, E., Huchery, C., MacNeil, M. A., Graham, N. A. J., Mora, C., McClanahan, T. R., Barnes, M. L., Kittinger, J. N., Hicks, C. C., D'Agata, S., Hoey, A. S., Gurney, G. G., Feary, D. A., Williams, I. D., Kulbicki, M., Vigliola, L., Wantiez, L., Edgar, G. J., ...

Mouillot, D. (2018). Gravity of human impacts mediates coral reef conservation gains. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(27), E6116-E6125.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1708001115>

Costello, M. J., & Ballantine, B. (2015). Biodiversity conservation should focus on no-take Marine Reserves : 94% of Marine Protected Areas allow fishing. *Trends in Ecology & Evolution*, 30(9), 507-509. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2015.06.011>

Dalongeville, A., Boulanger, E., Marques, V., Charbonnel, E., Hartmann, V., Santoni, M. C., Deter, J., Valentini, A., Lenfant, P., Boissery, P., Dejean, T., Velez, L., Pichot, F., Sanchez, L., Arnal, V., Bockel, T., Delaruelle, G., Holon, F., Milhau, T., ... Mouillot, D. (2022). Benchmarking eleven biodiversity indicators based on environmental DNA surveys : More diverse functional traits and evolutionary lineages inside marine

reserves. *Journal of Applied Ecology*, 59(11), 2803-2813.

<https://doi.org/10.1111/1365-2664.14276>

Di Franco, E., Pierson, P., Di Iorio, L., Calò, A., Cottalorda, J. M., Derijard, B., Di Franco, A., Galvé, A., Guibbolini, M., Lebrun, J., Micheli, F., Priouzeau, F., Risso-de Faverney, C., Rossi, F., Sabourault, C., Spennato, G., Verrando, P., & Guidetti, P. (2020). Effects of marine noise pollution on Mediterranean fishes and invertebrates : A review. *Marine Pollution Bulletin*, 159, 111450. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111450>

Di Lorenzo, M., Calò, A., Di Franco, A., Milisenda, G., Aglieri, G., Cattano, C., Milazzo, M., & Guidetti, P. (2022). Small-scale fisheries catch more threatened elasmobranchs inside partially protected areas than in unprotected areas. *Nature Communications*, 13(1), 4381. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-32035-3>

Di Lorenzo, M., Claudet, J., & Guidetti, P. (2016). Spillover from marine protected areas to adjacent fisheries has an ecological and a fishery component. *Journal for Nature Conservation*, 32, 62-66. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2016.04.004>

Duarte, C. M., Chapuis, L., Collin, S. P., Costa, D. P., Devassy, R. P., Eguiluz, V. M., Erbe, C., Gordon, T. A. C., Halpern, B. S., Harding, H. R., Havlik, M. N., Meekan, M., Merchant, N. D., Miksis-Olds, J. L., Parsons, M., Predragovic, M., Radford, A. N., Radford, C. A., Simpson, S. D., ... Juanes, F. (2021). The soundscape of the Anthropocene ocean. *Science*, 371(6529), eaba4658. <https://doi.org/10.1126/science.aba4658>

Dulvy, N. K., Pacoureau, N., Rigby, C. L., Pollom, R. A., Jabado, R. W., Ebert, D. A., Finucci, B., Pollock, C. M., Cheok, J., Derrick, D. H., Herman, K. B., Sherman, C. S., VanderWright, W. J., Lawson, J. M., Walls, R. H. L., Carlson, J. K., Charvet, P., Bineesh, K. K., Fernando, D., ... Simpfendorfer, C. A. (2021). Overfishing drives over one-third of all sharks and rays toward a global extinction crisis. *Current Biology*, 31(21), 4773-

4787.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.08.062>

Dureuil, M., Boerder, K., Burnett, K. A., Froese, R., & Worm, B. (2018). Elevated trawling inside protected areas undermines conservation outcomes in a global fishing hot spot. *Science*, 362(6421), 1403-1407. <https://doi.org/10.1126/science.aau0561>

Eddy, T. D., Lam, V. W. Y., Reygondeau, G., Cisneros-Montemayor, A. M., Greer, K., Palomares, M. L. D., Bruno, J. F., Ota, Y., & Cheung, W. W. L. (2021). Global decline in capacity of coral reefs to provide ecosystem services. *One Earth*, 4(9), 1278-1285. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2021.08.016>

Edgar, G. J., Cooper, A., Baker, S. C., Barker, W., Barrett, N. S., Becerro, M. A., Bates, A. E., Brock, D., Ceccarelli, D. M., Clausius, E., Davey, M., Davis, T. R., Day, P. B., Green, A., Griffiths, S. R., Hicks, J., Hinojosa, I. A., Jones, B. K., Kininmonth, S., ... Stuart-Smith, R. D. (2020). Establishing the ecological basis for conservation of shallow marine life using Reef Life Survey. *Biological Conservation*, 252, 108855. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108855>

Gearty, W., Chamberlain, S., & Salmon, M. (2022). *Rredlist : « IUCN » Red List Client. R package version.*

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. *Scientific Reports*, 7(1), 8940. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08850-w>

Gold, Z., Sprague, J., Kushner, D. J., Zerecero Marin, E., & Barber, P. H. (2021). EDNA metabarcoding as a biomonitoring tool for marine protected areas. *PLOS ONE*, 16(2), e0238557. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238557>

- Grorud-Colvert, K., Sullivan-Stack, J., Roberts, C., Constant, V., Horta e Costa, B., Pike, E. P., Kingston, N., Laffoley, D., Sala, E., Claudet, J., Friedlander, A. M., Gill, D. A., Lester, S. E., Day, J. C., Gonçalves, E. J., Ahmadi, G. N., Rand, M., Villagomez, A., Ban, N. C., ... Lubchenco, J. (2021). The MPA Guide : A framework to achieve global goals for the ocean. *Science*, 373(6560), eabf0861. <https://doi.org/10.1126/science.abf0861>
- Hackradt, C. W., García-Charton, J. A., Harmelin-Vivien, M., Pérez-Ruzafa, Á., Le Diréach, L., Bayle-Sempere, J., Charbonnel, E., Ody, D., Reñones, O., Sanchez-Jerez, P., & Valle, C. (2014). Response of Rocky Reef Top Predators (Serranidae : Epinephelinae) in and Around Marine Protected Areas in the Western Mediterranean Sea. *PLOS ONE*, 9(6), e98206. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098206>
- Hadj-Hammou, J., McClanahan, T. R., & Graham, N. A. J. (2021). Decadal shifts in traits of reef fish communities in marine reserves. *Scientific Reports*, 11(1), 23470. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03038-9>
- Harasti, D., Davis, T. R., Jordan, A., Erskine, L., & Moltschanivskyj, N. (2019). Illegal recreational fishing causes a decline in a fishery targeted species (Snapper : *Chrysophrys auratus*) within a remote no-take marine protected area. *PLOS ONE*, 14(1), e0209926. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209926>
- Harmelin-Vivien, M., Cottalorda, J.-M., Dominici, J.-M., Harmelin, J.-G., Le Diréach, L., & Ruitton, S. (2015). Effects of reserve protection level on the vulnerable fish species *Sciaena umbra* and implications for fishing management and policy. *Global Ecology and Conservation*, 3, 279-287. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2014.12.005>
- Jaureguiberry, P., Titeux, N., Wiemers, M., Bowler, D. E., Coscieme, L., Golden, A. S., Guerra, C. A., Jacob, U., Takahashi, Y., Settele, J., Díaz, S., Molnár, Z., & Purvis, A. (2022). The direct drivers of recent global anthropogenic biodiversity loss. *Science Advances*,

8(45), eabm9982. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abm9982>

Juhel, J.-B., Vigliola, L., Wantiez, L., Letessier, T. B., Meeuwig, J. J., & Mouillot, D. (2019).

Isolation and no-entry marine reserves mitigate anthropogenic impacts on grey reef shark behavior. *Scientific Reports*, 9(1), 2897. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37145-x>

Justin Nowakowski, A., Watling, J. I., Murray, A., Deichmann, J. L., Akre, T. S., Muñoz Brenes,

C. L., Todd, B. D., McRae, L., Freeman, R., & Frishkoff, L. O. (2023). Protected areas slow declines unevenly across the tetrapod tree of life. *Nature*, 622(7981), 101-106. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06562-y>

Kroodsma, D. A., Mayorga, J., Hochberg, T., Miller, N. A., Boerder, K., Ferretti, F., Wilson, A.,

Bergman, B., White, T. D., Block, B. A., Woods, P., Sullivan, B., Costello, C., & Worm, B. (2018). Tracking the global footprint of fisheries. *Science*, 359(6378), 904-908. <https://doi.org/10.1126/science.aao5646>

La Manna, G., Manghi, M., Perretti, F., & Sarà, G. (2016). Behavioral response of brown

meagre (*Sciaena umbra*) to boat noise. *Marine Pollution Bulletin*, 110(1), 324-334. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.045>

Lazure, P., & Dumas, F. (2008). An external–internal mode coupling for a 3D hydrodynamical

model for applications at regional scale (MARS). *Advances in Water Resources*, 31(2), 233-250. <https://doi.org/10.1016/j.advwatres.2007.06.010>

Lefcheck, J. S., Edgar, G. J., Stuart-Smith, R. D., Bates, A. E., Waldock, C., Brandl, S. J.,

Kininmonth, S., Ling, S. D., Duffy, J. E., Rasher, D. B., & Agrawal, A. F. (2021). Species richness and identity both determine the biomass of global reef fish communities. *Nature Communications*, 12(1), 6875. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-27212-9>

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 Biology*, *19*(5), e3001195. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001195>
- March, D., Metcalfe, K., Tintoré, J., & Godley, B. J. (2021). Tracking the global reduction of marine traffic during the COVID-19 pandemic. *Nature Communications*, *12*(1), 2415. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22423-6>
- Marcos, C., Díaz, D., Fietz, K., Forcada, A., Ford, A., García-Charton, J. A., Goñi, R., Lenfant, P., Mallol, S., Mouillot, D., Pérez-Marcos, M., Puebla, O., Manel, S., & Pérez-Ruzafa, A. (2021). Reviewing the Ecosystem Services, Societal Goods, and Benefits of Marine Protected Areas. *Frontiers In Marine Science*, *8*. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.613819>
- Marshall, D. J., Gaines, S., Warner, R., Barneche, D. R., & Bode, M. (2019). Underestimating the benefits of marine protected areas for the replenishment of fished populations. *Frontiers in Ecology and the Environment*, *17*(7), 407-413. <https://doi.org/10.1002/fee.2075>
- Mathon, L., Marques, V., Mouillot, D., Albouy, C., Andrello, M., Baletaud, F., Borrero-Perez, G., Dejean, T., Edgar, G., Grondin, J., Guerin, P.-E., Hocdé, R., Juhel, J.-B., Ph.D, K., Maire, E., Mariani, G., McLean, M., Polanco, A., Pouyaud, L., & Manel, S. (2022). Cross-ocean patterns and processes in fish biodiversity on coral reefs through the lens of eDNA metabarcoding. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *289*, 1-10. <https://doi.org/10.1098/rspb.2022.0162>
- Miya, M. (2022). Environmental DNA Metabarcoding : A Novel Method for Biodiversity Monitoring of Marine Fish Communities. *Annual Review of Marine Science*, *14*(1), 161-185. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-041421-082251>

- 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*(9), 1988-2009. <https://doi.org/10.1111/ele.13778>
- Muff, M., Jaquier, M., Marques, V., Ballesta, L., Deter, J., Bockel, T., Hocdé, R., Juhel, J.-B., Boulanger, E., Guellati, N., Fernández, A. P., Valentini, A., Dejean, T., Manel, S., Albouy, C., Durville, P., Mouillot, D., Holon, F., & Pellissier, L. (2022). Environmental DNA highlights fish biodiversity in mesophotic ecosystems. *Environmental DNA*, n/a(n/a). <https://doi.org/10.1002/edn3.358>
- Nedelec, S. L., Radford, A. N., Gatenby, P., Davidson, I. K., Velasquez Jimenez, L., Travis, M., Chapman, K. E., McCloskey, K. P., Lamont, T. A. C., Illing, B., McCormick, M. I., & Simpson, S. D. (2022). Limiting motorboat noise on coral reefs boosts fish reproductive success. *Nature Communications*, *13*(1), 2822. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-30332-5>
- Pacoureau, N., Carlson, J. K., Kindsvater, H. K., Rigby, C. L., Winker, H., Simpfendorfer, C. A., Charvet, P., Pollom, R. A., Barreto, R., Sherman, C. S., Talwar, B. S., Skerritt, D. J., Sumaila, U. R., Matsushiba, J. H., VanderWright, W. J., Yan, H. F., & Dulvy, N. K. (2023). Conservation successes and challenges for wide-ranging sharks and rays. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *120*(5), e2216891120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2216891120>
- Pastor, J., Verdoit-Jarraya, M., Astruch, P., Dalias, N., Nelva Pasqual, J.-S., Saragoni, G., & Lenfant, P. (2009). Acoustic telemetry survey of the dusky grouper (*Epinephelus marginatus*) in the Marine Reserve of Cerbère-Banyuls : Informations on the

territoriality of this emblematic species. *Comptes Rendus Biologies*, 332(8), 732-740.

<https://doi.org/10.1016/j.crvi.2009.03.010>

Pergent-Martini, C., & Provost, C. (2022). Réseau Alien Corse. Rapport d'Activité 2021-2022.

Pita, I., Seguin, R., Shin, Y.-J., Viguier, P., Catry, T., Devillers, R., & Mouillot, D. (2022). SAR

Satellite Imagery Reveals the Impact of the Covid-19 Crisis on Ship Frequentation in the French Mediterranean Waters. *Frontiers in Marine Science*, 9.

<https://doi.org/10.3389/fmars.2022.845419>

Polanco Fernández, A., Marques, V., Fopp, F., Juhel, J.-B., Borrero-Pérez, G. H., Cheutin, M.-

C., Dejean, T., González Corredor, J. D., Acosta-Chaparro, A., Hocdé, R., Eme, D.,

Maire, E., Spescha, M., Valentini, A., Manel, S., Mouillot, D., Albouy, C., & Pellissier, L.

(2021). Comparing environmental DNA metabarcoding and underwater visual census to monitor tropical reef fishes. *Environmental DNA*, 3(1), 142-156.

<https://doi.org/10.1002/edn3.140>

Polanco Fernández, A., Richards, E., Flück, B., Valentini, A., Altermatt, F., Brosse, S., Walser,

J.-C., 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(6), 1113-1127.

<https://doi.org/10.1002/edn3.232>

Pope, E. C., Hays, G. C., Thys, T. M., Doyle, T. K., Sims, D. W., Queiroz, N., Hobson, V. J.,

Kubicek, L., & Houghton, J. D. R. (2010). The biology and ecology of the ocean sunfish

Mola mola : A review of current knowledge and future research perspectives.

Reviews in Fish Biology and Fisheries, 20(4), 471-487.

<https://doi.org/10.1007/s11160-009-9155-9>

Potter, I. F., & Howell, W. H. (2011). Vertical movement and behavior of the ocean sunfish,

Mola mola, in the northwest Atlantic. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 396(2), 138-146. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2010.10.014>

Ranganathan, P., Aggarwal, R., & Pramesh, C. (2015). Common pitfalls in statistical analysis : Odds versus risk. *Perspectives in Clinical Research*, 6, 222.
<https://doi.org/10.4103/2229-3485.167092>

Rousset, F., & Ferdy, J.-B. (2014). Testing environmental and genetic effects in the presence of spatial autocorrelation. *Ecography*, 37(8), 781-790.
<https://doi.org/10.1111/ecog.00566>

Sala, E., & Giakoumi, S. (2018). No-take marine reserves are the most effective protected areas in the ocean. *ICES Journal of Marine Science*, 75(3), 1166-1168.
<https://doi.org/10.1093/icesjms/fsx059>

Sanabria-Fernandez, J. A., Alday, J. G., Lazzari, N., Riera, R., & Becerro, M. A. (2019). Marine protected areas are more effective but less reliable in protecting fish biomass than fish diversity. *Marine Pollution Bulletin*, 143, 24-32.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.04.015>

Sanchez, L., Boulanger, E., Arnal, V., Boissery, P., Dalongeville, A., Dejean, T., Deter, J., Guellati, N., Holon, F., Juhel, J.-B., Lenfant, P., Leprieur, F., Valentini, A., Manel, S., & Mouillot, D. (2022). Ecological indicators based on quantitative eDNA metabarcoding : The case of marine reserves. *Ecological Indicators*, 140, 108966.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.108966>

Sarà, G., Dean, J., D'Amato, D., Buscaino, G., Oliveri, A., Genovese, S., Ferro, S., Buffa, G., Lo Martire, M., & Mazzola, S. (2007). Effect of boat noise on the behaviour of bluefin tuna *Thunnus thynnus* in the Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 331, 243-253. <https://doi.org/10.3354/meps331243>

Schoeman, R. P., Patterson-Abrolat, C., & Plön, S. (2020). A Global Review of Vessel Collisions With Marine Animals. *Frontiers in Marine Science*, 7.

<https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00292>

Sigsgaard, E. E., Torquato, F., Frøslev, T. G., Moore, A. B. M., Sørensen, J. M., Range, P., Ben-Hamadou, R., Bach, S. S., Møller, P. R., & Thomsen, P. F. (2020). Using vertebrate environmental DNA from seawater in biomonitoring of marine habitats.

Conservation Biology, 34(3), 697-710. <https://doi.org/10.1111/cobi.13437>

Spagnol, C., Guyader, O., Le Grand, C., Demaneche, S., Le Roy, E., & Leblond, E. (2021).

Enquête Sur Les Conséquences À Court Terme De La Pandémie De Covid-19 Sur La Pêche Maritime Française. Premier Confinement Et Période Post-Confinement.

France Métropolitaine. *Arch. - Ifremer's Institutional Repos (Ifremer)*.

<https://doi.org/doi:10.13155/84224>

Stewart, K. A. (2019). Understanding the effects of biotic and abiotic factors on sources of aquatic environmental DNA. *Biodiversity and Conservation*, 28(5), 983-1001.

<https://doi.org/10.1007/s10531-019-01709-8>

Takahashi, M., Saccò, M., Kestel, J. H., Nester, G., Campbell, M. A., van der Heyde, M.,

Heydenrych, M. J., Juskiewicz, D. J., Nevill, P., Dawkins, K. L., Bessey, C., Fernandes,

K., Miller, H., Power, M., Mousavi-Derazmahalleh, M., Newton, J. P., White, N. E.,

Richards, Z. T., & Allentoft, M. E. (2023). Aquatic environmental DNA: A review of the macro-organismal biomonitoring revolution. *Science of The Total Environment*, 873,

162322. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162322>

Thalinger, B., Rieder, A., Teuffenbach, A., Pütz, Y., Schwerte, T., Wanzenböck, J., & Traugott,

M. (2021). The Effect of Activity, Energy Use, and Species Identity on Environmental

DNA Shedding of Freshwater Fish. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9.

<https://doi.org/10.3389/fevo.2021.623718>

Tyberghein, L., Verbruggen, H., Pauly, K., Troupin, C., Mineur, F., & De Clerck, O. (2012). Bio-

ORACLE: a global environmental dataset for marine species distribution modelling.

Global Ecology and Biogeography, 21(2), 272-281. <https://doi.org/10.1111/j.1466->

8238.2011.00656.x

Valdivia-Carrillo, T., Rocha-Olivares, A., Reyes-Bonilla, H., Domínguez-Contreras, J. F., &

Munguia-Vega, A. (2021). Integrating eDNA metabarcoding and simultaneous

underwater visual surveys to describe complex fish communities in a marine

biodiversity hotspot. *Molecular Ecology Resources*, 21(5), 1558-1574.

<https://doi.org/10.1111/1755-0998.13375>

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., ... Dejean, T. (2016). Next-

generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA

metabarcoding. *Molecular Ecology*, 25(4), 929-942.

<https://doi.org/10.1111/mec.13428>

Weng, K. C., Friedlander, A. M., Gajdzik, L., Goodell, W., & Sparks, R. T. (2023). Decreased

tourism during the COVID-19 pandemic positively affects reef fish in a high use

marine protected area. *PLOS ONE*, 18(4), e0283683.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0283683>

Williams, B. A., Watson, J. E. M., Beyer, H. L., Klein, C. J., Montgomery, J., Runting, R. K.,

Roberson, L. A., Halpern, B. S., Grantham, H. S., Kuempel, C. D., Frazier, M., Venter,

O., & Wenger, A. (2022). Global rarity of intact coastal regions. *Conservation Biology*,

36(4), e13874. <https://doi.org/10.1111/cobi.13874>

Williams, R., Erbe, C., Ashe, E., & Clark, C. W. (2015). Quiet(er) marine protected areas.

Marine Pollution Bulletin, 100(1), 154-161.

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.09.012>

Wilmers, C. C., Nisi, A. C., & Ranc, N. (2021). COVID-19 suppression of human mobility

releases mountain lions from a landscape of fear. *Current Biology*, 31(17), 3952-

3955.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.06.050>

Yan, H. F., Kyne, P. M., Jabado, R. W., Leeney, R. H., Davidson, L. N. K., Derrick, D. H., Finucci,

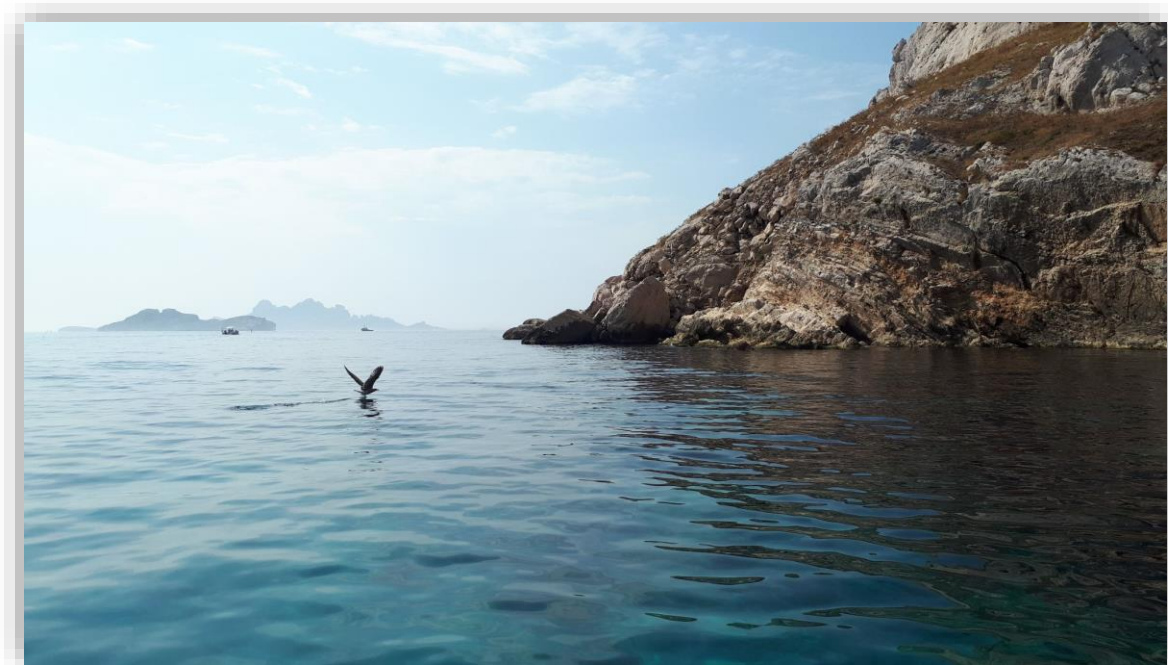
B., Freckleton, R. P., Fordham, S. V., & Dulvy, N. K. (2021). Overfishing and habitat

loss drive range contraction of iconic marine fishes to near extinction. *Science*

Advances, 7(7), eabb6026. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abb6026>

Chapitre 4

Utilisation du *metabarcoding* de l'ADNe pour estimer la distribution des espèces de poissons et déterminer des zones d'intérêt pour les futurs plans de conservation le long des côtes Méditerranéennes françaises



Parc national des Calanques

Préface

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, les aires marines protégées (AMPs) et en particulier les réserves marines où la pêche est strictement interdite sont les principaux outils utilisés pour sauvegarder la biodiversité marine. Les réserves présentes le long des côtes Méditerranéennes françaises, au-delà de ne pas être indemnes de tous les impacts humains tels que la pollution sonore, couvrent une trop faible surface (Claudet et al., 2020). La convention sur la Diversité Biologique stipule que 30% de la surface des océans devra être protégé d'ici 2030 (CBD, 2022). L'étendue des réserves méditerranéennes françaises va donc devoir être augmentée au cours des prochaines années ; d'autant plus que cette région géographique est considérée comme « un point chaude » de biodiversité.

Pour savoir où se situent les zones les plus importantes à protéger, il est nécessaire de connaître la distribution des espèces et leur niche écologique. Le *metabarcoding* de l'ADNe, de par son importante efficacité dans la détection des espèces, est un outil intéressant à utiliser pour affiner ces connaissances.

Ici, j'ai utilisé les résultats du *metabarcoding* de 459 échantillons d'ADNe collectés le long des côtes méditerranéennes françaises entre 2018 et 2022 pour modéliser la distribution de 120 espèces de poissons (112 espèces de téléostéens et 8 espèces d'élaémobranches). J'ai ainsi pu déterminer les distributions de richesse spécifique à la fois pour les téléostéens et les élaémobranches.

En utilisant un algorithme d'optimisation et en tenant compte des aires de distribution prédites, j'ai cherché à déterminer où il serait le plus important de placer les futurs AMPs conformément à la CBD. Au moins 30% de l'aire de répartition de chaque espèce (le long des côtes méditerranéennes françaises) pourrait être protégé en mettant en place des réserves sur 30% des eaux littorales françaises.

Cette étude met en évidence que la zone mésophotique est encore insuffisamment protégée et qu'il sera important de la prendre en compte dans les futurs programmes de conservation.

Manuscrit C

**Adding the third dimension to spatial conservation planning on the
Mediterranean coast using mesophotic eDNA surveys**

A. Duhamet^{1,2}, R. Hocdé¹, L. Mathon², S. Manel^{2,3}, D. Mouillot^{1,3}

¹ MARBEC, Univ Montpellier, CNRS, IFREMER, IRD, Montpellier, France

² CEFE, Univ Montpellier, CNRS, EPHE-PSL University, IRD, Montpellier, France

³ Institut Universitaire de France, IUF, Paris, France

Abstract

The Mediterranean Sea is a biodiversity hotspot highly threatened by human activities such as overfishing. However, this sea is still poorly protected, with only 6.01% of its surface covered by Marine Protected Areas (MPAs) and only 0.23% covered by highly or fully protected areas. New marine reserves need to be created to meet the Convention on Biological Diversity's target of protecting 30% of marine areas by 2030. French Mediterranean no-take marine reserves are mainly located in shallow water zones and poorly cover mesophotic areas. As depth is a major structuring factor of marine biodiversity, it must be taken into account in conservation planning. Here we applied a joint Species Distribution Model on eDNA metabarcoding data to predict the geographic distribution of 120 fish species from shallow to mesophotic depth layers along the french mediterranean coast. Species richness hotspots were determined for elasmobranchs and teleosts. From these estimated distributions, two alternative conservation solutions were proposed. These solutions would make it possible to protect at least 30% of the estimated distribution of each species by creating marine reserves on 30% of the studied area. These solutions would cover upper mesophotic (30-60m) and middle mesophotic (60-90m) zones. Our study paves the way for the use of eDNA metabarcoding data for species distribution modeling and conservation planning.

Keywords: Marine Protected Area, Mediterranean Sea, Conservation planning, Environmental DNA metabarcoding, Mesophotic, Fish, Species distribution Modeling

Introduction

Marine biodiversity is under increasing threats from human activities and climate change (Andrello et al., 2022; O'Hara et al., 2021). More particularly, overfishing and habitat degradation have resulted in fish population declines and local species extirpations (Sherman et al., 2023; Yan et al., 2021), impacting ecosystems functioning as well as food security, socioeconomic outcomes and well-being for billions of people in the world (Eddy et al., 2021).

Marine protected areas (MPAs) have been created to safeguard marine biodiversity and associated contributions to people. No-take marine reserves, i.e. fully protected areas where all fishing activities are prohibited, are widely recognized as efficient to support greater fish biomass inside their boundaries and fisheries yields outside by spillover (Campbell et al., 2018; Marcos et al., 2021; Sala & Giakoumi, 2018; Vilas et al., 2020). However, only 8.2% of the oceans are covered by MPAs and just 2.9% are fully or highly protected from fishing impacts in 2023 (Marine Protection Atlas, 2023). Through the target 3 of the Convention on Biological Diversity adopted during the COP15 in December 2022, governments are aiming to protect 30% of the sea by 2030 (CBD, 2022). To identify areas of particular importance for biodiversity, a major effort to census marine biodiversity must be carried out in order to estimate the geographic distribution and the ecological niche of each species.

The three-dimensional nature of the marine environment is an inherent element of complexity for setting spatial conservation plans (Levin et al., 2018; Venegas-Li et al., 2018). Indeed, depth is a major structuring factor of marine biodiversity with deep environments hosting vulnerable but also endemic species (Danovaro et al. 2014; Duhamet et al., 2023; Fujiwara et al., 2022; Lesser et al., 2019; Rocha et al., 2018). In order to improve marine conservation planning on anthropized coasts, biodiversity censuses must be carried out at various depths and in different types of habitats.

Yet, marine fish species detection can be challenging, especially in mesophotic and deep-sea zones (Duhamet et al., 2023). In addition, rare, elusive, highly mobile, nocturnal, small or cryptobenthic species are especially difficult to detect with conventional methods

like video or visual census (Boussarie et al., 2018; Rey et al., 2023). Environmental DNA (eDNA) metabarcoding is a non-invasive method that is revolutionizing biomonitoring (Takahashi et al., 2023). eDNA metabarcoding corresponds to the analysis of the DNA released by organisms in their environment through their shed skins, mucus or feces. After collection, amplification and sequencing, each DNA sequence is assigned to a species thanks to a reference genetic database. It often outperforms conventional inventory methods for fish species detection (Boussarie et al., 2018; Mathon et al., 2022; Polanco Fernández, Marques et al., 2021) and is particularly promising for mesophotic and deep-sea biodiversity inventories (Duhamet et al., 2023; McClenaghan et al., 2020; Muff et al., 2022). Yet, the extent to which mesophotic eDNA surveys can inform the tri-dimensional distribution of marine fishes and their conservation through the implementation of no-take MPAs remains to be evaluated.

In this study we performed an extensive tri-dimensional eDNA survey in the Mediterranean sea to support conservation planning in this biodiversity hotspot (Coll et al., 2010) highly threatened by human activities (Micheli et al., 2013). This sea is poorly protected since just 6.01% of its surface is covered by MPAs and only 0.23% covered by highly or fully protected areas (Claudet et al., 2020). More precisely, we collected 459 eDNA samples along the french mediterranean coast from 2018 to 2022, from shallow to mesophotic waters (until 120m depth), to estimate and model the geographic distribution of 120 fish species and identify areas of high conservation interest for fish biodiversity.

Methods

Study area and sampling design

459 eDNA samples were collected along the French Mediterranean coast from March 2018 to June 2022 (*Figure 1A*). 326 samples were collected in shallow waters (less than 30 meters depth) and 133 in the mesophotic zone (between 30 and 120 meters depth) (*Figure 1B*). Athena® peristaltic pumps (Proactive Environmental Products LLC, Bradenton, Florida, USA; nominal flow of ~ 1.0 L/min) were used to sample eDNA at 1m depth and submersible pumps (Subspace, Geneva, Switzerland; nominal flow of ~ 1.0 L/min) (Muff et al., 2022) were

used to sample eDNA at greater depths, close to the substrate to maximize demersal and benthic species detection.

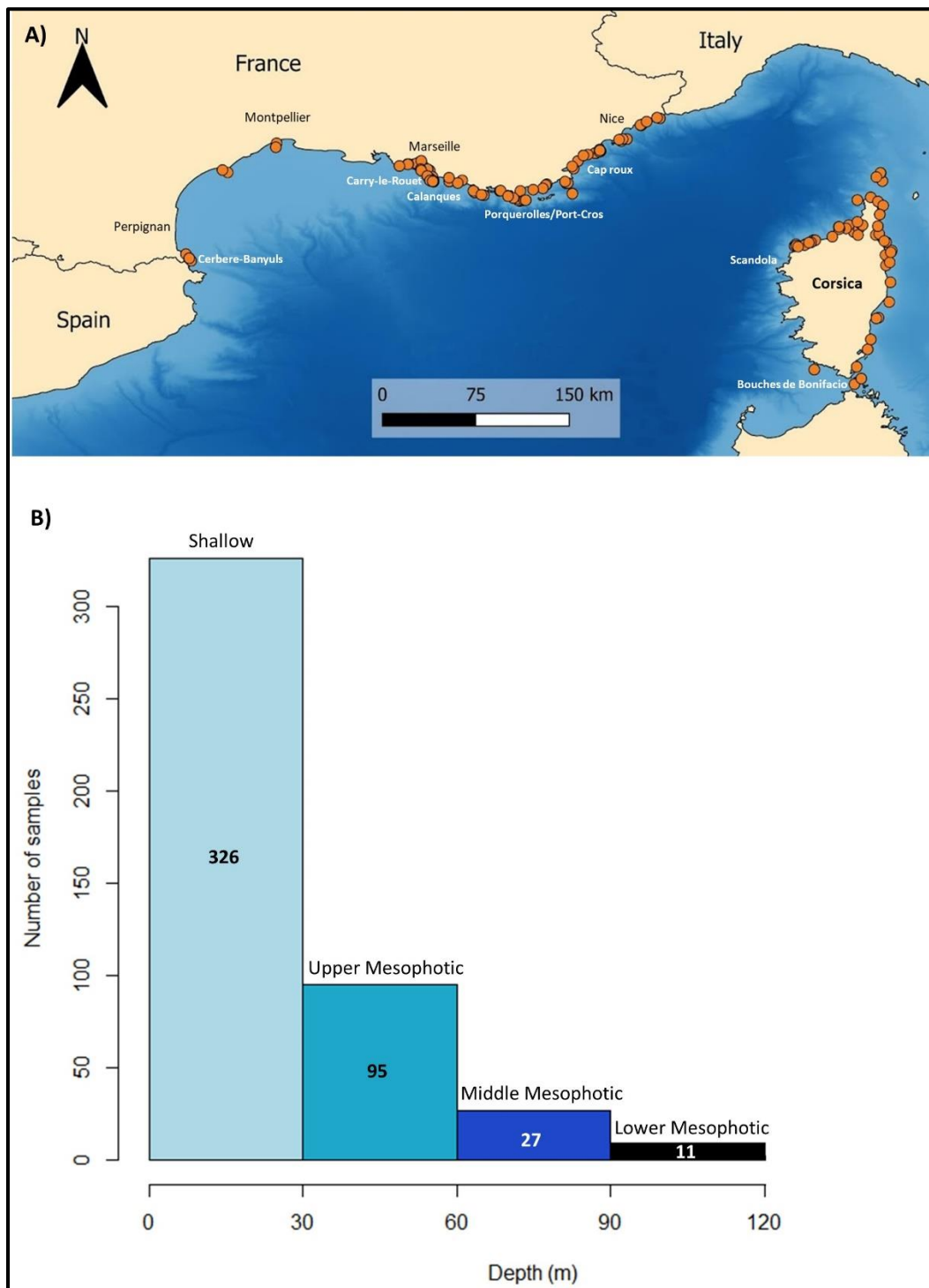


Figure 1: A) Locations of eDNA samples collected along the French Mediterranean coast and B) bathymetric distribution of the eDNA samples

Samples consist of 30L of filtered seawater using pumps, sterile tubes and a VigiDNA 0.2 μM cross-flow filtration capsules (SPYGEN) (Polanco Fernández, Richards et al., 2021). The capsules were emptied of the remaining water and filled with 80 ml of CL1 conservation buffer (SPYGEN) just after the filtration. To avoid contaminations, each sample was collected using single use filtration equipment and disposable gloves. The filtration capsules were stored at room temperature until DNA extraction.

eDNA extraction, amplification and sequencing

eDNA extraction was performed in a room of a dedicated DNA laboratory equipped with positive air pressure, frequent air renewal and UV treatment following the protocol of Polanco Fernández, Richards et al. (2021). Decontamination procedures were performed before and after each extraction. The amplification of eDNA was carried out using the teleost and elasmobranch specific teleo primer pair (forward primer - ACACCGCCCGTCACTCT, reverse primer - CTTCCGGTACTTACCATG) targeting a roughly 60 bp region of the 12S mitochondrial rRNA gene, following the protocol described in Valentini et al. (2016). The PCR mixture was denatured at 95 °C for 10 minutes, followed by 50 cycles of 30 seconds at 95 °C, 30 seconds at 55 °C and 1 minute at 72 °C, and a final elongation step at 72 °C for 7 minutes. 12 PCR replicates were conducted on each sample. The primers were 5'-labeled with an eight-nucleotide tag unique to each PCR replicate. This tag was identical for the forward and reverse primers. After amplification, the PCR products were titrated using capillary electrophoresis QIAxcel (Qiagen GmbH, Hilden, Germany). The PCR products are then purified using a MinElute PCR purification kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany) and pooled in equal volumes to reach a theoretical sequencing depth of 1,000,000 reads per sample. 56 libraries were prepared using the MetaFast protocol (Fasteris, Plan-les-Ouates, Switzerland). Paired-end sequencing (2 × 125 bp) was performed on 44 libraries on separated MiSeq runs (Illumina, San Diego, CA, USA) using the MiSeq Flow Cell Kit Version3 (Illumina, San Diego, CA, USA). Twelve libraries were sequenced using a NextSeq (2 × 150 bp+8) (Illumina) and the NextSeq Mid kit (Illumina). DNA extraction and PCR negative controls were systematically amplified (12 replicates) and sequenced in parallel of the samples.

Bioinformatic analysis

Paired-end sequencing outputs were processed using the Obitools toolkit (Boyer et al., 2016). Reads were merged using *illumina-paired-end*, demultiplexed using *ngsfilter*, and dereplicated using *obiuniq*. Sequences with less than 10 reads, shorter than 20 bp, and labelled “internal” by *obiclean* software were discarded. We accounted for tag-jumps and index-hopping (Polanco Fernández. et al., 2021). Taxonomic assignments were carried out using *ecotag* on both sequences retrieved from our Mediterranean database comprising 222 species and those of GenBank® release 247. With this combination our reference database covers 81% of the regional fish species pool (Charbonnel et al., 2017). Sequences showing less than 98% similarity to the reference databases were removed.

Habitat and environmental variables

To model the distribution of each species in fish communities, five environmental variables were extracted at each eDNA sampling point: depth, distance to the coastline, marine habitats, sea surface temperature and primary productivity (chlorophyll-a concentration).

Histolitt® coastline was used to calculate the distance between the sampling sites and the coastline. Temperature and chlorophyll-a concentration were downloaded from **bio-oracle** (Assis et al., 2018) <https://www.bio-oracle.org/>. Marine habitats data came from DONIA EXPERT maps of the MEDTRIX platform (https://medtrix.fr/portfolio_page/donia-expert/) with a resolution of 500m x 500m. This dataset contains 10 habitats types: coralligenous, infralittoral soft bottom, circalittoral soft bottom, *Posidonia oceanica* seagrass meadow, dead mat of *Posidonia oceanica*, Cymodocea seagrass meadow, artificial habitats, infralittoral algae, pebbles and rocky habitat.

Distance to the coast was extracted thanks to the function NNJoin (Nearest Neighbour spatial Join) of the QGIS software.

Mean depth, mean temperature, mean chlorophyll-a concentration and proportion of each habitat type were estimated in a buffer of 500m around each eDNA sampling point. The

exact_extract function of R package *exactextractr* (v0.9.0) (Baston, 2022) was used to extract these values from each environmental raster.

The mean values of the same variables were then extracted in each 1km x 1km cell of a spatial grid along the French Mediterranean coast.

Species distribution modeling

A joint Species Distribution Model (jSDM) (Pichler & Hartig, 2021) was carried out using the function *sjSDM* from the R package “*sjSDM*” (v1.0.5) to model the distribution of each species along the french mediterranean coast. jSDM differs from classical Species Distribution Model (SDM) by integrating, in addition to environmental predictors, the possibility of a residual species–species correlations. These species co-occurrence patterns which are not explained by environmental predictors can be the result of biotic interactions (e.g. mutualism, predation, competition) or missing environmental predictors that shape the co-occurrence or co-absence of species (Bystrova et al., 2022; Pollock et al., 2014). Our jSDM also takes into account spatial autocorrelation by integrating spatially structured residual covariance. This jSDM is based on a multivariate probit model (MVP).

The 120 species detected in at least 10 samples were included in this model. Species occurrences, environmental variables described above and spatial coordinates of each eDNA sample were included in this model.

The model quality analysis was assessed using the AUC (Area Under the Curve) metric based on the Receiver Operating Characteristic (ROC) curve for each species with the function *auc* of the R package *pROC* (v1.18.0). ROC curve represents the true positive rate (Sensitivity) in function of false positive rate (1-Specificity). Therefore, the closer the AUC is to 1, the better the model's discriminating power between presences and absences. AUC is often considered good enough when it is equal to or greater than 0.7. (Mandrekar, 2010). We complemented this model quality analysis by assessing the McFadden's Pseudo-R² for each species (McFadden, 1973). This metric is calculated as follow:

$$1 - \frac{LL_{full}}{LL_{null}}$$

Where LL_{full} is the log-likelihood of the full model with all variables and LL_{null} the log-likelihood of the null model which includes only the intercept (but no variables).

Goodness of fit of the model is usually considered as acceptable if McFadden's Pseudo- R^2 is equal to or greater than 0.2 (McFadden, 1973).

We then partitioned the importance of each of the three components of the model (environment, species association and spatial effect) in predicting species occurrences by decomposing the McFadden's Pseudo- R^2 among the different components (i.e. goodness of fits for each component) as in Leibold et al. (2022).

Predictions

The *predict* function of the R package sjSDM was used to predict the occurrence probability of each fish species in each 1km x 1km cell of the spatial grid where we estimated the habitat and environmental variables. The optimal threshold maximizing sensitivity and specificity was then determined for each species. The occurrence probability data by cell were then transformed in presence/absence data using this optimal threshold: occurrence probabilities smaller than the threshold were assigned to species absences and occurrence probabilities bigger than the threshold were assigned to presences.

Species richness by cell of the spatial grid were then determined by summing species presences for teleosts and elasmobranchs.

Conservation planning

A spatial conservation prioritization was then performed by maximizing each species protection while minimizing the surface area of reserves. For doing so, the spatial prioritization package *prioritizr* (Hanson et al., 2023) was used, with the Gurobi optimizer, to identify conservation priority areas along the french Mediterranean coast. A target of protecting at least 30% of each species distribution in the studied area was set. An equal conservation cost for all the cells in the presence/absence spatial grid was applied.

Existing no-take marine reserves were taken into account for spatial prioritization using the *add_locked_in_constraints* factor in the *prioritizr* conservation planning problem

formulation. The shapefile of no-take marine reserves was downloaded from Abecasis et al (2022). This shapefile was stacked with the raster file of the presence/absence spatial grid to determine which cells were included in existing no-take marine reserves.

Several more or less fragmented conservation scenarios were explored by changing the boundary length modifier (BLM) value via the *add_boundary_penalties* factor in the *prioritizr* conservation planning problem formulation. The higher the BLM value, the less fragmented the proposed protected areas are. Five BLM values ranging from 10^{-4} to 1 were computed (10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} , 1). Since large marine reserves are known to be more efficient to restore fish abundance and biomass (Claudet et al., 2008; Malcolm et al., 2016), we tried to find the least fragmented solution that met the target of protecting at least 30% of the predicted distribution of each species while not exceeding 30% of reserve coverage.

Results

eDNA metabarcoding

A total of 277,214,408 sequences were recovered after bioinformatic filtering, with an average of 602,640 sequences per eDNA sample. A total of 179 species were identified thanks to eDNA metabarcoding. 120 species were detected in at least 10 samples (*Figure S1*). 27 species were detected on average in each eDNA sample. 79 sequences were not assigned to a species because of a lack of taxonomic resolution (i.e., several species of the same family or the same genus sharing the same sequence for the *teleo* metabarcoding marker).

Model quality

A jSDM was performed to model the distribution of these 120 species detected in at least 10 eDNA samples. Both AUC and McFadden pseudo- R^2 metrics suggest that species occurrences were accurately predicted by our jSDM model (*Figure 2*). Indeed, only 12 species had an AUC lower than 0.7 and the mean AUC was 0.8. Only one species has a McFadden pseudo- R^2 lower than 0.2 while the mean pseudo- R^2 was 0.45. These two model quality evaluation metrics are strongly and positively correlated (*Pearson correlation coefficient = 0.65*, p -value= 1.4×10^{-15}) (*Figure S2*).

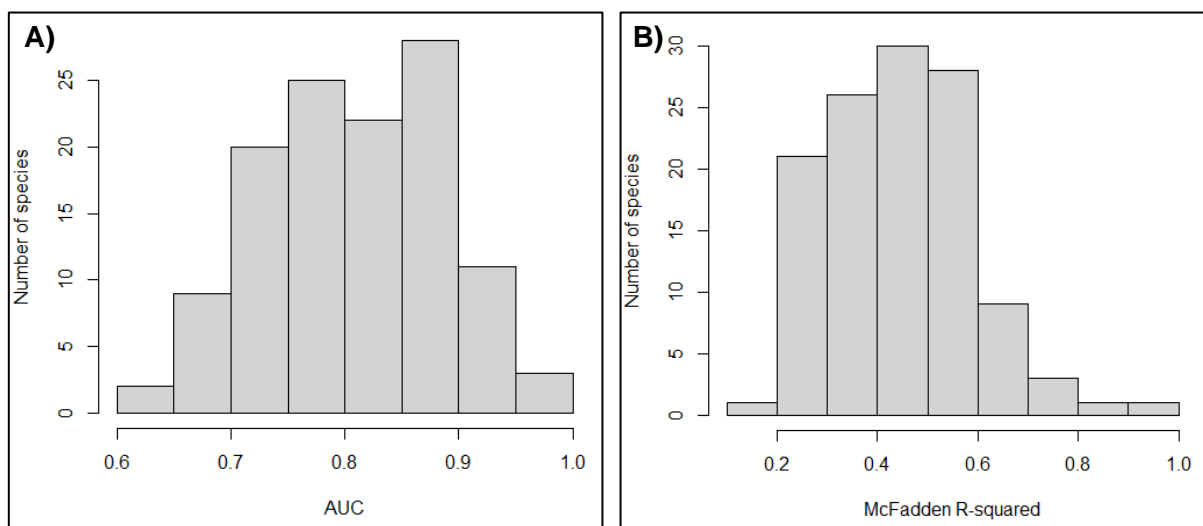


Figure 2: Model quality distribution across species based on the A) AUC metric and the B) McFadden pseudo- R^2

The relative influence of environment and species associations were high for most species while space influence was relatively low (*Figure 3*). On average, environmental variables contributed to 41% of the McFadden pseudo- R^2 , while species associations contributed to 46% and space contributed to 13%.

Therefore, taking into account species associations (which can be the result of biotic interactions or missing environmental variables) in addition to the environment greatly improved the model's accuracy.

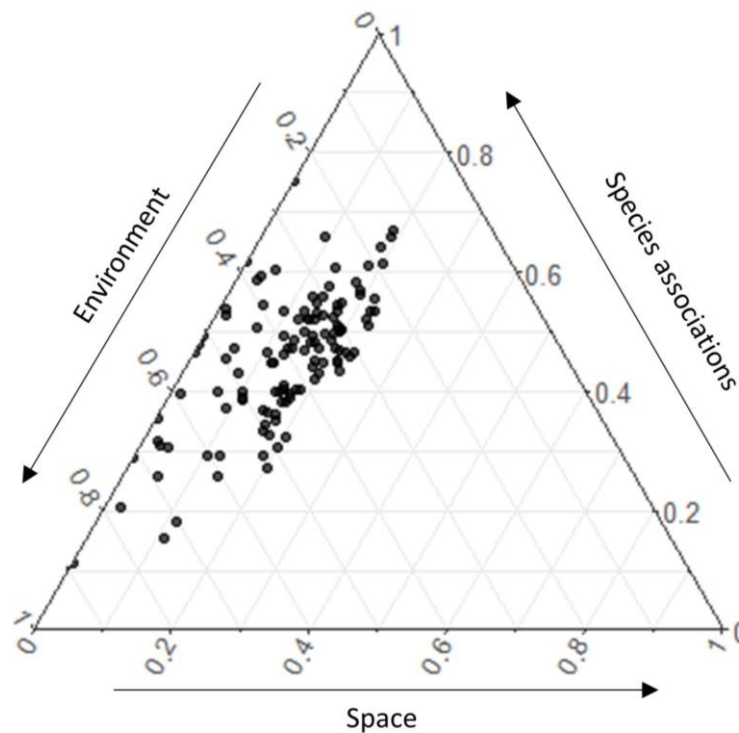


Figure 3: Contribution of environment, species associations and space to McFadden pseudo- R^2 of each species. Each dot corresponds to a fish species.

Fish species distributions

Then, species presences and absences were predicted in each 1km x 1km cell of the spatial grid. This way, the geographic coverage of the 120 fish species was assessed (*Figure S3*). Distribution areas ranged from 259 km² for the Steinitz's goby (*Gammogobius Steinitz*) to 6,584 km² for the Common pandora (*Pagellus erythrinus*). Mean distribution area was 2,613 km² (*Figure S4*).

Species richness patterns differed between teleost and elasmobranch. Teleost richness hotspots (more than 60 species) were located near the coast between Marseille and the Italian border and between Perpignan and the Spanish border (*Figure 4A*). For elasmobranch, species richness was higher in the northern part of the Corsica island, especially off the Cap Corse (*Figure 4B*).

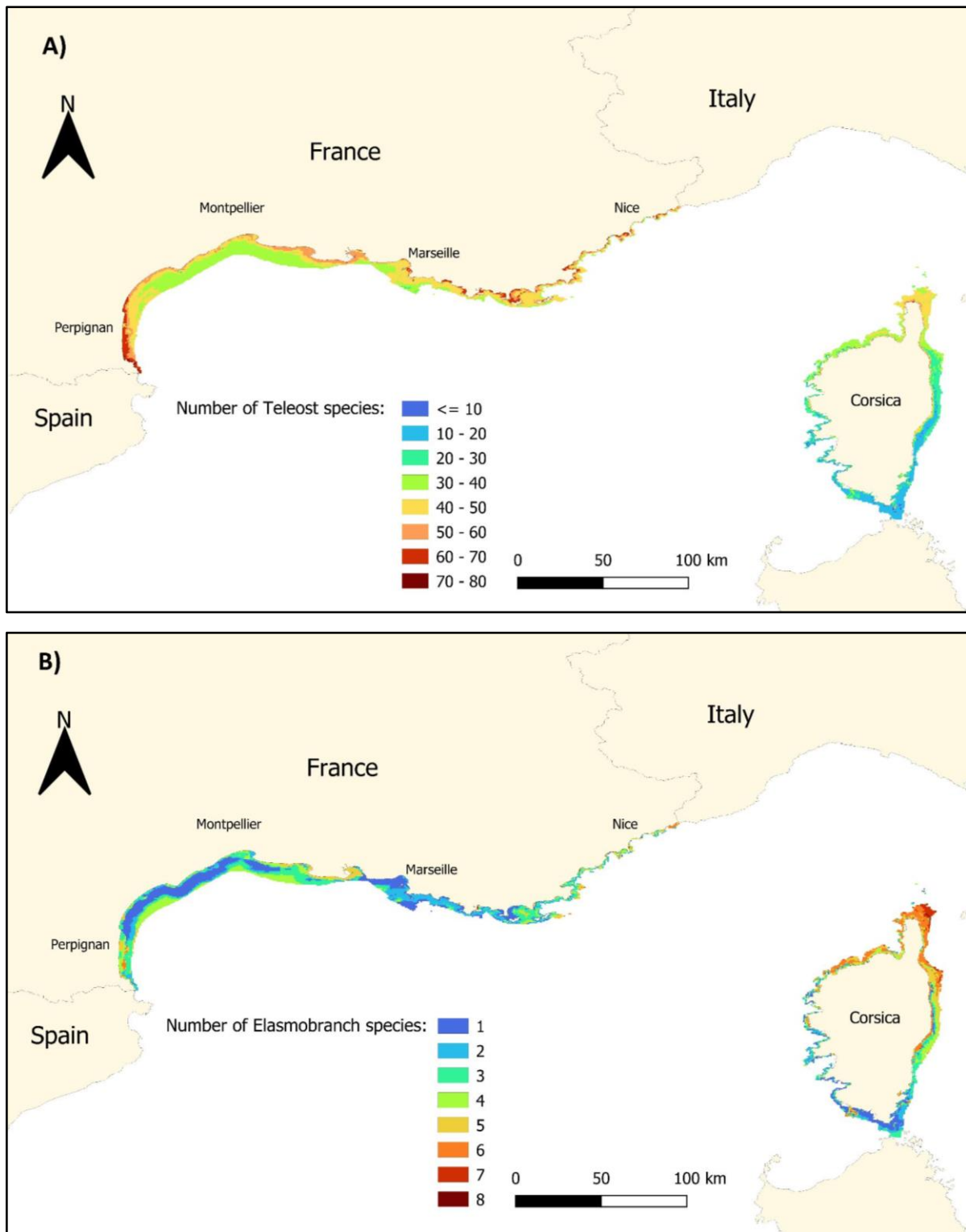


Figure 4: Fish species richness estimated from the joint Species Distribution Model for A) teleost species and B) elasmobranch species.

Existing no-take marine reserves

No-take marine reserves currently cover only a small part of the estimated geographic area of each species (*Figure 5A*). 68% of the species are protected in less than 2% of their range. Less than 0.5% of the predicted range of six of the eight elasmobranch is covered by no-take marine reserves (*Figure S5 A*).

No-take marine reserves are not evenly distributed across the different depth layers, (*Figure 5B*). They mainly cover shallow areas. More precisely, 1.54% of shallow areas (0-30m depth) are covered by no-take marine reserves while only 0.68% of the middle mesophotic areas (60-90m) are protected.

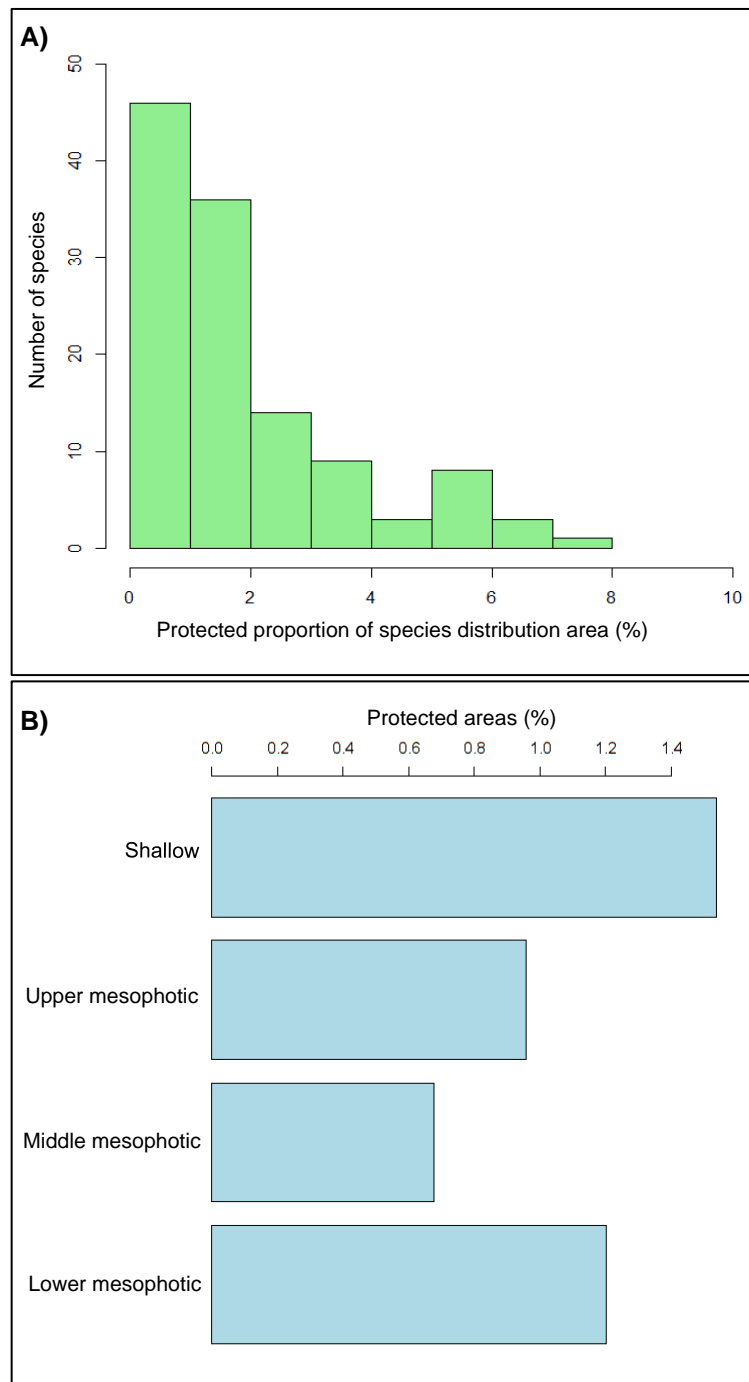


Figure 5: A) Proportion of fish species distributions covered by the current no-take marine reserves along the french mediterranean coast. B) Proportion of shallow (0-30m), Upper mesophotic (30-60m), Middle mesophotic (60-90m) and Lower mesophotic (90-120m) zones covered by the current no-take marine reserves along the french mediterranean coast.

Spatial conservation planning

Only the two first conservation solutions with BLM value of 10^{-4} and 10^{-3} did not exceed 30% of protected areas and, therefore, were in accordance with the CBD target. The

least fragmented solution is the one with a BLM value of 10^{-3} (*Figure 6A*). This conservation solution covers 30% of the studied area and allows to protect at least 30% of each species' estimated geographic distribution (*Figure 6B*), even for elasmobranch species (*Figure S5 B*). Eighteen species would even have more than 35% of their range covered by no-take marine reserves under this solution.

Unlike current no-take marine reserves, this conservation solution covers roughly the same proportion of shallow, upper mesophotic and middle mesophotic zones (*Figure 6C*). This suggests the importance of protecting mesophotic zones.

The alternative more fragmented conservation solution with the 10^{-4} BLM value covers 29% of the studied area (*Figures S5 A*). This solution also covers at least 30% of each species' estimated geographic range (*Figure S6 B*) and covers a high proportion of upper and middle mesophotic zones (*Figure S6 C*).

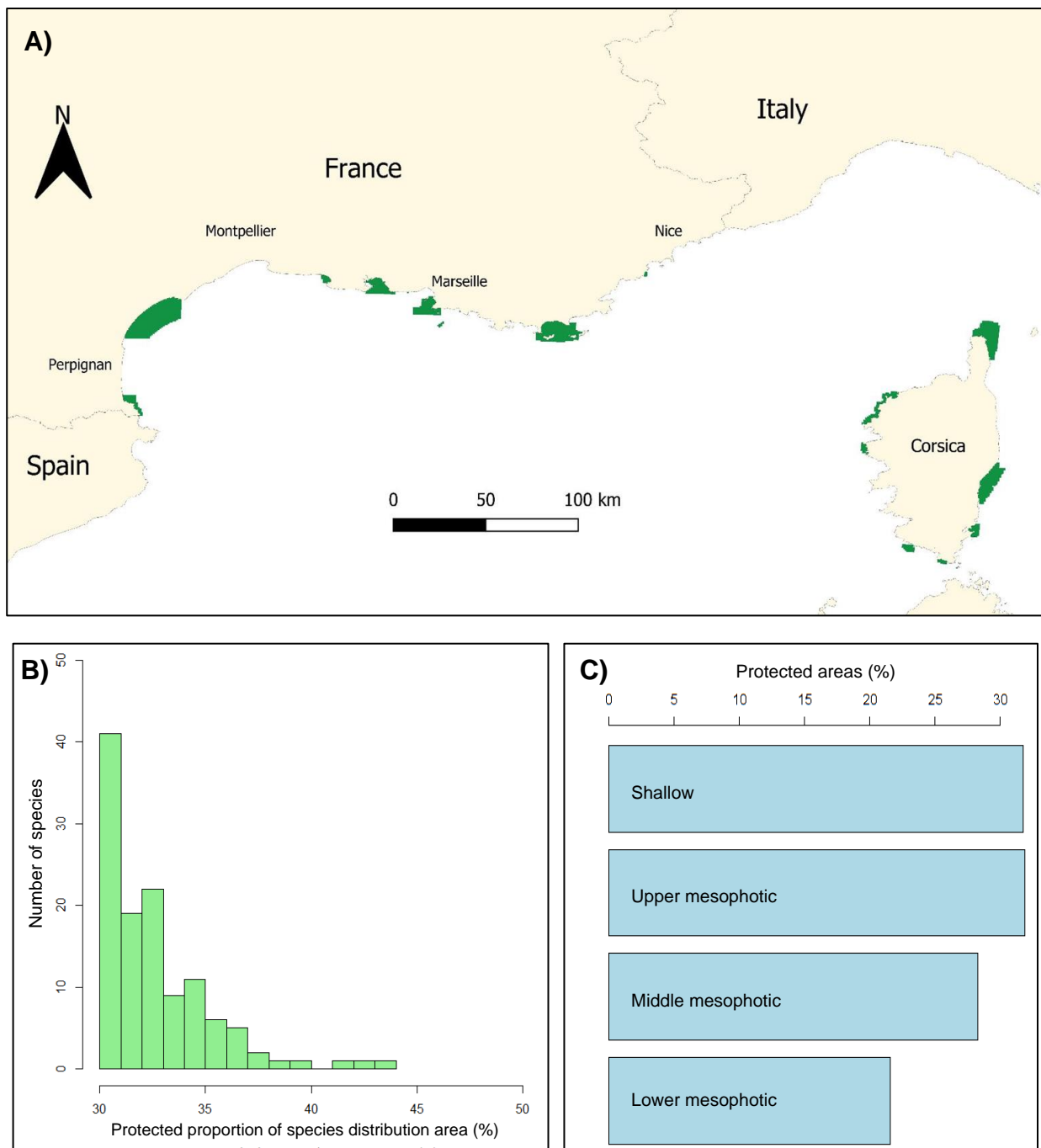


Figure 6: Least fragmented conservation solution assessed through spatial conservation prioritization ($BLM = 10^{-3}$). This solution meets the targets of protecting at least 30% of each species predicted distribution by protecting 30% of the studied area. A) Protected areas (in green) according to the conservation solution. B) Proportion of fish species distribution covered by the conservation solution. C) Proportion of each bathymetric zone covered by the conservation solution.

Discussion

In this study, we used the metabarcoding of 459 eDNA samples collected from shallow waters to the mesophotic zones to estimate the distribution of 120 fish species along the french mediterranean coast. We can highlight some fish species richness hotspots. While elasmobranch species richness was the highest in the northern part of Corsica with up to 8 species per 1km x 1km spatial unit (*Figure 3B*), teleost species richness hotspots were predicted both between Marseille and the Italian border with up to 69 species, and between Perpignan and the Spanish border with up to 80 species per 1km x 1km spatial unit (*Figure 4A*). The predicted species richness was certainly underestimated since (i) the distribution of the 59 species detected in less than 10 samples was not modeled, (ii) 79 sequences were not assigned to a species because of a lack of taxonomic resolution of the teleo metabarcoding marker, and (iii) 19% of the regional fish species pool were not present in our reference database and, therefore, were not detectable.

The accuracy of our jSDM model suggests that species distributions have been correctly estimated. However, the western part of Corsica and the region located between Perpignan and Marseille as well as lower mesophotic zones (90-120m) are still undersampled. Completing eDNA sampling in these geographical and bathymetric zones could greatly improve the quality of species distribution predictions by limiting extrapolation. In the jSDM, the relative influence of species associations was globally as high as the influence of the environmental predictors, suggesting that some environmental variables shaping species distributions were missing (*Figure 3*). In fact, species associations can be the result of biotic interactions but also missing environmental predictors that shape the co-occurrence or co-absence of species (Bystrova et al., 2022; Pollock et al., 2014). Therefore, adding other environmental predictors to our jSDM such as fine-scale habitat structure, ocean currents, fishing pressure or main fishing methods locally used could decrease the influence of species associations and improve model's accuracy. The low influence of space suggests that latitude and longitude do not shape fish species distribution beyond environmental variables. This can be explained by the relatively restricted geographical area we have studied (Leibold et al., 2022).

Each species is protected in a small proportion of its modeled geographic range by current marine reserves (*Figure 5A*). French Mediterranean reserves still only cover small areas (Claudet et al., 2020) and are far from sufficient to meet the target set by the Convention on Biological Diversity (CBD, 2022), i.e. 30% of protection. Furthermore, we can notice that these reserves are mainly located in shallow water areas (*Figure 5B*) while mesophotic areas benefit from very little protection. This observation is shared at the global scale (Biber et al., 2022). As depth is an important driver structuring ecological communities (Lesser et al., 2019; Rocha et al., 2018), marine reserves should cover ecosystems of all depths in order to efficiently protect most species in the ocean (Levin et al., 2018).

Using fish species distributions estimated by applying the jSDM model with eDNA data, a conservation solution that meets the objective of the Convention on the Biological Diversity was proposed (CBD, 2022). This solution (*Figure 6A*) would allow to protect at least 30% of the estimated distribution of each species by creating marine reserves on 30% of the studied area. It reveals that mesophotic areas have a high conservation interest for fish species protection since the conservation solution plans to protect around 32% of upper mesophotic (30-60m) and around 28% of the middle mesophotic zone (60-90m). The increase of the depth range covered by each marine reserve would increase their efficiency as described by Goetze et al. (2021) on the Australian coast. Protecting deeper ecosystems not only maintains species mainly observed in mesophotic zones like the Blackbellied angler (*Lophius budegassa*), but also species such as the Dusky grouper (*Epinephelus marginatus*) whose larger adult individuals are known to live deeper than younger ones (Condini et al., 2018; Sbragaglia et al., 2021). Under the climate change context, mesophotic zones can act as refugia during marine heatwaves (Giraldo-Ospina et al., 2020), making their protection even more crucial.

The conservation solution presented in the main manuscript (*Figure 6A*) is mainly constituted by a few large marine reserves rather than many small ones (i.e., low fragmentation). Large marine reserves are known to be more efficient to restore fish abundance and biomass (Claudet et al., 2008; Malcolm et al., 2016) and are more effective for the protection of highly mobile species like sharks (Dwyer et al., 2020). Yet, the low level

of fragmentation induces that large areas would remain unprotected between these reserves. High dispersion potential of teleost fish species, in particular during their pelagic larval stage (Manel et al., 2019), could displace the benefit of marine reserves towards these large unprotected areas through larval or adult spillover. De Leo & Micheli (2015) found that a few large marine reserves are more effective at restoring overall fish biomass and are more beneficial to the fishing sector than many small ones for species with long larval dispersion distance (= 100 km). However, the creation of such large reserves could be challenging given local socioeconomic constraints and recreational activities (Sbragaglia et al., 2023). So, a more fragmented alternative solution was presented (*Figure S6*).

Here, the conservation solutions proposed only take into account biodiversity aspects but not local socioeconomic constraints since we set the same conservation cost on all the 1km x 1km planning units. Some areas might be more difficult and costly to protect than others. Prior to the creation of a marine reserve, transparent discussions with all stakeholders must take place in order to find the most consensual solution that can both meet biodiversity conservation objectives and be socially acceptable (Reimer et al., 2023; Voskamp et al., 2023). Socio-economic constraints could be integrated into our spatial conservation prioritization by setting different conservation costs in each planning unit, or excluding some of them by integrating stakeholders in discussions.

In this study, we have estimated fish species distributions near the seafloor. Our method is therefore more appropriate to study the distribution of demersal and benthic species than pelagic ones (27 pelagic species in our dataset). Sampling eDNA along the water column would enable us to estimate the three-dimension distribution of pelagic species (Canals et al., 2021; Visser et al., 2021) and refine conservation plans by integrating the three-dimensionality of the pelagic environment (Doxa et al., 2022; Venegas-Li et al., 2018). In addition, the conservation solution was set up for fish species protection. Other taxa distributions could be assessed using eDNA metabarcoding (Taberlet et al., 2018) and other conservation solutions could be explored by integrating them.

Once created, new marine reserves need to be appropriately managed and monitored over time. eDNA metabarcoding, by their non-destructive nature, high sensibility on species

detection and relative ease of use, could improve marine reserve monitoring (Capurso et al., 2023; McGeady et al., 2023).

Our study provides an innovative framework of species distribution modeling and spatial conservation planning taking into account mesophotic areas thanks to eDNA metabarcoding. To efficiently restore and protect all marine biodiversity, future conservation planning will need to integrate multiple ecosystem types (Vozzo et al., 2023), from the shallowest to the deepest.

Data availability statement

The data used for this article will be made available in an appropriate public repository upon publication. The codes used for the analyses will be available at https://github.com/agnes-duhamet/eDNA_mediterranean_conservation_planning upon publication.

Conflict of interests

All authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

Supplementary materials

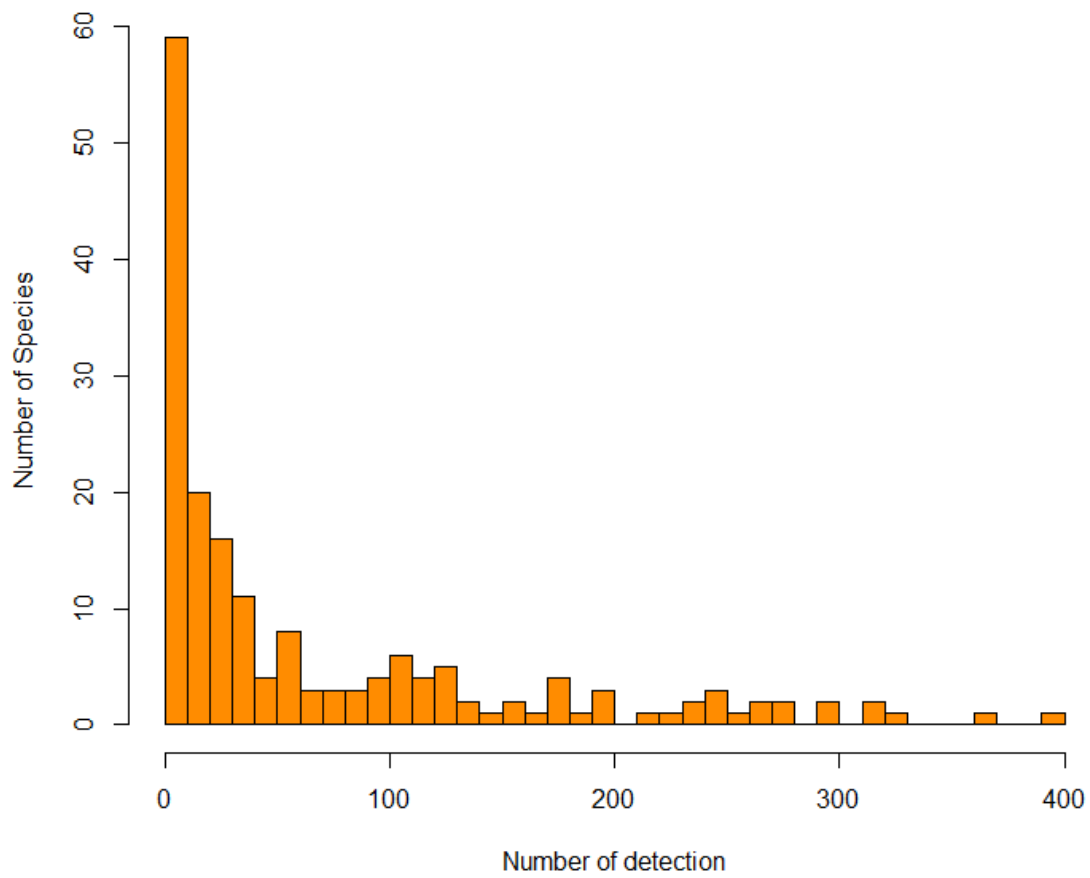


Figure S1: Number of detections for each of the 179 species identified through eDNA metabarcoding

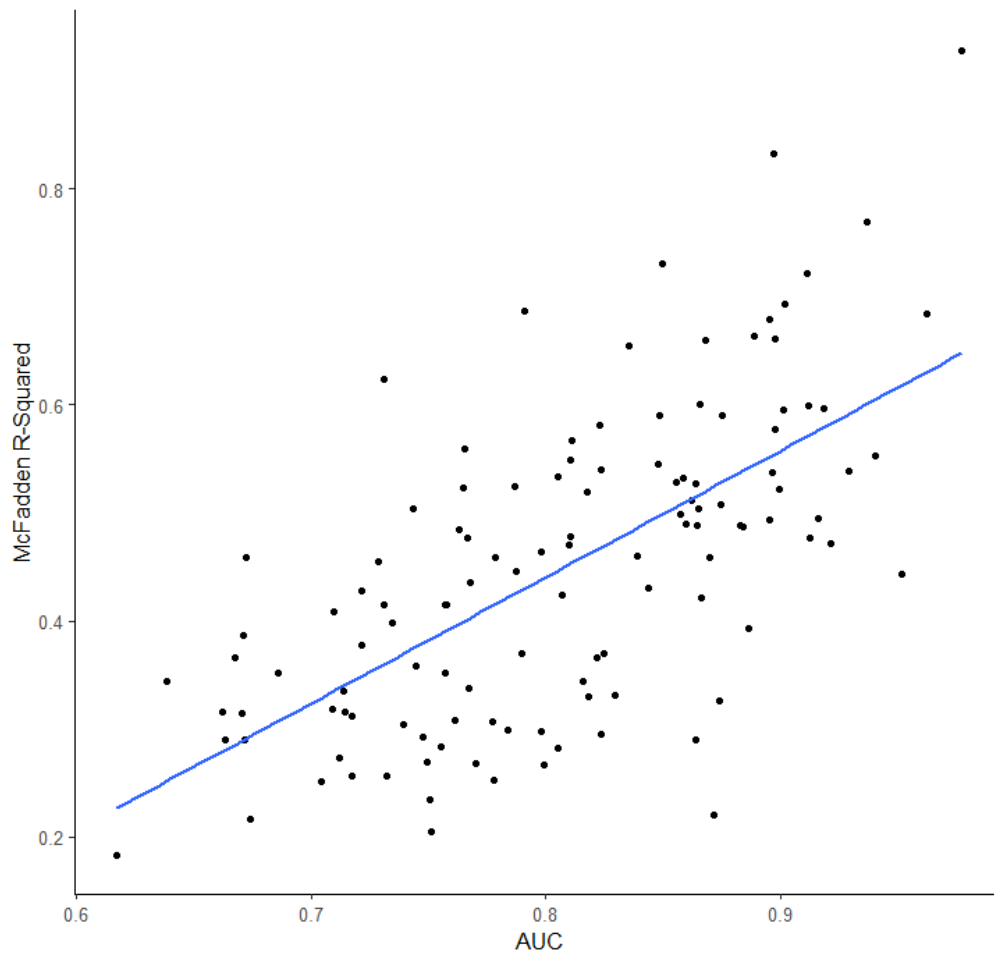


Figure S2: Correlation between the two metrics of model (GLM with binomial response) quality evaluation: AUC and McFadden pseudo- R^2 . Each dot represents a species.

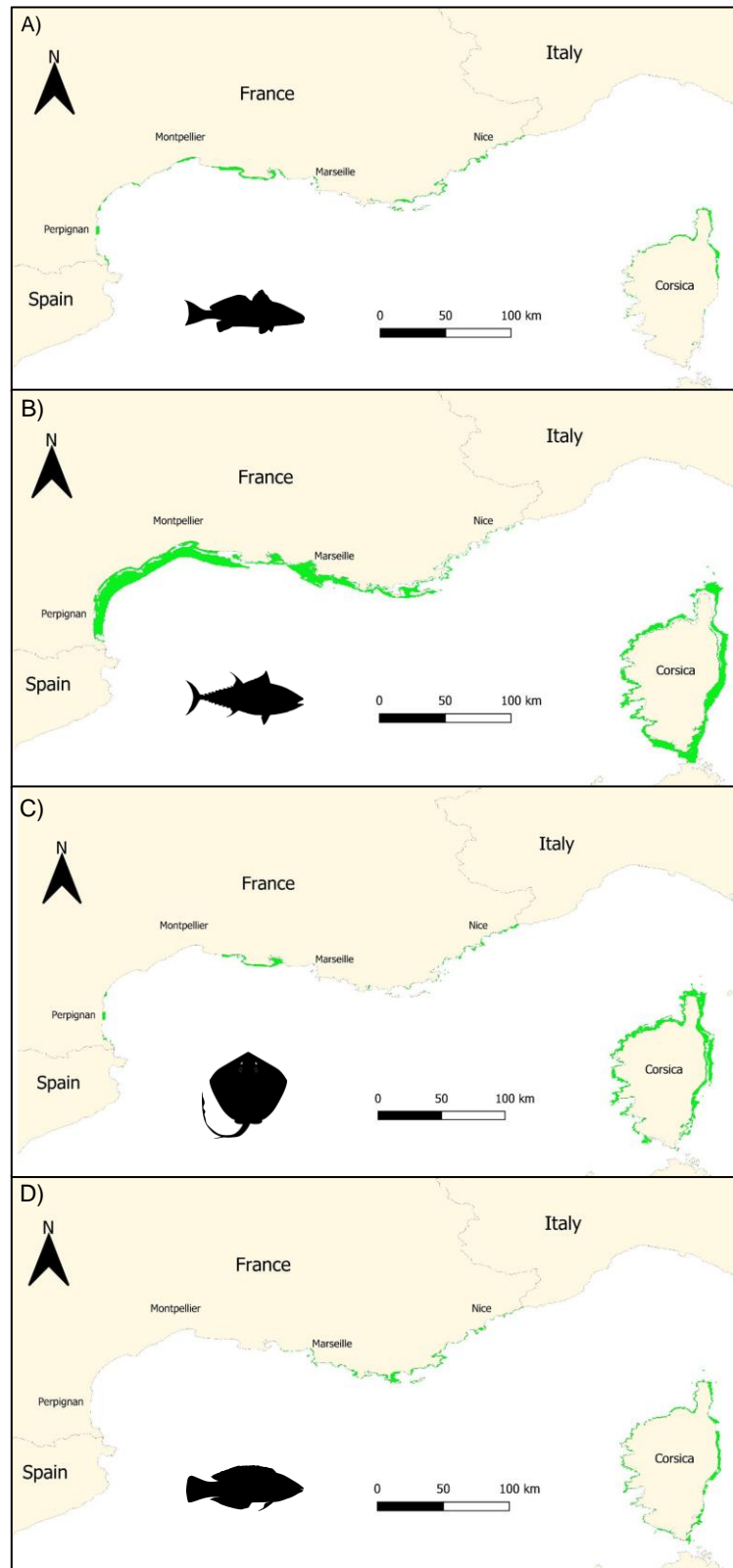


Figure S3: Examples of fish distribution areas obtained for the: A) Brown meagre (*Sciaena umbra*), B) Bluefin tuna (*Thunnus thynnus*), C) Common stingray (*Dasyatis pastinaca*), D) Ornate wrasse (*Thalassoma pavo*)

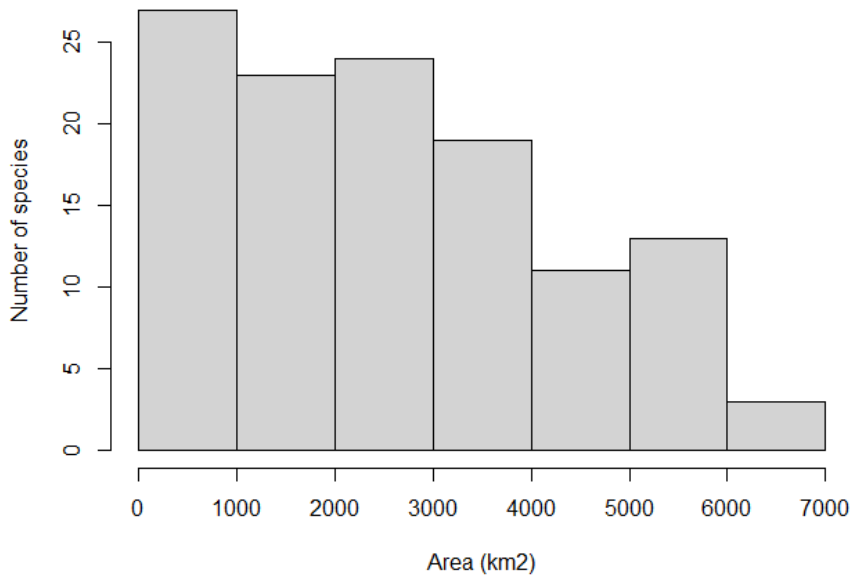


Figure S4: Spatial estimated species distribution area

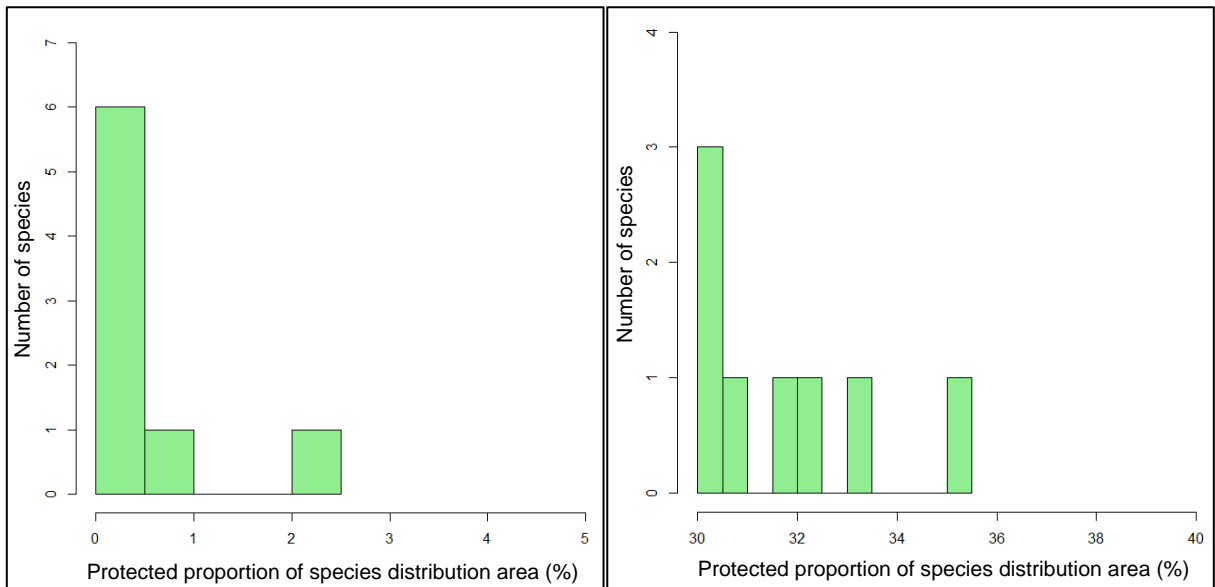


Figure S5: A) Proportion of Elasmobranch species distribution covered by the current no-take marine reserves along the french mediterranean coast. B) Proportion of Elasmobranch species distribution covered by the conservation solution ($BLM = 10^{-3}$).

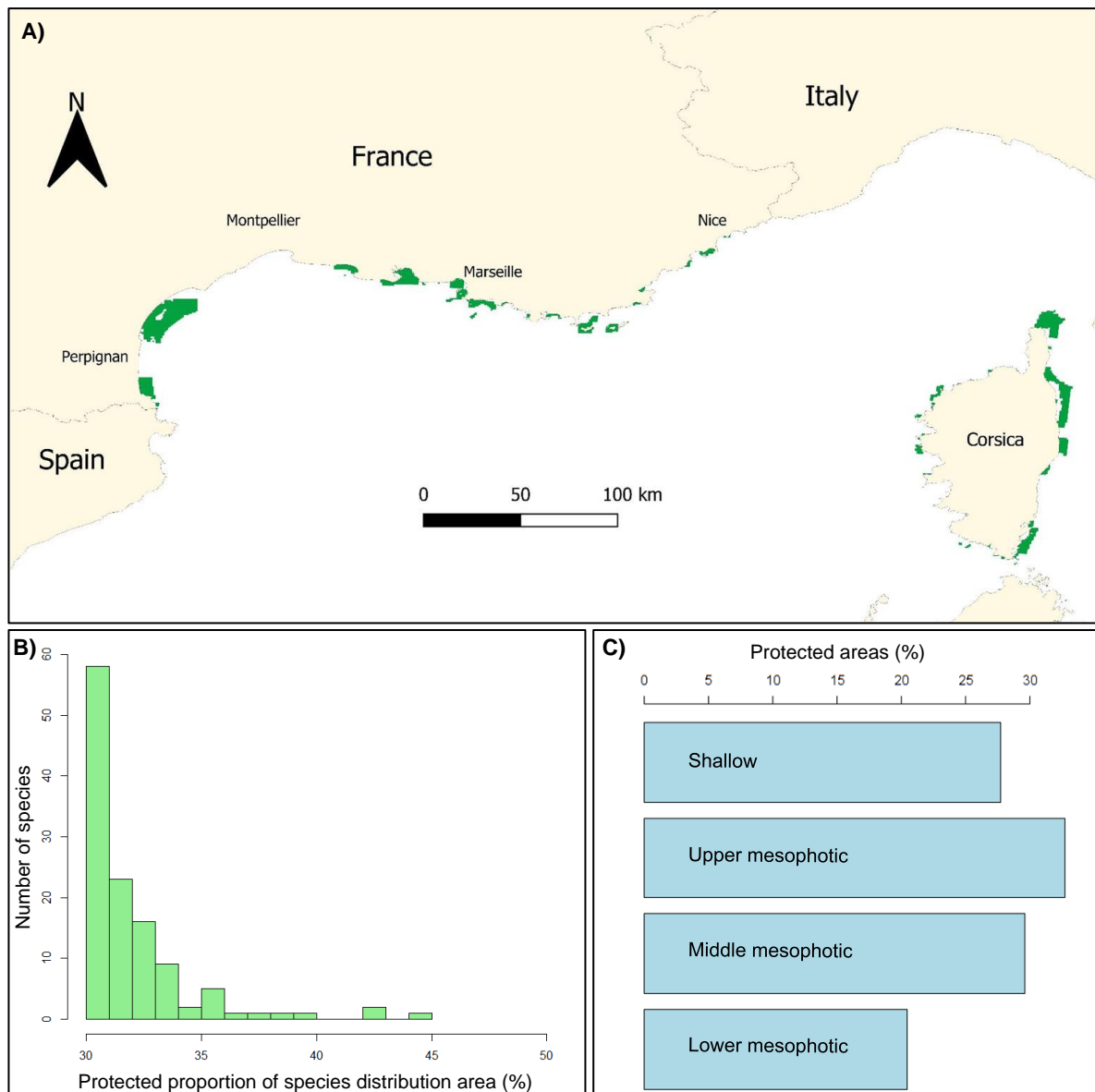


Figure S6: Conservation solution assessed using prioritizr ($BLM = 10^{-4}$). A) Protected areas (in green) according to the conservation solution. These protected areas covers 29% of the studied zone B) Proportion of fish species distribution covered by the conservation solution. C) Proportion of each bathymetric zone covered by the conservation solution.

References

- Abecasis, D., Fragkopoulou, E., Claro, B., & Assis, J. (2022). Biophysical modelling and graph theory identify key connectivity hubs in the Mediterranean marine reserve network. *Frontiers in Marine Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.1000687>
- Andrello, M., Darling, E. S., Wenger, A., Suárez-Castro, A. F., Gelfand, S., & Ahmadi, G. N. (2022). A global map of human pressures on tropical coral reefs. *Conservation Letters*, 15(1), e12858. <https://doi.org/10.1111/conl.12858>
- Assis, J., Tyberghein, L., Bosch, S., Verbruggen, H., Serrão, E. A., & De Clerck, O. (2018). Bio-ORACLE v2.0 : Extending marine data layers for bioclimatic modelling. *Global Ecology and Biogeography*, 27(3), 277-284. <https://doi.org/10.1111/geb.12693>
- Baston, D. (2022). *Exactextractr : Fast extraction from raster datasets using polygons*. R package version 0.8.2. <https://CRAN.R-project.org/package=exactextractr>
- Biber, M. F., Voskamp, A., & Hof, C. (2022). Representation of the world's biophysical conditions by the global protected area network. *Conservation Biology*, 36(2), e13822. <https://doi.org/10.1111/cobi.13822>
- Boussarie, Bakker Judith, Wangenstein Owen S., Mariani Stefano, Bonnin Lucas, Juhel Jean-Baptiste, Kiszka Jeremy J., Kulbicki Michel, Manel Stephanie, Robbins William D., Vigliola Laurent, & Mouillot David. (2018). Environmental DNA illuminates the dark diversity of sharks. *Science Advances*, 4(5), eaap9661. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aap9661>
- Boyer, F., Mercier, C., Bonin, A., Le Bras, Y., Taberlet, P., & Coissac, E. (2016). obitools : A unix-inspired software package for DNA metabarcoding. *Molecular Ecology Resources*, 16(1), 176-182. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12428>

- Bystrova, D., Poggiato, G., Arbel, J., & Thuiller, W. (2022). Latent Factor Models : A Tool for Dimension Reduction in Joint Species Distribution Models. In *Statistical Approaches for Hidden Variables in Ecology* (p. 135-156).
<https://doi.org/10.1002/9781119902799.ch7>
- Campbell, S. J., Edgar, G. J., Stuart-Smith, R. D., Soler, G., & Bates, A. E. (2018). Fishing-gear restrictions and biomass gains for coral reef fishes in marine protected areas. *Conservation Biology*, 32(2), 401-410. <https://doi.org/10.1111/cobi.12996>
- Canals, O., Mendibil, I., Santos, M., Irigoien, X., & Rodríguez-Ezpeleta, N. (2021). Vertical stratification of environmental DNA in the open ocean captures ecological patterns and behavior of deep-sea fishes. *Limnology and Oceanography Letters*, 6(6), 339-347. <https://doi.org/10.1002/lol2.10213>
- Capurso, G., Carroll, B., & Stewart, K. A. (2023). Transforming marine monitoring : Using eDNA metabarcoding to improve the monitoring of the Mediterranean Marine Protected Areas network. *Marine Policy*, 156, 105807.
<https://doi.org/10.1016/j.marpol.2023.105807>
- CBD. (2022). *Convention on Biological Diversity*. <https://www.cbd.int/article/cop15-cbd-press-release-final-19dec2022>
- Charbonnel, E., Coudre, C., & Francour, P. (2017). *Inventaire des espèces de poissons rencontrées sur la Côte Bleue*.
- Claudet, J., Loiseau, C., Sostres, M., & Zupan, M. (2020). Underprotected Marine Protected Areas in a Global Biodiversity Hotspot. *One Earth*, 2(4), 380-384.
<https://doi.org/10.1016/j.oneear.2020.03.008>
- Claudet, J., Osenberg, C. W., Benedetti-Cecchi, L., Domenici, P., García-Charton, J.-A., Pérez-Ruzafa, Á., Badalamenti, F., Bayle-Sempere, J., Brito, A., Bulleri, F., Culioli, J.-M.,

- Dimech, M., Falcón, J. M., Guala, I., Milazzo, M., Sánchez-Meca, J., Somerfield, P. J., Stobart, B., Vandeperre, F., ... Planes, S. (2008). Marine reserves : Size and age do matter. *Ecology Letters*, *11*(5), 481-489. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01166.x>
- 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., Froggia, C., Galil, B. S., Gasol, J. M., Gertwagen, R., Gil, J., Guilhaumon, F., Kesner-Reyes, K., ... Voultsiadou, E. (2010). The Biodiversity of the Mediterranean Sea : Estimates, Patterns, and Threats. *PLOS ONE*, *5*(8), e11842. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011842>
- Condini, M., García-Charton, J., & Garcia, A. (2018). A review of the biology, ecology, behavior and conservation status of the dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe 1834). *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, *28*, 301-330. <https://doi.org/10.1007/s11160-017-9502-1>
- De Leo, G. A., & Micheli, F. (2015). The good, the bad and the ugly of marine reserves for fishery yields. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *370*(1681), 20140276. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0276>
- Doxa, A., Almpandou, V., Katsanevakis, S., Queirós, A. M., Kaschner, K., Garilao, C., Kesner-Reyes, K., & Mazaris, A. D. (2022). 4D marine conservation networks : Combining 3D prioritization of present and future biodiversity with climatic refugia. *Global Change Biology*, *28*(15), 4577-4588. <https://doi.org/10.1111/gcb.16268>
- Duhamet, A., Albouy, C., Marques, V., Manel, S., & Mouillot, D. (2023). The global depth range of marine fishes and their genetic coverage for environmental DNA metabarcoding. *Ecology and Evolution*, *13*(1), e9672.

<https://doi.org/10.1002/ece3.9672>

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(3), 480-489.e5.

<https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.12.005>

Eddy, T. D., Lam, V. W. Y., Reygondeau, G., Cisneros-Montemayor, A. M., Greer, K., Palomares, M. L. D., Bruno, J. F., Ota, Y., & Cheung, W. W. L. (2021). Global decline in capacity of coral reefs to provide ecosystem services. *One Earth*, 4(9), 1278-1285.

<https://doi.org/10.1016/j.oneear.2021.08.016>

Fujiwara, Y., Tsuchida, S., Kawato, M., Masuda, K., Sakaguchi, S. O., Sado, T., Miya, M., & Yoshida, T. (2022). Detection of the Largest Deep-Sea-Endemic Teleost Fish at Depths of Over 2,000 m Through a Combination of eDNA Metabarcoding and Baited Camera Observations. *Frontiers in Marine Science*, 9.

<https://doi.org/10.3389/fmars.2022.945758>

Giraldo-Ospina, A., Kendrick, G. A., & Hovey, R. K. (2020). Depth moderates loss of marine foundation species after an extreme marine heatwave : Could deep temperate reefs act as a refuge? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 287(1928), 20200709. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.0709>

Goetze, J. S., Wilson, S., Radford, B., Fisher, R., Langlois, T. J., Monk, J., Knott, N. A., Malcolm, H., Currey-Randall, L. M., Ierodiaconou, D., Harasti, D., Barrett, N., Babcock, R. C., Bosch, N. E., Brock, D., Claudet, J., Clough, J., Fairclough, D. V., Heupel, M. R., ... Harvey, E. S. (2021). Increased connectivity and depth improve the effectiveness of marine reserves. *Global Change Biology*, 27(15), 3432-3447.

<https://doi.org/10.1111/gcb.15635>

- Hanson, J., Schuster, R., Morrell, N., Strimas-Mackey, M., Edwards, B., Watts, M., Arcese, P., Bennett, J., & Possingham, H. (2023). prioritizr : Systematic Conservation Prioritization in R. *R package version 8.0.2*. <https://CRAN.R-project.org/package=prioritizr>
- Leibold, M. A., Rudolph, F. J., Blanchet, F. G., De Meester, L., Gravel, D., Hartig, F., Peres-Neto, P., Shoemaker, L., & Chase, J. M. (2022). The internal structure of metacommunities. *Oikos*, *2022*(1). <https://doi.org/10.1111/oik.08618>
- Lesser, M. P., Slattery, M., Laverick, J. H., Macartney, K. J., & Bridge, T. C. (2019). Global community breaks at 60 m on mesophotic coral reefs. *Global Ecology and Biogeography*, *28*(10), 1403-1416. <https://doi.org/10.1111/geb.12940>
- Levin, N., Kark, S., & Danovaro, R. (2018). Adding the Third Dimension to Marine Conservation. *Conservation Letters*, *11*(3), e12408. <https://doi.org/10.1111/conl.12408>
- Malcolm, H. A., Jordan, A., Creese, R. G., & Knott, N. A. (2016). Size and age are important factors for marine sanctuaries : Evidence from a decade of systematic sampling in a subtropical marine park. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, *26*(6), 1090-1106. <https://doi.org/10.1002/aqc.2600>
- Mandrekar, J. N. (2010). Receiver Operating Characteristic Curve in Diagnostic Test Assessment. *Journal of Thoracic Oncology*, *5*(9), 1315-1316. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e3181ec173d>
- Manel, S., Loiseau, N., Andrello, M., Fietz, K., Goñi, R., Forcada, A., Lenfant, P., Kininmonth, S., Marcos, C., Marques, V., Mallol, S., Pérez-Ruzafa, A., Breusing, C., Puebla, O., & Mouillot, D. (2019). Long-Distance Benefits of Marine Reserves : Myth or Reality? *Trends in Ecology & Evolution*, *34*(4), 342-354.

<https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.01.002>

Marcos, C., Díaz, D., Fietz, K., Forcada, A., Ford, A., García-Charton, J. A., Goñi, R., Lenfant, P., Mallol, S., Mouillot, D., Pérez-Marcos, M., Puebla, O., Manel, S., & Pérez-Ruzafa, A. (2021). Reviewing the Ecosystem Services, Societal Goods, and Benefits of Marine Protected Areas. *Frontiers In Marine Science*, 8.

<https://doi.org/10.3389/fmars.2021.613819>

Marine Conservation Institute. The Marine Protection Atlas. <http://mpatlas.org> (2023)

Mathon, L., Marques, V., Mouillot, D., Albouy, C., Andrello, M., Baletaud, F., Borrero-Perez, G., Dejean, T., Edgar, G., Grondin, J., Guerin, P.-E., Hocdé, R., Juhel, J.-B., Ph.D, K., Maire, E., Mariani, G., McLean, M., Polanco, A., Pouyaud, L., & Manel, S. (2022). Cross-ocean patterns and processes in fish biodiversity on coral reefs through the lens of eDNA metabarcoding. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 289, 1-10. <https://doi.org/10.1098/rspb.2022.0162>

McClenaghan, B., Fahner, N., Cote, D., Chawarski, J., McCarthy, A., Rajabi, H., Singer, G., & Hajibabaei, M. (2020). Harnessing the power of eDNA metabarcoding for the detection of deep-sea fishes. *PLOS ONE*, 15(11), e0236540.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236540>

McFadden, D. (1973). *Conditional logit analysis of qualitative choice behavior*.

McGeady, R., Runya, R. M., Dooley, J. S. G., Howe, J. A., Fox, C. J., Wheeler, A. J., Summers, G., Callaway, A., Beck, S., Brown, L. S., Dooly, G., & McGonigle, C. (2023). A review of new and existing non-extractive techniques for monitoring marine protected areas. *Frontiers in Marine Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1126301>

Micheli, F., Halpern, B. S., Walbridge, S., Ciriaco, S., Ferretti, F., Frascchetti, S., Lewison, R., Nykjaer, L., & Rosenberg, A. A. (2013). Cumulative Human Impacts on Mediterranean

and Black Sea Marine Ecosystems : Assessing Current Pressures and Opportunities.

PLOS ONE, 8(12), e79889. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079889>

Muff, M., Jaquier, M., Marques, V., Ballesta, L., Deter, J., Bockel, T., Hocdé, R., Juhel, J.-B.,

Boulangier, E., Guellati, N., Fernández, A. P., Valentini, A., Dejean, T., Manel, S.,

Albouy, C., Durville, P., Mouillot, D., Holon, F., & Pellissier, L. (2022). Environmental

DNA highlights fish biodiversity in mesophotic ecosystems. *Environmental DNA*,

n/a(n/a). <https://doi.org/10.1002/edn3.358>

O'Hara, C. C., Frazier, M., & Halpern, B. S. (2021). At-risk marine biodiversity faces extensive, expanding, and intensifying human impacts. *Science*, 372(6537), 84-87.

<https://doi.org/10.1126/science.abe6731>

Pichler, M., & Hartig, F. (2021). A new joint species distribution model for faster and more accurate inference of species associations from big community data. *Methods in Ecology and Evolution*,

12(11), 2159-2173. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13687>

Polanco Fernández, A., Marques, V., Fopp, F., Juhel, J.-B., Borrero-Pérez, G. H., Cheutin, M.-

C., Dejean, T., González Corredor, J. D., Acosta-Chaparro, A., Hocdé, R., Eme, D.,

Maire, E., Spescha, M., Valentini, A., Manel, S., Mouillot, D., Albouy, C., & Pellissier, L.

(2021). Comparing environmental DNA metabarcoding and underwater visual census to monitor tropical reef fishes. *Environmental DNA*, 3(1), 142-156.

<https://doi.org/10.1002/edn3.140>

Polanco Fernández, A., Richards, E., Flück, B., Valentini, A., Altermatt, F., Brosse, S., Walser,

J.-C., 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(6), 1113-1127.

<https://doi.org/10.1002/edn3.232>

- Pollock, L. J., Tingley, R., Morris, W. K., Golding, N., O'Hara, R. B., Parris, K. M., Vesk, P. A., & McCarthy, M. A. (2014). Understanding co-occurrence by modelling species simultaneously with a Joint Species Distribution Model (JSDM). *Methods in Ecology and Evolution*, 5(5), 397-406. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12180>
- Reimer, J. M., Devillers, R., Zuercher, R., Groulx, P., Ban, N. C., & Claudet, J. (2023). The Marine Spatial Planning Index : A tool to guide and assess marine spatial planning. *npj Ocean Sustainability*, 2(1), 15. <https://doi.org/10.1038/s44183-023-00022-w>
- Rey, A., Viard, F., Lizé, A., Corre, E., Valentini, A., & Thiriet, P. (2023). Coastal rocky reef fish monitoring in the context of the Marine Strategy Framework Directive : Environmental DNA metabarcoding complements underwater visual census. *Ocean & Coastal Management*, 241, 106625. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2023.106625>
- Rocha, L. A., Pinheiro Hudson T., Shepherd Bart, Papastamatiou Yannis P., Luiz Osmar J., Pyle Richard L., & Bongaerts Pim. (2018). Mesophotic coral ecosystems are threatened and ecologically distinct from shallow water reefs. *Science*, 361(6399), 281-284. <https://doi.org/10.1126/science.aaq1614>
- Sala, E., & Giakoumi, S. (2018). No-take marine reserves are the most effective protected areas in the ocean. *ICES Journal of Marine Science*, 75(3), 1166-1168. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsx059>
- Sbragaglia, V., Arlinghaus, R., Blumstein, D. T., Diogo, H., Giglio, V. J., Gordo, A., Januchowski-Hartley, F. A., Laporta, M., Lindfield, S. J., Lloret, J., Mann, B., McPhee, D., Nunes, J. A. C. C., Pita, P., Rangel, M., Rhoades, O. K., Venerus, L. A., & Villasante, S. (2023). A global review of marine recreational spearfishing. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 33(4), 1199-1222. <https://doi.org/10.1007/s11160-023-09790-7>

- Sbragaglia, V., Coco, S., Correia, R. A., Coll, M., & Arlinghaus, R. (2021). Analyzing publicly available videos about recreational fishing reveals key ecological and social insights : A case study about groupers in the Mediterranean Sea. *Science of The Total Environment*, 765, 142672. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142672>
- Sherman, C. S., Simpfendorfer, C. A., Pacoureau, N., Matsushiba, J. H., Yan, H. F., Walls, R. H. L., Rigby, C. L., VanderWright, W. J., Jabado, R. W., Pollom, R. A., Carlson, J. K., Charvet, P., Bin Ali, A., Fahmi, Cheok, J., Derrick, D. H., Herman, K. B., Finucci, B., Eddy, T. D., ... Dulvy, N. K. (2023). Half a century of rising extinction risk of coral reef sharks and rays. *Nature Communications*, 14(1), 15. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-35091-x>
- Taberlet, P., Bonin, A., Zinger, L., & Coissac, É. (2018). Environmental DNA: For Biodiversity Research and Monitoring. In *Environmental DNA: For Biodiversity Research and Monitoring*. <https://doi.org/10.1093/oso/9780198767220.001.0001>
- Takahashi, M., Saccò, M., Kestel, J. H., Nester, G., Campbell, M. A., van der Heyde, M., Heydenrych, M. J., Juszkiwicz, D. J., Nevill, P., Dawkins, K. L., Bessey, C., Fernandes, K., Miller, H., Power, M., Mousavi-Derazmahalleh, M., Newton, J. P., White, N. E., Richards, Z. T., & Allentoft, M. E. (2023). Aquatic environmental DNA: A review of the macro-organismal biomonitoring revolution. *Science of The Total Environment*, 873, 162322. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162322>
- 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., ... Dejean, T. (2016). Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*, 25(4), 929-942.

<https://doi.org/10.1111/mec.13428>

Venegas-Li, R., Levin, N., Possingham, H., & Kark, S. (2018). 3D spatial conservation prioritisation : Accounting for depth in marine environments. *Methods in Ecology and Evolution*, 9(3), 773-784. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12896>

Vilas, D., Coll, M., Corrales, X., Steenbeek, J., Piroddi, C., Calò, A., Di Franco, A., Font, T., Guidetti, P., Ligas, A., Lloret, J., Prato, G., Sahyoun, R., Sartor, P., & Claudet, J. (2020). The effects of marine protected areas on ecosystem recovery and fisheries using a comparative modelling approach. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 30(10), 1885-1901. <https://doi.org/10.1002/aqc.3368>

Visser, F., Merten, V. J., Bayer, T., Oudejans, M. G., de Jonge, D. S. W., Puebla, O., Reusch, T. B. H., Fuss, J., & Hoving, H. J. T. (2021). Deep-sea predator niche segregation revealed by combined cetacean biologging and eDNA analysis of cephalopod prey. *Science Advances*, 7(14), eabf5908. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abf5908>

Voskamp, A., Fritz, S. A., Köcke, V., Biber, M. F., Nogueira Brockmeyer, T., Bertzky, B., Forrest, M., Goldstein, A., Henderson, S., Hickler, T., Hof, C., Kastner, T., Lang, S., Manning, P., Mascia, M. B., McFadden, I. R., Niamir, A., Noon, M., O'Donnell, B., ... Böhning-Gaese, K. (2023). Utilizing multi-objective decision support tools for protected area selection. *One Earth*, 6(9), 1143-1156. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2023.08.009>

Vozzo, M. L., Doropoulos, C., Silliman, B. R., Steven, A., Reeves, S. E., ter Hofstede, R., van Koningsveld, M., van de Koppel, J., McPherson, T., Ronan, M., & Saunders, M. I. (2023). To restore coastal marine areas, we need to work across multiple habitats simultaneously. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(26), e2300546120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2300546120>

- Williams, B. A., Watson, J. E. M., Beyer, H. L., Klein, C. J., Montgomery, J., Runting, R. K., Roberson, L. A., Halpern, B. S., Grantham, H. S., Kuempel, C. D., Frazier, M., Venter, O., & Wenger, A. (2022). Global rarity of intact coastal regions. *Conservation Biology*, 36(4), e13874. <https://doi.org/10.1111/cobi.13874>
- Yan, H. F., Kyne, P. M., Jabado, R. W., Leeney, R. H., Davidson, L. N. K., Derrick, D. H., Finucci, B., Freckleton, R. P., Fordham, S. V., & Dulvy, N. K. (2021). Overfishing and habitat loss drive range contraction of iconic marine fishes to near extinction. *Science Advances*, 7(7), eabb6026. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abb6026>

Discussion générale

1) Synthèse

Avec l'ambition de déployer le *metabarcoding* de l'ADNe à des fins de conservation, ce travail de thèse s'est intéressé aux thématiques suivantes : les bases de références génétiques nécessaires pour assigner les séquences issues du *metabarcoding* de l'ADNe à des espèces, la distribution spatiale et bathymétrique des espèces, l'efficacité des réserves marines méditerranéennes françaises, les futurs plans de conservation, et l'effet des impacts humains sur chacune des espèces de poissons en méditerranée française.

Voici une synthèse des principaux résultats obtenus pour chacune de ces thématiques.

a) Base de référence génétique

Pour pouvoir identifier les espèces à partir du *metabarcoding* de l'ADNe dans le cadre de programmes de recherche et de conservation, il est nécessaire que leur séquence soit présente dans une base de référence génétique. J'ai ainsi, dans le *chapitre 2* de cette thèse, dressé un état des lieux de la disponibilité des séquences dans la base de référence génétique publique pour les principaux marqueurs *metabarcoding* utilisés dans la détection des poissons : *teleo* (Valentini et al., 2016) et *MiFish-U/E* (Miya et al., 2015).

Les résultats révèlent qu'à l'échelle mondiale, seulement 19% des espèces de poissons ont leur séquence du marqueur *teleo* disponible dans les bases de référence génétiques et 34% ont leur séquence du marqueur *MiFish*. Un important travail devra donc être réalisé au cours des prochaines années pour compléter les bases de référence génétiques publiques.

Les bases de référence sont encore plus incomplètes pour les espèces ne vivant que dans les zones profondes, que nous appelons "endémique des profondeurs" (non présentes dans les 30 premiers mètres). Obtenir les séquences des espèces "endémique des profondeurs" serait d'autant plus important qu'elles sont particulièrement difficiles à recenser par les méthodes d'inventaire classiques.

Les espèces dont le statut de conservation reste inconnu sont peu couvertes par les bases de référence par rapport aux espèces classées comme menacées. Séquencer ces espèces pourrait permettre d'obtenir plus d'informations sur elles ainsi que sur leur statut de conservation via le *metabarcoding* de l'ADNe.

Seules 55% des espèces de poissons vivant le long des côtes méditerranéennes françaises ont leur séquence du marqueur *metabarcoding teleo* disponible dans les bases de référence génétiques publiques. Un important travail a été réalisé par les laboratoires MARBEC, CEFÉ et ETH pour compléter la base de référence des espèces de poissons vivant le long des côtes méditerranéennes françaises. Ceci a permis la création d'une nouvelle base de référence contenant les séquences *teleo* de 81% des espèces de poissons vivant dans cette zone géographique. J'ai ainsi pu assigner une grande partie des séquences d'ADNe collectées au cours des campagnes d'échantillonnage réalisées le long des côtes méditerranéennes françaises à l'échelle de l'espèce. Cela m'a permis d'utiliser, dans les *chapitres 3 et 4* de cette thèse, le *metabarcoding* de l'ADNe pour respectivement évaluer l'effet des réserves marine/des activités humaines sur la probabilité d'occurrence de chaque espèce, et modéliser la distribution des espèces pour évaluer les zones de fort intérêt pour la conservation.

b) Distribution spatiale et bathymétrique des espèces

Pour protéger efficacement les espèces il est nécessaire de pouvoir déterminer leur distribution spatiale et bathymétrique. Dans le *chapitre 2* de cette thèse, une synthèse des connaissances de la répartition de 10 826 espèces de téléostéens et 960 espèces de chondrichthyens à l'échelle globale a été réalisée à partir des données issues de fishbase, d'OBIS, de l'étude réalisée par Albouy et al. (2019) et de la base de données de répartition spatiale de l'UICN.

Ce travail a permis de déterminer les espèces présentes dans chacune des mers et océans (Océan Atlantique, Océan Pacifique, Océan Indien, Océans polaires, Mers d'Asie du Sud-Est, Mer Méditerranée et Mer Noire), de la surface jusqu'à 4000m de profondeur. Une importante diminution de la richesse spécifique avec l'augmentation de la profondeur a été

notée dans l'ensemble des mers et océans. A l'échelle globale, le nombre d'espèces de téléostéens présentes à 1000m de profondeur est divisé par quatre par rapport au nombre d'espèces vivant proche de la surface. Ce pattern est moins marqué chez les chondrichthyens puisque seulement 2 fois moins d'espèces sont présentes à 1000m de profondeur comparé aux premiers mètres. De plus, la richesse spécifique pour ce groupe taxonomique reste haute dans la zone mésophotique (30 - 150m de profondeur).

Même si la richesse spécifique estimée diminue quand la profondeur augmente, chaque couche bathymétrique nécessite d'être protégée car les communautés changent avec la profondeur comme l'a démontré l'indice de bêta-diversité de Simpson. De plus, les milieux profonds restent encore mal connus et la richesse spécifique est certainement sous-estimée.

Cet article met en avant l'intérêt que représente l'utilisation de l'ADNe pour recenser la biodiversité en milieu profond et pour améliorer nos connaissances sur la répartition spatiale et bathymétrique de chaque espèce.

Dans le *chapitre 4* j'ai tenté de répondre à la question suivante : Quelle est la distribution des espèces de poissons le long des côtes méditerranéennes françaises ?

Pour cela, j'ai modélisé la répartition de 120 espèces de poissons grâce au *metabarcoding* de l'ADNe collecté de 1 à 120m de profondeur le long des côtes Méditerranéennes françaises entre 2018 et 2022. La répartition géographique de 8 espèces d'élastomobranches et 112 espèces de téléostéens a ainsi pu être estimée. Plusieurs "points chauds" de richesse spécifique ichtyologique ont pu être identifiés :

- au large du cap Corse pour les Elasmobranches
- proche de la côte entre Marseille et la frontière italienne et entre Perpignan et la frontière espagnole pour les Téléostéens

c) Aires marines protégées

Les Aires marines protégées, et en particulier les zones de non-prélèvements où toute activité de pêche est interdite, représentent l'un des principaux outils utilisés pour sauvegarder la biodiversité marine (Sala & Giakoumi, 2018).

Dans le *chapitre 3* de cette thèse, j'ai tenté d'apporter une réponse à la question suivante :

Quelle est l'efficacité des réserves marines méditerranéennes françaises dans la protection des différentes espèces de poissons ?

Pour cela j'ai déterminé, à partir de données de *metabarcoding* d'ADNe, la probabilité d'occurrence de 87 espèces de poissons à l'intérieur et à l'extérieur de 11 réserves marines où la pêche est interdite. Les résultats confirment l'importance des réserves marines puisque 59% des espèces, dont le Mérou brun (*Epinephelus marginatus*), le Sar tambour (*Diplodus cervinus*), le Corb (*Sciaena umbra*) ou encore la Raie pastenague (*Dasyatis pastinaca*), ont une probabilité d'occurrence plus forte à l'intérieur qu'à l'extérieur des réserves.

En revanche aucun effet bénéfique des réserves n'a été observé sur la probabilité de présence de 41% des espèces, telles que celles faisant partie de la famille des Scombridae par exemple. La trop faible superficie des réserves actuelles ainsi que leur surfréquentation peut limiter leur capacité de protection de certaines espèces.

Dans l'objectif d'améliorer la protection de la biodiversité marine, la Convention sur la Diversité Biologique (CBD, 2022) stipule que 30% de la surface des océans devra être protégée d'ici 2030. Pour atteindre cet objectif, de nouvelles réserves marines devront être créées au cours des prochaines années. Identifier des zones importantes pour la conservation représente donc un enjeu majeur.

Dans le *chapitre 4* j'ai tenté de répondre à la question suivante : Où se situent les zones à protéger en priorité le long des côtes méditerranéennes françaises pour atteindre les objectifs de la Convention sur la Diversité Biologique ?

Pour pouvoir identifier ces zones, la répartition de 120 espèces a été modélisée à partir de données de *metabarcoding* d'ADNe. Une solution de conservation permettant de protéger 30% de l'aire de répartition estimée de chaque espèce par la mise en place de grandes réserves couvrant 30% de la surface de la zone d'étude a été proposée. Contrairement aux réserves marines méditerranéennes françaises actuelles qui ne protègent presque exclusivement les zones peu profondes (<30m), les réserves marines proposées couvriraient près de 30% de la zone mésophotique allant de 30 à 90m de profondeur.

d) Impacts humains

Les activités humaines, au-delà de la pêche, ont un fort impact sur les espèces. La pollution sonore, induite entre autres par les bateaux à moteur, affecte fortement la biodiversité marine (Duarte et al., 2021). La plupart des aires marines protégées de Méditerranée, si elles permettent une protection contre la pêche, ne sont en revanche pas indemnes de la pollution sonore induite par leur surfréquentation (Boudouresque et al., 2021; Buscaino et al., 2016).

Dans le *Chapitre 3* de cette thèse j'ai tenté de répondre à la question suivante :
Quel est l'effet du dérangement (tel que la pollution sonore induite par le passage des bateaux) sur les différentes espèces de poissons ?

Le confinement lié à l'épidémie de Covid-19 au printemps 2020 a donné une opportunité unique d'étudier ce sujet puisque la présence de l'homme a drastiquement chuté pendant 4 mois en mer Méditerranée.

J'ai déterminé, à partir de données de *metabarcoding* de l'ADNe collectées entre 0 et 70m de profondeur à moins de 5km de la côte, la probabilité d'occurrence de 87 espèces pendant et hors de la période de confinement. Les résultats révèlent que 62% des espèces ont davantage été détectées pendant le confinement dont 24% des espèces ne bénéficiant pas de l'effet des réserves marines telles que le Thon rouge (*Thunnus thynnus*) ou le Poisson

lune (*Mola mola*) par exemple. Ces résultats sont donc sans équivoque : les activités humaines ont un impact notable sur de nombreuses espèces de poissons. Le confinement ayant eu lieu sur une période courte, la réponse des espèces doit être principalement comportementale. Certaines espèces, suite à la diminution globale des activités humaines, sont peut-être remontées à plus faible profondeur (Weng et al., 2023) et/ou sont revenues plus près des côtes. Une augmentation de l'activité des poissons (plus de mouvements par exemple) en l'absence de dérangement pourrait également expliquer leur détection plus importante via l'ADNe au cours du confinement (Thalinger et al., 2021).

Les résultats suggèrent que la mise en place de grandes réserves avec un accès limité pourrait permettre d'améliorer la protection de nombreuses espèces.

2) Limites

a) Informations sur les individus

Le *metabarcoding* de l'ADNe permet une excellente détection des espèces de poissons mais ne permet de connaître ni la taille, ni l'âge, ni le sexe des individus. Or, ces informations sont cruciales pour étudier la dynamique des populations et pour évaluer l'efficacité des programmes de conservation.

Un individu ne joue pas le même rôle dans l'écosystème en fonction de son stade de vie. Les jeunes individus n'ont pas la même place dans le réseau trophique que les adultes (Navia et al., 2017) et, chez la quasi-totalité des espèces de téléostéens, les individus changent d'habitats entre leur stade larvaire, juvénile et adulte (Ong et al., 2015 ; Leis, 2006). En outre, ce sont principalement les spécimens adultes de grande taille qui sont ciblés par la pêche et non pas les individus dans leurs premiers stades de vie (Marshall et al., 2019).

b) Evaluation de l'abondance

Pour déterminer l'état de santé d'une population dans un écosystème, il est nécessaire d'en estimer le nombre d'individus. Or, la détermination de l'abondance à partir de l'ADNe se heurte à plusieurs obstacles :

- En fonction de leur mode de vie et de leur physiologie, toutes les espèces ne relarguent pas la même quantité d'ADN dans leur environnement (Sassoubre et al., 2016).
- L'activité des individus peut influencer la quantité d'ADN émise dans l'environnement. Un individu effectuant beaucoup de mouvements relargue plus d'ADN dans l'environnement (Thalinger et al., 2021).
- Les individus d'une même espèce ne relarguent pas la même quantité d'ADN dans leur environnement en fonction de leur stade de vie. Un individu juvénile émet, proportionnellement à son poids, une plus grande quantité d'ADN dans l'environnement qu'un individu adulte (Maruyama et al., 2014).

- La persistance de l'ADNe, et donc sa concentration, peut être influencée par les variables environnementales telles que la température de l'eau (Rourke et al., 2022). L'ADN se dégrade moins rapidement dans une eau froide que dans une eau chaude.

En outre, il est possible que le couple d'amorces PCR choisi pour réaliser le *metabarcoding* de l'ADNe n'ait pas la même affinité pour les séquences de chaque espèce. Le nombre de mésappariements entre l'amorce et sa zone de fixation peut être plus ou moins grand en fonction des espèces. Pour une même quantité d'ADN au départ, le nombre de copies de séquences par espèce, obtenu suite à la PCR, peut être différent (Elbrecht & Leese, 2015). La PCR quantitative, espèce-spécifique (dont les amorces sont choisies pour amplifier la séquence d'une seule espèce), est une méthode plus adaptée que le *metabarcoding* pour quantifier l'ADN de l'espèce ciblée dans le milieu (Mauvisseau et al., 2017).

Bien que quelques études aient montré une corrélation positive entre la biomasse et le nombre d'amplicons (Rourke et al., 2022), il reste actuellement délicat d'inférer l'abondance et la biomasse de chaque espèce à partir de données d'ADNe.

c) Résolution taxonomique

Les marqueurs *metabarcoding* utilisés sont courts et certaines espèces proches peuvent posséder exactement la même séquence pour un marqueur *metabarcoding* donné. Par exemple, comme indiqué dans l'article du *chapitre 2* de cette thèse, le Denté commun *Dentex dentex* et le Denté bossu *Dentex gibbosus* partagent la même séquence pour le marqueur *teleo*. De même, les espèces du genre *Sebaste* ou encore du genre *Takifugu* ne peuvent pas être identifiées en utilisant le marqueur *metabarcoding MiFish-U* (Yamamoto et al., 2017). Lorsque les espèces possédant la même séquence vivent dans la même région géographique, il est impossible de les différencier en utilisant seulement ce marqueur *metabarcoding* et elles ne seront pas référencées dans les inventaires.

d) Echantillonnage

Les échantillons d'ADNe analysés dans les *chapitres 3 et 4* de cette thèse ne sont pas répartis de manière homogène le long de la côte méditerranéenne française. L'ouest de la Corse et la zone se situant entre Marseille à Perpignan sont trop peu échantillonnées (*Figure 3.1.A*). De même, le nombre d'échantillons ayant été prélevés au-delà de 60m de profondeur est encore faible (38 échantillons) (*Figure 3.1.B*). Augmenter l'échantillonnage dans ces zones géographiques et bathymétriques permettrait une meilleure modélisation de la distribution des espèces.

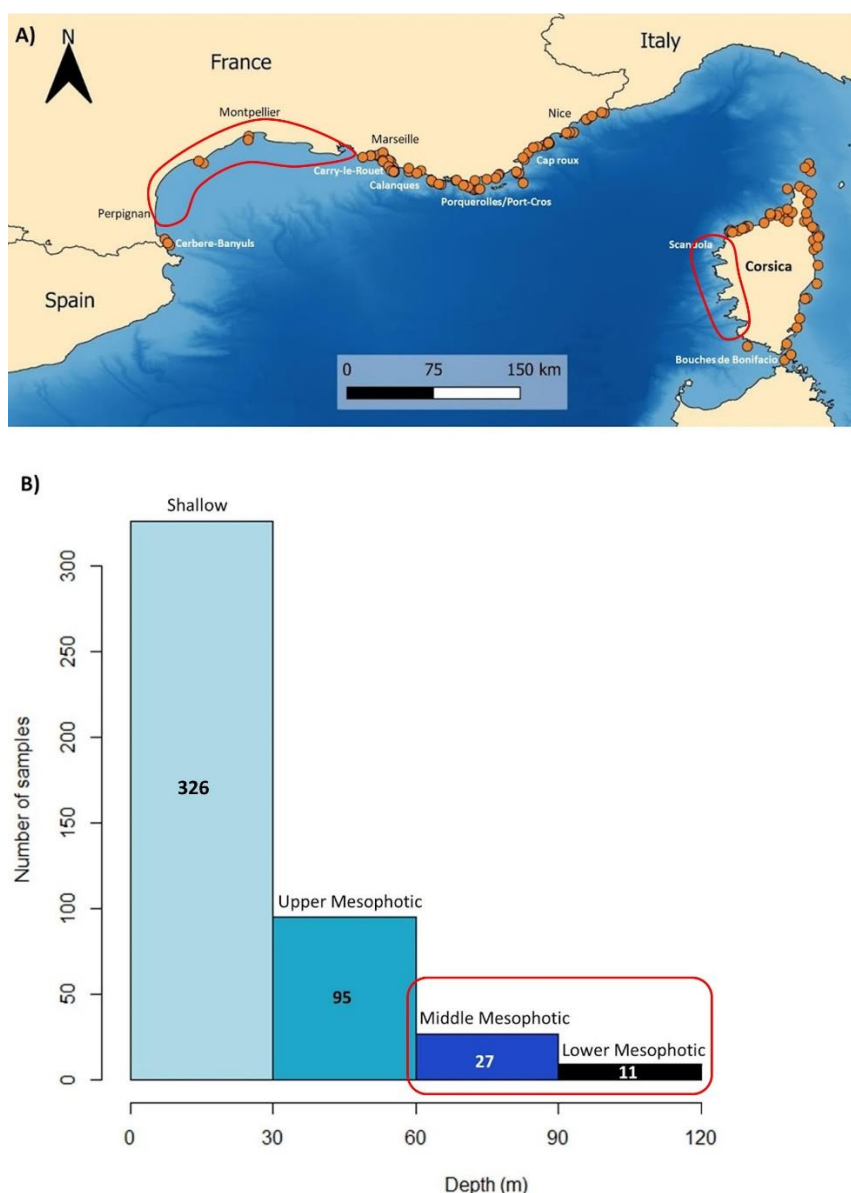


Figure 3.1. A) Localisation des sites d'échantillonnage d'ADNe le long des côtes Méditerranéennes françaises B) Profondeur auxquelles les échantillons d'ADNe ont été collectés. Les zones spatiales et bathymétriques qui ont été sous-échantillonnées sont entourées en rouge. Figures extraites de l'article du chapitre 4 de cette thèse.

3) Perspectives

a) *Metabarcoding de l'ADNe*

Base de référence

Même si la base de référence génétique comprend maintenant une importante partie des espèces de poissons vivant près des côtes méditerranéennes françaises, elle reste encore largement incomplète à l'échelle globale pour les marqueurs *metabarcoding* les plus communs (cf. **chapitre 2**). Pour pouvoir appliquer la technologie du *metabarcoding* de l'ADNe à large échelle dans le cadre de programmes de recherche et de conservation, il sera nécessaire de la compléter. Certaines espèces dont la séquence n'est pas présente dans la base de référence sont rares ou vivent dans des environnements difficiles d'accès tels que les milieux profonds. Obtenir des échantillons de tissus de ces espèces est donc compliqué.

En plus de la collecte d'échantillons de tissus à partir d'individus pêchés, l'échantillonnage de tissus de spécimens de muséums d'histoire naturelle et d'individus provenant d'aquariums pourrait permettre d'enrichir plus rapidement la base de référence. Ainsi, les échantillons de tissus des 30 espèces de chondrichthyens à partir desquels j'ai effectué des extractions d'ADN (cf. **chapitre 1**) provenaient d'individus de l'aquarium de Valence en Espagne. Le séquençage d'ADN provenant de spécimens de muséums d'histoire naturelle est prometteur pour compléter la base de référence génétique (Margaryan et al., 2020), bien que l'extraction de l'ADN ancien dégradé issu de ces spécimens reste encore un défi technique (Silva et al., 2019). Une thèse, portant sur la collecte d'échantillons dans les aquariums et dans les musées pour compléter la base de référence génétique, a commencé l'année dernière dans l'équipe BEV du CEFE.

Utilisation de plusieurs marqueurs *metabarcoding*

Dans cette thèse, seul le marqueur *metabarcoding teleo* (Valentini et al., 2016) a été utilisé pour réaliser les inventaires de biodiversité. Les échantillons d'ADNe analysés dans cette thèse pourraient être par la suite re-séquencés avec d'autres marqueurs *metabarcoding*. L'application du marqueur *MiFish-U* (Miya et al., 2015), en complément de *teleo*, pourrait permettre la détection de plus d'espèces car chacun de ces marqueurs porte un avantage : le couple d'amorces *teleo* permet d'amplifier plus de genres de poissons différents tandis que *MiFish-U* a une meilleure résolution taxonomique (moins d'espèces partagent la même séquence pour ce barcode) (Polanco Fernández. et al., 2021).

Le marqueur *teleo* ne cible que le groupe taxonomique des poissons et ne permet pas, à lui seul, d'avoir une vision globale de la biodiversité (tous taxons confondus) au site d'échantillonnage. Appliquer des marqueurs ciblant d'autres groupes taxonomiques, tels que les mammifères marins par exemple, pourrait être envisagé (Stat et al., 2017 ; Taberlet et al., 2018).

Échantillonnage d'ADNe en milieu profond

Dans cette thèse, les collectes d'ADNe ont été réalisées jusque dans la couche mésophotique grâce à des pompes péristaltiques étanches manipulées par des plongeurs (cf. **chapitre 1**). Ces filtrations d'ADNe ont ainsi pu être effectuées au plus près du substrat, zone où une plus grande quantité d'ADNe est présente (Stauffer et al., 2021). Cependant, les missions d'échantillonnages en plongée dans la zone mésophotique demandent de fortes compétences techniques et beaucoup de logistique, ce qui limite leur mise en place. De plus, réaliser des échantillonnage d'ADNe en plongée au-delà de la zone mésophotique reste impossible. Le déploiement de véhicules sous-marins autonomes (AUV) (Truelove et al., 2022), tel que le planeur sous-marin SeaExplorer (*Figure 3.2.* ; cf. **Chapitre 1**), pourrait faciliter l'échantillonnage d'ADNe en milieu profond.



Figure 3.2. Planeur sous-marin SeaExplorer. Crédits : Alseamar

b) Suivis temporels de la biodiversité

La réalisation de suivis temporels de la biodiversité marine avec le *metabarcoding* de l'ADNe permettra d'améliorer nos connaissances sur la biologie des espèces et de mesurer l'effet des perturbations anthropiques sur la biodiversité au cours du temps.

Migration nycthémerale

Effectuer des échantillonnages d'ADNe à différentes heures de la journée et de la nuit pourra permettre d'améliorer nos connaissances sur la plus grande migration animale journalière au monde : la migration nycthémerale, appelée aussi migration verticale (St. John et al., 2016). Certains organismes marins vivant dans les milieux profonds en journée, remontent à faible profondeur la nuit pour s'alimenter. Canals et al. (2021) ont pu détecter, en effectuant des échantillonnages d'ADNe de la surface jusqu'à plus de 1000m de profondeur le jour et la nuit, la migration nycthémerale de poissons mésopélagiques tels que le Maurolique de Müller (*Maurolicus muelleri*) et le Poisson-lanterne glacial (*Benthoosema glaciale*). De même, Easson et al. (2020) ont pu détecter la migration verticale d'organismes planctoniques tels que les copépodes et les cténophores grâce à l'ADNe.

Saisonnalité

Le *metabarcoding* de l'ADNe pourra aussi nous renseigner sur les modifications saisonnières de la composition des communautés, et ainsi améliorer nos connaissances sur les phénomènes de migration de certaines espèces (Agersnap et al., 2022 ; Sigsgaard et al., 2017). Les missions d'échantillonnage d'ADNe aux Calanques de Marseilles, auxquelles j'ai pris part au cours de ma thèse, sont effectuées à chaque saison sur plusieurs années. Ce projet de suivi temporel via le *metabarcoding* de l'ADNe permettra donc d'observer les modifications de la composition des communautés de poissons entre chaque saison à faible profondeur et dans la zone mésophotique.

Changements de distribution des espèces

Les suivis réalisés au cours de plusieurs années pourront nous renseigner sur les modifications d'aire de répartition des espèces en lien avec le changement climatique (Lacoursière-Roussel et al., 2018). L'arrivée d'une nouvelle espèce dans un écosystème peut être détectée de manière précoce grâce à l'analyse de l'ADNe (Holman et al., 2019).

c) Evaluation des programmes de protection de la biodiversité marine

AMPs à accès limité

Le bénéfice des AMPs sur la biodiversité peut se trouver diminué à cause de leur surfréquentation (Boudouresque et al., 2021; Buscaino et al., 2016). Dans le **chapitre 3** de cette thèse, il a été noté que certaines espèces ne semblaient pas bénéficier de l'effet des réserves mais ont été davantage détectées pendant la période du confinement Covid-19 où la présence humaine en mer a fortement diminué. Il a ainsi été suggéré que la mise en place de réserves à l'accès limité en mer Méditerranée pourrait permettre d'améliorer la protection de certaines espèces. Tester l'efficacité de telles réserves via le *metabarcoding* de l'ADNe

serait donc particulièrement intéressant. C'est pourquoi, une mission d'échantillonnage d'ADNe a été réalisée en septembre 2023 par le laboratoire MARBEC dans la zone cœur de la réserve à l'accès strictement réglementé de Montecristo (Italie). Cette réserve est fortement surveillée. La baignade, la plongée, la pêche et la navigation sont interdites en l'absence d'autorisations spécifiques (pouvant être délivrées dans le cadre de programmes de recherche scientifique). Ce site est considéré comme l'un des plus préservés de méditerranée (Roveta et al., 2020). Les résultats de cette campagne d'échantillonnage devraient être disponibles en 2024.

Restauration écologique

La dégradation des habitats marins représente une menace importante pour la biodiversité marine (Luybaert et al., 2020). Dans ce contexte, des opérations de restauration écologique sont menées telles que la replantation de mangroves, le repiquage d'herbier de posidonie (par exemple le programme REPIC) ou encore la mise en place de récifs artificiels. Le *metabarcoding* de l'ADNe pourrait être un outil intéressant à déployer pour suivre et évaluer l'effet de ces opérations de restauration écologiques sur la biodiversité au cours du temps (par exemple mesurer la recolonisation d'un milieu par une espèce) (Levy et al., 2023; Wee et al., 2023).

d) Génétique des populations

Les analyses de données ADNe réalisées dans cette thèse nous ont permis d'obtenir des informations sur la présence des espèces. En revanche, elles ne permettent pas de connaître la structure des populations au sein des espèces.

Bien que l'utilisation de l'ADNe pour obtenir des informations intraspécifiques telles que la diversité génétique ou la connectivité entre populations n'en soit qu'à ses débuts, elle se révèle prometteuse (Adams et al., 2019) même si elle comporte des limites (Couton et al., 2023). Traditionnellement, les études de génétique de population sont réalisées à partir d'ADN extrait de tissus. Cependant la collecte de tissu, en plus d'être une méthode invasive,

requiert beaucoup de temps et peut être complexe pour certaines espèces : mobiles, rares, cryptobenthiques, menacées ou vivant dans les milieux profonds par exemple (Andrello et al., 2023). Comme indiqué dans le **chapitre 2** de cette thèse, peu d'études ont investigué la connectivité génétique verticale chez les poissons (Gaither et al., 2016; Tenggardjaja et al., 2014). L'analyse intraspécifique de l'ADNe pourrait permettre de déceler l'existence de potentiels écotypes en fonction de la profondeur.

Les données de connectivité génétique obtenues à partir de l'ADNe, au-delà d'avoir un intérêt en recherche fondamentale, pourraient être prises en compte dans les plans de conservation des espèces.

e) Approches pluridisciplinaires

Le *metabarcoding* de l'ADNe présente l'avantage de permettre une excellente détection des espèces, mais a aussi, comme toute méthode, des inconvénients. Comme nous l'avons vu, il ne permet pas d'obtenir d'informations sur la taille et le comportement des individus. Dans le cadre de programme de recherche et de conservation, il est intéressant de combiner plusieurs techniques complémentaires telles que la mise en place de caméras stéréoscopiques et de *metabarcoding* de l'ADNe (Fujiwara et al., 2022).

Combiner plusieurs méthodes peut permettre de mieux comprendre des processus écologiques complexes. Ainsi, Visser et al. (2021) ont pu étudier et mieux comprendre la différenciation de niches entre la Baleine à bec de Cuvier (*Ziphius cavirostris*) et le Dauphin de Risso (*Grampus griseus*) en combinant le *metabarcoding* de l'ADNe (pour connaître la répartition spatiale et bathymétrique de leurs proies) et le bio-logging (pour déterminer leurs zones et périodes de chasse).

4) Conclusion

Comme nous l'avons vu dans cette thèse, les écosystèmes marins sont de plus en plus menacés par les activités humaines. Dans ce contexte, il est urgent d'améliorer les connaissances sur la biodiversité marine et de mettre en place des programmes de conservation efficaces. Il est important de protéger l'ensemble des types d'écosystèmes, profonds comme moins profonds.

Dans cette thèse, j'ai montré que le *metabarcoding* de l'ADNe peut être utilisé pour alimenter des modèles prédictifs d'occurrence des espèces et renseigner des plans de conservation pour la biodiversité ichthyologique côtière méditerranéenne. Cette méthode se révèle donc pertinente pour améliorer les connaissances sur les communautés de poissons marins et représente un outil intéressant à mettre en place dans le cadre d'évaluations et de planifications de projets de conservation.

Le futur de la biodiversité marine dépendra du degré de protection des océans qui sera mis en place au cours des prochaines années (*Figure 3.3.*) (Grorud-Colvert et al., 2021).



Figure 3.3. État de la biodiversité marine en fonction du degré de protection des écosystèmes marins. Illustration extraite de Grorud-Colvert et al. (2021)

Références

- Aburto-Oropeza, O., Erisman, B., Galland, G. R., Mascareñas-Osorio, I., Sala, E., & Ezcurra, E. (2011). Large Recovery of Fish Biomass in a No-Take Marine Reserve. *PLOS ONE*, 6(8), e23601. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023601>
- Adams, C. I. M., Knapp, M., Gemmell, N. J., Jeunen, G.-J., Bunce, M., Lamare, M. D., & Taylor, H. R. (2019). Beyond Biodiversity : Can Environmental DNA (eDNA) Cut It as a Population Genetics Tool? *Genes*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/genes10030192>
- Agersnap, S., Sigsgaard, E. E., Jensen, M. R., Avila, M. D. P., Carl, H., Møller, P. R., Krøs, S. L., Knudsen, S. W., Wisz, M. S., & Thomsen, P. F. (2022). A National Scale “BioBlitz” Using Citizen Science and eDNA Metabarcoding for Monitoring Coastal Marine Fish. *Frontiers in Marine Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.824100>
- Aho, A. V., Hopcroft, J. E., & Ullman, J. D. (1976). On Finding Lowest Common Ancestors in Trees. *SIAM Journal on Computing*, 5(1), 115-132. <https://doi.org/10.1137/0205011>
- Albouy, C., Archambault, P., Appeltans, W., Araújo, M. B., Beauchesne, D., Cazelles, K., Cirtwill, A. R., Fortin, M.-J., Galiana, N., Leroux, S. J., Pellissier, L., Poisot, T., Stouffer, D. B., Wood, S. A., & Gravel, D. (2019). The marine fish food web is globally connected. *Nature Ecology & Evolution*, 3(8), 1153-1161. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-0950-y>
- Andrello, M., Manel, S., Vilcot, M., Xuereb, A., & D’Aloia, C. C. (2023). Benefits of genetic data for spatial conservation planning in coastal habitats. *Cambridge Prisms: Coastal Futures*, 1, e28. Cambridge Core. <https://doi.org/10.1017/cft.2023.16>
- Appeltans, W., Ahyong, S. T., Anderson, G., Angel, M. V., Artois, T., Bailly, N., Bamber, R., Barber, A., Bartsch, I., Berta, A., Błażewicz-Paszkowycz, M., Bock, P., Boxshall, G.,

Références

- Boyko, C. B., Brandão, S. N., Bray, R. A., Bruce, N. L., Cairns, S. D., Chan, T.-Y., ... Costello, M. J. (2012). The Magnitude of Global Marine Species Diversity. *Current Biology*, 22(23), 2189-2202. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.09.036>
- Appleyard, S. A., Maher, S., Miskiewicz, A. G., Lara-Lopez, A., Matis, P., Fielder, D. S., & Suthers, I. M. (2022). Genetic and morphological identification of formalin fixed, preserved larval fishes; can we have the best of both worlds? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 553, 151763. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2022.151763>
- Babcock, R. C., Shears, N. T., Alcala, A. C., Barrett, N. S., Edgar, G. J., Lafferty, K. D., McClanahan, T. R., & Russ, G. R. (2010). Decadal trends in marine reserves reveal differential rates of change in direct and indirect effects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(43), 18256-18261. <https://doi.org/10.1073/pnas.0908012107>
- Bar-On, Y. M., Phillips, R., & Milo, R. (2018). The biomass distribution on Earth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(25), 6506-6511. <https://doi.org/10.1073/pnas.1711842115>
- Bellwood, D. R., Hoey, A. S., & Hughes, T. P. (2011). Human activity selectively impacts the ecosystem roles of parrotfishes on coral reefs. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1733), 1621-1629. <https://doi.org/10.1098/rspb.2011.1906>
- Bianchi, C. N., & Morri, C. (2000). Marine Biodiversity of the Mediterranean Sea : Situation, Problems and Prospects for Future Research. *Marine Pollution Bulletin*, 40(5), 367-376. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(00\)00027-8](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(00)00027-8)
- Biber, M. F., Voskamp, A., & Hof, C. (2022). Representation of the world's biophysical conditions by the global protected area network. *Conservation Biology*, 36(2),

Références

- e13822. <https://doi.org/10.1111/cobi.13822>
- Bohmann, K., Elbrecht, V., Carøe, C., Bista, I., Leese, F., Bunce, M., Yu, D. W., Seymour, M., Dumbrell, A. J., & Creer, S. (2022). Strategies for sample labelling and library preparation in DNA metabarcoding studies. *Molecular Ecology Resources*, 22(4), 1231-1246. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13512>
- Bonanno, G. (2022). 7—Marine-protected areas and plastic pollution. In G. Bonanno & M. Orlando-Bonaca (Éds.), *Plastic Pollution and Marine Conservation* (p. 249-273). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822471-7.00010-9>
- Bosch, N. E., Gonçalves, J. M. S., Erzini, K., & Tuya, F. (2017). “How” and “what” matters : Sampling method affects biodiversity estimates of reef fishes. *Ecology and Evolution*, 7(13), 4891-4906. <https://doi.org/10.1002/ece3.2979>
- Boudouresque, C., Dominici, J.-M., Duriez, O., Astruch, P., Le Diréach, L., Médail, F., Sala, E., Schon, T., & Vicente, N. (2021). *A terrestrial and marine nature reserve in the NW Mediterranean, Scàndula (Corsica) : Biodiversity and lessons from 46 years of management.*
- 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. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 288. <https://doi.org/10.1098/rspb.2021.0112>
- Boussarie, Bakker Judith, Wangensteen Owen S., Mariani Stefano, Bonnin Lucas, Juhel Jean-Baptiste, Kiszka Jeremy J., Kulbicki Michel, Manel Stephanie, Robbins William D., Vigliola Laurent, & Mouillot David. (2018). Environmental DNA illuminates the dark diversity of sharks. *Science Advances*, 4(5), eaap9661.

Références

<https://doi.org/10.1126/sciadv.aap9661>

Boyer, F., Mercier, C., Bonin, A., Le Bras, Y., Taberlet, P., & Coissac, E. (2016). obitools : A unix-inspired software package for DNA metabarcoding. *Molecular Ecology Resources*, *16*(1), 176-182. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12428>

Bozec, Y.-M., Kulbicki, M., Laloë, F., Mou-Tham, G., & Gascuel, D. (2011). Factors affecting the detection distances of reef fish : Implications for visual counts. *Marine Biology*, *158*(5), 969-981. <https://doi.org/10.1007/s00227-011-1623-9>

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. *Biological Reviews*, *93*(4), 1846-1873. <https://doi.org/10.1111/brv.12423>

Brodie, J. E., Kroon, F. J., Schaffelke, B., Wolanski, E. C., Lewis, S. E., Devlin, M. J., Bohnet, I. C., Bainbridge, Z. T., Waterhouse, J., & Davis, A. M. (2012). Terrestrial pollutant runoff to the Great Barrier Reef : An update of issues, priorities and management responses. *The Catchment to Reef Continuum: Case studies from the Great Barrier Reef*, *65*(4), 81-100. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.12.012>

Buscaino, G., Ceraulo, M., Pieretti, N., Corrias, V., Farina, A., Filiciotto, F., Maccarrone, V., Grammauta, R., Caruso, F., Giuseppe, A., & Mazzola, S. (2016). Temporal patterns in the soundscape of the shallow waters of a Mediterranean marine protected area. *Scientific Reports*, *6*(1), 34230. <https://doi.org/10.1038/srep34230>

Campbell, S. J., Edgar, G. J., Stuart-Smith, R. D., Soler, G., & Bates, A. E. (2018). Fishing-gear restrictions and biomass gains for coral reef fishes in marine protected areas. *Conservation Biology*, *32*(2), 401-410. <https://doi.org/10.1111/cobi.12996>

Canals, O., Mendibil, I., Santos, M., Irigoien, X., & Rodríguez-Ezpeleta, N. (2021). Vertical stratification of environmental DNA in the open ocean captures ecological patterns

Références

- and behavior of deep-sea fishes. *Limnology and Oceanography Letters*, 6(6), 339-347. <https://doi.org/10.1002/lol2.10213>
- Carreño, A., & Lloret, J. (2021). Environmental impacts of increasing leisure boating activity in Mediterranean coastal waters. *Ocean & Coastal Management*, 209, 105693. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2021.105693>
- CBD. (2022). *Convention on Biological Diversity*. <https://www.cbd.int/article/cop15-cbd-press-release-final-19dec2022>
- Chaikin, S., Dubiner, S., & Belmaker, J. (2022). Cold-water species deepen to escape warm water temperatures. *Global Ecology and Biogeography*, 31(1), 75-88. <https://doi.org/10.1111/geb.13414>
- Charbonnel, E., Coudre, C., & Francour, P. (2017). Inventaire des espèces de poissons rencontrées sur la Côte Bleue.
- Charlton, K. E., Russell, J., Gorman, E., Hanich, Q., Delisle, A., Campbell, B., & Bell, J. (2016). Fish, food security and health in Pacific Island countries and territories : A systematic literature review. *BMC Public Health*, 16(1), 285. <https://doi.org/10.1186/s12889-016-2953-9>
- Chaudhary, C., Richardson, A. J., Schoeman, D. S., & Costello, M. J. (2021). Global warming is causing a more pronounced dip in marine species richness around the equator. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(15), e2015094118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2015094118>
- Christensen, V., Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Buszowski, J., & Pauly, D. (2014). A century of fish biomass decline in the ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 512, 155-166.

Références

- Cinner, J. E., Maire, E., Huchery, C., MacNeil, M. A., Graham, N. A. J., Mora, C., McClanahan, T. R., Barnes, M. L., Kittinger, J. N., Hicks, C. C., D'Agata, S., Hoey, A. S., Gurney, G. G., Feary, D. A., Williams, I. D., Kulbicki, M., Vigliola, L., Wantiez, L., Edgar, G. J., ... Mouillot, D. (2018). Gravity of human impacts mediates coral reef conservation gains. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *115*(27), E6116-E6125. <https://doi.org/10.1073/pnas.1708001115>
- Claudet, J., Loiseau, C., Sostres, M., & Zupan, M. (2020). Underprotected Marine Protected Areas in a Global Biodiversity Hotspot. *One Earth*, *2*(4), 380-384. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2020.03.008>
- 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., Froggia, C., Galil, B. S., Gasol, J. M., Gertwagen, R., Gil, J., Guilhaumon, F., Kesner-Reyes, K., ... Voultsiadou, E. (2010). The Biodiversity of the Mediterranean Sea : Estimates, Patterns, and Threats. *PLOS ONE*, *5*(8), e11842. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011842>
- Consoli, P., Esposito, V., Battaglia, P., Altobelli, C., Perzia, P., Romeo, T., Canese, S., & Andaloro, F. (2016). Fish Distribution and Habitat Complexity on Banks of the Strait of Sicily (Central Mediterranean Sea) from Remotely-Operated Vehicle (ROV) Explorations. *PLOS ONE*, *11*(12), e0167809. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167809>
- Costello, M. J., & Ballantine, B. (2015). Biodiversity conservation should focus on no-take Marine Reserves : 94% of Marine Protected Areas allow fishing. *Trends in Ecology & Evolution*, *30*(9), 507-509. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2015.06.011>
- Costello, M. J., Lane, M., Wilson, S., & Houlding, B. (2015). Factors influencing when species

Références

- are first named and estimating global species richness. *Global Ecology and Conservation*, 4, 243-254. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2015.07.001>
- Couton, M., Viard, F., & Altermatt, F. (2023). Opportunities and inherent limits of using environmental DNA for population genetics. *Environmental DNA*, n/a(n/a). <https://doi.org/10.1002/edn3.448>
- Cure, K., Currey-Randall, L., Galaiduk, R., Radford, B., Wakeford, M., & Heyward, A. (2021). Depth gradients in abundance and functional roles suggest limited depth refuges for herbivorous fishes. *Coral Reefs*, 40(2), 365-379. <https://doi.org/10.1007/s00338-021-02060-7>
- Cury, P. M., Boyd, I. L., Bonhommeau, S., Anker-Nilssen, T., Crawford, R. J. M., Furness, R. W., Mills, J. A., Murphy, E. J., Österblom, H., Paleczny, M., Piatt, J. F., Roux, J.-P., Shannon, L., & Sydeman, W. J. (2011). Global Seabird Response to Forage Fish Depletion—One-Third for the Birds. *Science*, 334(6063), 1703-1706. <https://doi.org/10.1126/science.1212928>
- Dalongeville, A., Boulanger, E., Marques, V., Charbonnel, E., Hartmann, V., Santoni, M. C., Deter, J., Valentini, A., Lenfant, P., Boissery, P., Dejean, T., Velez, L., Pichot, F., Sanchez, L., Arnal, V., Bockel, T., Delaruelle, G., Holon, F., Milhau, T., ... Mouillot, D. (2022). Benchmarking eleven biodiversity indicators based on environmental DNA surveys : More diverse functional traits and evolutionary lineages inside marine reserves. *Journal of Applied Ecology*, 59(11), 2803-2813. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14276>
- Danovaro, R., Fanelli, E., Aguzzi, J., Billett, D., Carugati, L., Corinaldesi, C., Dell'Anno, A., Gjerde, K., Jamieson, A. J., Kark, S., McClain, C., Levin, L., Levin, N., Ramirez-Llodra, E., Ruhl, H., Smith, C. R., Snelgrove, P. V. R., Thomsen, L., Van Dover, C. L., & Yasuhara,

Références

- M. (2020). Ecological variables for developing a global deep-ocean monitoring and conservation strategy. *Nature Ecology & Evolution*, 4(2), 181-192.
<https://doi.org/10.1038/s41559-019-1091-z>
- Dapueeto, G., Massa, F., Pergent-Martini, C., Povero, P., Rigo, I., Vassallo, P., Venturini, S., & Paoli, C. (2022). Sustainable management accounting model of recreational boating anchoring in Marine Protected Areas. *Journal of Cleaner Production*, 342, 130905.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.130905>
- Das, M. (2018). Environmental impact of trawling on the continental shelf of Bay of Bengal. *Sustainable Water Resources Management*, 4(4), 1091-1104.
<https://doi.org/10.1007/s40899-018-0247-3>
- De Robertis, A., & Handegard, N. O. (2013). Fish avoidance of research vessels and the efficacy of noise-reduced vessels : A review. *ICES Journal of Marine Science*, 70(1), 34-45. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fss155>
- Di Franco, E., Pierson, P., Di Iorio, L., Calò, A., Cottalorda, J. M., Derijard, B., Di Franco, A., Galvé, A., Guibbolini, M., Lebrun, J., Micheli, F., Priouzeau, F., Risso-de Faverney, C., Rossi, F., Sabourault, C., Spennato, G., Verrando, P., & Guidetti, P. (2020). Effects of marine noise pollution on Mediterranean fishes and invertebrates : A review. *Marine Pollution Bulletin*, 159, 111450. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111450>
- Di Lorenzo, M., Claudet, J., & Guidetti, P. (2016). Spillover from marine protected areas to adjacent fisheries has an ecological and a fishery component. *Journal for Nature Conservation*, 32, 62-66. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2016.04.004>
- Dornburg, A., Federman, S., Eytan, R. I., & Near, T. J. (2016). Cryptic species diversity in sub-Antarctic islands : A case study of *Lepidonotothen*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 104, 32-43. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.07.013>

Références

- Drazen, J. C., & Haedrich, R. L. (2012). A continuum of life histories in deep-sea demersal fishes. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, *61*, 34-42.
<https://doi.org/10.1016/j.dsr.2011.11.002>
- Duarte, C. M., Chapuis, L., Collin, S. P., Costa, D. P., Devassy, R. P., Eguiluz, V. M., Erbe, C., Gordon, T. A. C., Halpern, B. S., Harding, H. R., Havlik, M. N., Meekan, M., Merchant, N. D., Miksis-Olds, J. L., Parsons, M., Predragovic, M., Radford, A. N., Radford, C. A., Simpson, S. D., ... Juanes, F. (2021). The soundscape of the Anthropocene ocean. *Science*, *371*(6529), eaba4658. <https://doi.org/10.1126/science.aba4658>
- Dudley, N. (2013). *Guidelines for Applying Protected Area Management Categories*.
- Dulvy, N. K., Pacoureau, N., Rigby, C. L., Pollom, R. A., Jabado, R. W., Ebert, D. A., Finucci, B., Pollock, C. M., Cheok, J., Derrick, D. H., Herman, K. B., Sherman, C. S., VanderWright, W. J., Lawson, J. M., Walls, R. H. L., Carlson, J. K., Charvet, P., Bineesh, K. K., Fernando, D., ... Simpfendorfer, C. A. (2021). Overfishing drives over one-third of all sharks and rays toward a global extinction crisis. *Current Biology*, *31*(21), 4773-4787.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.08.062>
- Dureuil, M., Boerder, K., Burnett, K. A., Froese, R., & Worm, B. (2018). Elevated trawling inside protected areas undermines conservation outcomes in a global fishing hot spot. *Science*, *362*(6421), 1403-1407. <https://doi.org/10.1126/science.aau0561>
- Easson, C., Boswell, K., Tucker, N., Warren, J., & Lopez, J. (2020). Combined eDNA and Acoustic Analysis Reflects Diel Vertical Migration of Mixed Consortia in the Gulf of Mexico. *Frontiers in Marine Science*, *7*, 552.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00552>
- Elbrecht, V., & Leese, F. (2015). Can DNA-Based Ecosystem Assessments Quantify Species Abundance ? Testing Primer Bias and Biomass—Sequence Relationships with an

Références

- Innovative Metabarcoding Protocol. *PLOS ONE*, *10*(7), e0130324.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130324>
- FAO. (2020). *The State of Mediterranean and Black Sea Fisheries*.
- FAO. (2022). *The state of world fisheries and aquaculture 2022*.
- Figuerola-Pico, J., Carpio, A. J., & Tortosa, F. S. (2020). Turbidity : A key factor in the estimation of fish species richness and abundance in the rocky reefs of Ecuador. *Ecological Indicators*, *111*, 106021. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.106021>
- Fitzpatrick, C., Mclean, D., & Harvey, E. (2013). Using artificial illumination to survey nocturnal reef fish. *Fisheries Research*, *146*, 41-50.
<https://doi.org/10.1016/j.fishres.2013.03.016>
- Fujiwara, Y., Tsuchida, S., Kawato, M., Masuda, K., Sakaguchi, S. O., Sado, T., Miya, M., & Yoshida, T. (2022). Detection of the Largest Deep-Sea-Endemic Teleost Fish at Depths of Over 2,000 m Through a Combination of eDNA Metabarcoding and Baited Camera Observations. *Frontiers in Marine Science*, *9*.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2022.945758>
- Gaither, M. R., Violi, B., Gray, H. W. I., Neat, F., Drazen, J. C., Grubbs, R. D., Roa-Varón, A., Sutton, T., & Hoelzel, A. R. (2016). Depth as a driver of evolution in the deep sea : Insights from grenadiers (Gadiformes : Macrouridae) of the genus *Coryphaenoides*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *104*, 73-82.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.07.027>
- 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. *Scientific*

Références

- Reports*, 7(1), 8940. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08850-w>
- Giraldo-Ospina, A., Kendrick, G. A., & Hovey, R. K. (2020). Depth moderates loss of marine foundation species after an extreme marine heatwave : Could deep temperate reefs act as a refuge? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 287(1928), 20200709. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.0709>
- Goetze, J. S., Bond, Todd., McLean, D. L., Saunders, B. J., Langlois, T. J., Lindfield, S., Fullwood, Laura. A. F., Driessen, D., Shedrawi, G., & Harvey, E. S. (2019). A field and video analysis guide for diver operated stereo-video. *Methods in Ecology and Evolution*, 10(7), 1083-1090. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13189>
- Gold, Z., Koch, M. Q., Schooler, N. K., Emery, K. A., Dugan, J. E., Miller, R. J., Page, H. M., Schroeder, D. M., Hubbard, D. M., Madden, J. R., Whitaker, S. G., & Barber, P. H. (2023). A comparison of biomonitoring methodologies for surf zone fish communities. *PLOS ONE*, 18(6), e0260903. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260903>
- González-Mantilla, P. G., Gallagher, A. J., León, C. J., & Vianna, G. M. S. (2022). Economic impact and conservation potential of shark-diving tourism in the Azores Islands. *Marine Policy*, 135, 104869. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2021.104869>
- Grorud-Colvert, K., Sullivan-Stack, J., Roberts, C., Constant, V., Horta e Costa, B., Pike, E. P., Kingston, N., Laffoley, D., Sala, E., Claudet, J., Friedlander, A. M., Gill, D. A., Lester, S. E., Day, J. C., Gonçalves, E. J., Ahmadi, G. N., Rand, M., Villagomez, A., Ban, N. C., ... Lubchenco, J. (2021). The MPA Guide : A framework to achieve global goals for the ocean. *Science*, 373(6560), eabf0861. <https://doi.org/10.1126/science.abf0861>
- 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

Références

- Assessment of Mediterranean Marine Protected Areas Effects on Fish Assemblages. *PLOS ONE*, 9(4), e91841. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091841>
- Guidetti, P., Vierucci, E., & Bussotti, S. (2008). Differences in escape response of fish in protected and fished Mediterranean rocky reefs. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 88, 625-627. <https://doi.org/10.1017/s0025315408000933>
- Halpern, B. S., Frazier, M., Afflerbach, J., Lowndes, J. S., Micheli, F., O'Hara, C., Scarborough, C., & Selkoe, K. A. (2019). Recent pace of change in human impact on the world's ocean. *Scientific Reports*, 9(1), 11609. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47201-9>
- Hanson, J., Schuster, R., Morrell, N., Strimas-Mackey, M., Edwards, B., Watts, M., Arcese, P., Bennett, J., & Possingham, H. (2023). prioritizr : Systematic Conservation Prioritization in R. *R package version 8.0.2*. <https://CRAN.R-project.org/package=prioritizr>
- Harasti, D., Davis, T. R., Jordan, A., Erskine, L., & Moltschanivskyj, N. (2019). Illegal recreational fishing causes a decline in a fishery targeted species (Snapper : *Chrysophrys auratus*) within a remote no-take marine protected area. *PLOS ONE*, 14(1), e0209926. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209926>
- Hatzonikolakis, Y., Giakoumi, S., Raitzos, D. E., Tsiaras, K., Kalaroni, S., Triantaphyllidis, G., & Triantafyllou, G. (2022). Quantifying Transboundary Plastic Pollution in Marine Protected Areas Across the Mediterranean Sea. *Frontiers in Marine Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.762235>
- Hodkovicova, N., Hollerova, A., Svobodova, Z., Faldyna, M., & Faggio, C. (2022). Effects of plastic particles on aquatic invertebrates and fish – A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 96, 104013.

Références

<https://doi.org/10.1016/j.etap.2022.104013>

Hoegh-Guldberg, O. (2011). The Impact of Climate Change on Coral Reef Ecosystems. In Z. Dubinsky & N. Stambler (Éds.), *Coral Reefs : An Ecosystem in Transition* (p. 391-403). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0114-4_22

Holman, L. E., de Bruyn, M., Creer, S., Carvalho, G., Robidart, J., & Rius, M. (2019). Detection of introduced and resident marine species using environmental DNA metabarcoding of sediment and water. *Scientific Reports*, *9*(1), 11559. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47899-7>

Hsu, T.-H. T., Chen, W.-J., & Denis, V. (2023). Navigating the scales of diversity in subtropical and coastal fish assemblages ascertained by eDNA and visual surveys. *Ecological Indicators*, *148*, 110044. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023.110044>

Juan-Jordá, M. J., Mosqueira, I., Cooper, A. B., Freire, J., & Dulvy, N. K. (2011). Global population trajectories of tunas and their relatives. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(51), 20650-20655. <https://doi.org/10.1073/pnas.1107743108>

Juhel, J.-B., Marques, V., Utama, R. S., Vimono, I. B., Sugeha, H. Y., Kadarusman, K., Cochet, C., Dejean, T., Hoey, A., Mouillot, D., Hocdé, R., & Pouyaud, L. (2022). Estimating the extended and hidden species diversity from environmental DNA in hyper-diverse regions. *Ecography*, *2022*(10), e06299. <https://doi.org/10.1111/ecog.06299>

Juhel, J.-B., Utama, R. S., Marques, V., Vimono, I. B., Sugeha, H. Y., Kadarusman, null, Pouyaud, L., Dejean, T., Mouillot, D., & Hocdé, R. (2020). Accumulation curves of environmental DNA sequences predict coastal fish diversity in the coral triangle. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *287*(1930), 20200248. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.0248>

Références

- Juhel, J.-B., Vigliola, L., Mouillot, D., Kulbicki, M., Letessier, T. B., Meeuwig, J. J., & Wantiez, L. (2018). Reef accessibility impairs the protection of sharks. *Journal of Applied Ecology*, *55*(2), 673-683. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13007>
- Juhel, J.-B., Vigliola, L., Wantiez, L., Letessier, T. B., Meeuwig, J. J., & Mouillot, D. (2019). Isolation and no-entry marine reserves mitigate anthropogenic impacts on grey reef shark behavior. *Scientific Reports*, *9*(1), 2897. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37145-x>
- Keck, F., Vasselon, V., Tapolczai, K., Rimet, F., & Bouchez, A. (2017). Freshwater biomonitoring in the Information Age. *Frontiers in Ecology and the Environment*, *15*(5), 266-274. <https://doi.org/10.1002/fee.1490>
- La Manna, G., Manghi, M., Perretti, F., & Sarà, G. (2016). Behavioral response of brown meagre (*Sciaena umbra*) to boat noise. *Marine Pollution Bulletin*, *110*(1), 324-334. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.045>
- La Mesa, G., Molinari, A., Bava, S., Finoia, M. G., Cattaneo-Vietti, R., & Tunesi, L. (2011). Gradients of abundance of sea breams across the boundaries of a Mediterranean marine protected area. *Fisheries Research*, *111*(1), 24-30. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2011.06.008>
- Lacoursière-Roussel, A., Howland, K., Normandeau, E., Grey, E. K., Archambault, P., Deiner, K., Lodge, D. M., Hernandez, C., Leduc, N., & Bernatchez, L. (2018). EDNA metabarcoding as a new surveillance approach for coastal Arctic biodiversity. *Ecology and Evolution*, *8*(16), 7763-7777. <https://doi.org/10.1002/ece3.4213>
- Lai, S., Loke, L. H. L., Hilton, M. J., Bouma, T. J., & Todd, P. A. (2015). The effects of urbanisation on coastal habitats and the potential for ecological engineering : A Singapore case study. *Ocean & Coastal Management*, *103*, 78-85.

Références

<https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2014.11.006>

- Langlois, T., Goetze, J., Bond, T., Monk, J., Abesamis, R. A., Asher, J., Barrett, N., Bernard, A. T. F., Bouchet, P. J., Birt, M. J., Cappo, M., Currey-Randall, L. M., Driessen, D., Fairclough, D. V., Fullwood, L. A. F., Gibbons, B. A., Harasti, D., Heupel, M. R., Hicks, J., ... Harvey, E. S. (2020). A field and video annotation guide for baited remote underwater stereo-video surveys of demersal fish assemblages. *Methods in Ecology and Evolution*, 11(11), 1401-1409. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13470>
- Lasram, F., Guilhaumon, F., Albouy, C., Somot, S., Thuiller, W., & Mouillot, D. (2010). The Mediterranean Sea as a 'cul-de-sac' for endemic fishes facing climate change. *Global Change Biology*, 16, 3233-3245. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02224.x>
- Leis, J. M. (2006). Are Larvae of Demersal Fishes Plankton or Nekton? In *Advances in Marine Biology* (Vol. 51, p. 57-141). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(06\)51002-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(06)51002-8)
- Levy, N., Simon-Blecher, N., Ben-Ezra, S., Yuval, M., Doniger, T., Leray, M., Karako-Lampert, S., Tarazi, E., & Levy, O. (2023). Evaluating biodiversity for coral reef reformation and monitoring on complex 3D structures using environmental DNA (eDNA) metabarcoding. *Science of The Total Environment*, 856, 159051. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159051>
- Lindfield, S., Harvey, E., Halford, A., & McIlwain, J. (2015). Mesophotic depths as refuge areas for fishery-targeted species on coral reefs. *Coral Reefs*, 35. <https://doi.org/10.1007/s00338-015-1386-8>
- Lindfield, S. J., Harvey, E. S., McIlwain, J. L., & Halford, A. R. (2014). Silent fish surveys : Bubble-free diving highlights inaccuracies associated with SCUBA-based surveys in heavily fished areas. *Methods in Ecology and Evolution*, 5(10), 1061-1069.

Références

<https://doi.org/10.1111/2041-210X.12262>

- 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 Biology*, *19*(5), e3001195. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001195>
- Loiseau, N., Villéger, S., Le Bozec, C., Gimenez, M., Kawahara, S. L., & Claverie, T. (2023). Mesophotic reefs are not refugia for neither taxonomic nor functional diversity of reef fishes. *Coral Reefs*, *42*(1), 63-75. <https://doi.org/10.1007/s00338-022-02311-1>
- Luypaert, T., Hagan, J. G., McCarthy, M. L., & Poti, M. (2020). Status of Marine Biodiversity in the Anthropocene. In S. Jungblut, V. Liebich, & M. Bode-Dalby (Éds.), *YOUMARES 9—The Oceans : Our Research, Our Future : Proceedings of the 2018 conference for YOUnG MARine RESEARCHer in Oldenburg, Germany* (p. 57-82). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-20389-4_4
- Magneville, C., Leréec Le Bricquie, M.-L., Dailianis, T., Skouradakis, G., Claverie, T., & Villéger, S. (2023). Long-duration remote underwater videos reveal that grazing by fishes is highly variable through time and dominated by non-indigenous species. *Remote Sensing in Ecology and Conservation*, *9*(3), 311-322. <https://doi.org/10.1002/rse2.311>
- Marbà, N., Jorda, G., Agusti, S., Girard, C., & Duarte, C. M. (2015). Footprints of climate change on Mediterranean Sea biota. *Frontiers in Marine Science*, *2*. <https://doi.org/10.3389/fmars.2015.00056>
- Marcos, C., Díaz, D., Fietz, K., Forcada, A., Ford, A., García-Charton, J. A., Goñi, R., Lenfant, P., Mallol, S., Mouillot, D., Pérez-Marcos, M., Puebla, O., Manel, S., & Pérez-Ruzafa, A. (2021). Reviewing the Ecosystem Services, Societal Goods, and Benefits of Marine

Références

- Protected Areas. *Frontiers In Marine Science*, 8.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2021.613819>
- Margaryan, A., Noer, C., Richter, S., Restrup, M., Bülow-Hansen, J. L., Leerhøi, F., Langkjær, E., Gopalakrishnan, S., Carøe, C., Gilbert, M., & Bohmann, K. (2020). Mitochondrial genomes of Danish vertebrate species generated for the national DNA reference database, DNAmark. *Environmental DNA*, 3. <https://doi.org/10.1002/edn3.138>
- Mariani, G., Cheung, W., Lyet, A., Sala, E., Mayorga, J., Velez, L., Gaines, S., Dejean, T., Troussellier, M., & Mouillot, D. (2020). Let more big fish sink : Fisheries prevent blue carbon sequestration—Half in unprofitable areas. *Science Advances*, 6.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.abb4848>
- Marques, V., Castagné, P., Polanco Fernández, A., Borrero-Pérez, G. H., Hocdé, R., Guérin, P.-É., Juhel, J.-B., Velez, L., Loiseau, N., Letessier, T. B., Bessudo, S., Valentini, A., Dejean, T., Mouillot, D., Pellissier, L., & Villéger, S. (2021). Use of environmental DNA in assessment of fish functional and phylogenetic diversity. *Conservation Biology*, 35(6), 1944-1956. <https://doi.org/10.1111/cobi.13802>
- Marques, V., Milhau, T., Albouy, C., Dejean, T., Manel, S., Mouillot, D., & Juhel, J.-B. (2021). GAPeDNA: Assessing and mapping global species gaps in genetic databases for eDNA metabarcoding. *Diversity and Distributions*, 27(10), 1880-1892.
<https://doi.org/10.1111/ddi.13142>
- Marshall, D. J., Gaines, S., Warner, R., Barneche, D. R., & Bode, M. (2019). Underestimating the benefits of marine protected areas for the replenishment of fished populations. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 17(7), 407-413.
<https://doi.org/10.1002/fee.2075>
- Maruyama, A., Nakamura, K., Yamanaka, H., Kondoh, M., & Minamoto, T. (2014). The

Références

- Release Rate of Environmental DNA from Juvenile and Adult Fish. *PLOS ONE*, 9(12), e114639. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114639>
- Mathon, L., Marques, V., Mouillot, D., Albouy, C., Andrello, M., Baletaud, F., Borrero-Perez, G., Dejean, T., Edgar, G., Grondin, J., Guerin, P.-E., Hocdé, R., Juhel, J.-B., Ph.D, K., Maire, E., Mariani, G., McLean, M., Polanco, A., Pouyaud, L., & Manel, S. (2022). Cross-ocean patterns and processes in fish biodiversity on coral reefs through the lens of eDNA metabarcoding. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 289, 1-10. <https://doi.org/10.1098/rspb.2022.0162>
- Maureaud, A., Frelat, R., Pécuchet, L., Shackell, N., Mérigot, B., Pinsky, M. L., Amador, K., Anderson, S. C., Arkhipkin, A., Auber, A., Barri, I., Bell, R. J., Belmaker, J., Beukhof, E., Camara, M. L., Guevara-Carrasco, R., Choi, J., Christensen, H. T., Conner, J., ... T. Thorson, J. (2021). Are we ready to track climate-driven shifts in marine species across international boundaries ? - A global survey of scientific bottom trawl data. *Global Change Biology*, 27(2), 220-236. <https://doi.org/10.1111/gcb.15404>
- Mauvisseau, Q., Parrondo, M., Fernández, M. P., García, L., Martínez, J. L., García-Vázquez, E., & Borrell, Y. J. (2017). On the way for detecting and quantifying elusive species in the sea : The *Octopus vulgaris* case study. *Fisheries Research*, 191, 41-48. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2017.02.023>
- McCauley, D. J., Pinsky, M. L., Palumbi, S. R., Estes, J. A., Joyce, F. H., & Warner, R. R. (2015). Marine defaunation : Animal loss in the global ocean. *Science*, 347(6219), 1255641. <https://doi.org/10.1126/science.1255641>
- McClenaghan, B., Fahner, N., Cote, D., Chawarski, J., McCarthy, A., Rajabi, H., Singer, G., & Hajibabaei, M. (2020). Harnessing the power of eDNA metabarcoding for the detection of deep-sea fishes. *PLOS ONE*, 15(11), e0236540.

Références

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236540>

Medoff, S., Lynham, J., & Raynor, J. (2022). Spillover benefits from the world's largest fully protected MPA. *Science*, *378*(6617), 313-316.

<https://doi.org/10.1126/science.abn0098>

Micheli, F., Halpern, B. S., Walbridge, S., Ciriaco, S., Ferretti, F., Fraschetti, S., Lewison, R., Nykjaer, L., & Rosenberg, A. A. (2013). Cumulative Human Impacts on Mediterranean and Black Sea Marine Ecosystems : Assessing Current Pressures and Opportunities. *PLOS ONE*, *8*(12), e79889. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079889>

Miya, M., Sato, Y., Fukunaga, T., Sado, T., Poulsen, J. Y., Sato, K., Minamoto, T., Yamamoto, S., Yamanaka, H., Araki, H., Kondoh, M., & Iwasaki, W. (2015). MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes : Detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society Open Science*, *2*(7), 150088. <https://doi.org/10.1098/rsos.150088>

Monnier, B., Pergent, G., Mateo, M. Á., Carbonell, R., Clabaut, P., & Pergent-Martini, C. (2021). Sizing the carbon sink associated with *Posidonia oceanica* seagrass meadows using very high-resolution seismic reflection imaging. *Marine Environmental Research*, *170*, 105415. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2021.105415>

Monteil, Y., Teo, A., Fong, J., Bauman, A. G., & Todd, P. A. (2020). Effects of macroalgae on coral fecundity in a degraded coral reef system. *Marine Pollution Bulletin*, *151*, 110890. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.110890>

Mouillot, D., Villéger, S., Parravicini, V., Kulbicki, M., Arias-González, J. E., Bender, M., Chabanet, P., Floeter, S. R., Friedlander, A., Vigliola, L., & Bellwood, D. R. (2014). Functional over-redundancy and high functional vulnerability in global fish faunas on tropical reefs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(38),

Références

- 13757-13762. <https://doi.org/10.1073/pnas.1317625111>
- Muff, M., Jaquier, M., Marques, V., Ballesta, L., Deter, J., Bockel, T., Hocdé, R., Juhel, J.-B., Boulanger, E., Guellati, N., Fernández, A. P., Valentini, A., Dejean, T., Manel, S., Albouy, C., Durville, P., Mouillot, D., Holon, F., & Pellissier, L. (2022). Environmental DNA highlights fish biodiversity in mesophotic ecosystems. *Environmental DNA*, *n/a(n/a)*. <https://doi.org/10.1002/edn3.358>
- Murakami, H., Yoon, S., Kasai, A., Minamoto, T., Yamamoto, S., Sakata, M. K., Horiuchi, T., Sawada, H., Kondoh, M., Yamashita, Y., & Masuda, R. (2019). Dispersion and degradation of environmental DNA from caged fish in a marine environment. *Fisheries Science*, *85*(2), 327-337. <https://doi.org/10.1007/s12562-018-1282-6>
- Myers, R. A., Baum, J. K., Shepherd, T. D., Powers, S. P., & Peterson, C. H. (2007). Cascading Effects of the Loss of Apex Predatory Sharks from a Coastal Ocean. *Science*, *315*(5820), 1846-1850. <https://doi.org/10.1126/science.1138657>
- Navia, A., Mejía-Falla, P., Lopez, J., Giraldo, A., & Cruz-Escalona, V. (2017). How many trophic roles can elasmobranchs play in a marine tropical network? *Marine and Freshwater Research*, *68*, 12. <https://doi.org/10.1071/MF16161>
- Nelson, J. S., Grande, T. C., & Wilson, M. V. H. (2016). *Fishes of the World* (John Wiley).
- Norse, E. A., Brooke, S., Cheung, W. W. L., Clark, M. R., Ekeland, I., Froese, R., Gjerde, K. M., Haedrich, R. L., Heppell, S. S., Morato, T., Morgan, L. E., Pauly, D., Sumaila, R., & Watson, R. (2012). Sustainability of deep-sea fisheries. *Marine Policy*, *36*(2), 307-320. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2011.06.008>
- Ong, J. J. L., Nicholas Rountrey, A., Jane Meeuwig, J., John Newman, S., Zinke, J., & Gregory Meekan, M. (2015). Contrasting environmental drivers of adult and juvenile growth in a marine fish : Implications for the effects of climate change. *Scientific Reports*,

Références

- 5(1), 10859. <https://doi.org/10.1038/srep10859>
- Palomares, M. L. D., Froese, R., Derrick, B., Meeuwig, J. J., Noël, S.-L., Tsui, G., Woroniak, J., Zeller, D., & Pauly, D. (2020). Fishery biomass trends of exploited fish populations in marine ecoregions, climatic zones and ocean basins. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 243, 106896. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2020.106896>
- Pérez Roda, M., Gilman, E., Huntington, T., Kennelly, S., Suuronen, P., Chaloupka, M., & Medley, P. (2019). *A third assessment of global marine fisheries discards*.
- Phillips, B., Shipley, O., Halvorsen, J., Sternlicht, J., & Gallagher, A. (2019). *First in situ observations of the sharpnose sevengill shark (Heptranchias perlo), from the Tongue of the Ocean, Bahamas*. 17-22. <https://doi.org/10.5281/zenodo.2539708>
- Pikitch, E. K. (2018). A tool for finding rare marine species. *Science*, 360(6394), 1180-1182. <https://doi.org/10.1126/science.aao3787>
- Pimiento, C., Leprieur, F., Silvestro, D., Lefcheck, J. S., Albouy, C., Rasher, D. B., Davis, M., Svenning, J.-C., & Griffin, J. N. (2020). Functional diversity of marine megafauna in the Anthropocene. *Science Advances*, 6(16), eaay7650. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aay7650>
- Pinheiro, H. T., Goodbody-Gringley, G., Jessup, M. E., Shepherd, B., Chequer, A. D., & Rocha, L. A. (2016). Upper and lower mesophotic coral reef fish communities evaluated by underwater visual censuses in two Caribbean locations. *Coral Reefs*, 35(1), 139-151. <https://doi.org/10.1007/s00338-015-1381-0>
- Polanco Fernández, A., Richards, E., Flück, B., Valentini, A., Altermatt, F., Brosse, S., Walser, J.-C., 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(6), 1113-1127.

Références

<https://doi.org/10.1002/edn3.232>

Ramírez, F., Coll, M., Navarro, J., Bustamante, J., & Green, A. J. (2018). Spatial congruence between multiple stressors in the Mediterranean Sea may reduce its resilience to climate impacts. *Scientific Reports*, *8*(1), 14871. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33237-w>

Rani, S., Ahmed, M. K., Xiongzi, X., Yuhuan, J., Keliang, C., & Islam, M. M. (2020). Economic valuation and conservation, restoration & management strategies of Saint Martin's coral island, Bangladesh. *Ocean & Coastal Management*, *183*, 105024. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2019.105024>

Rees, H. C., Maddison, B. C., Middleditch, D. J., Patmore, J. R. M., & Gough, K. C. (2014). REVIEW: The detection of aquatic animal species using environmental DNA – a review of eDNA as a survey tool in ecology. *Journal of Applied Ecology*, *51*(5), 1450-1459. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12306>

Rey, A., Viard, F., Lizé, A., Corre, E., Valentini, A., & Thiriet, P. (2023). Coastal rocky reef fish monitoring in the context of the Marine Strategy Framework Directive : Environmental DNA metabarcoding complements underwater visual census. *Ocean & Coastal Management*, *241*, 106625. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2023.106625>

Rocha, L. A., Pinheiro Hudson T., Shepherd Bart, Papastamatiou Yannis P., Luiz Osmar J., Pyle Richard L., & Bongaerts Pim. (2018). Mesophotic coral ecosystems are threatened and ecologically distinct from shallow water reefs. *Science*, *361*(6399), 281-284. <https://doi.org/10.1126/science.aaq1614>

Rojo, I., Anadón, J. D., & García-Charton, J. A. (2021). Exceptionally high but still growing predatory reef fish biomass after 23 years of protection in a Marine Protected Area.

Références

- PLOS ONE*, 16(2), e0246335. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246335>
- Rourke, M. L., Fowler, A. M., Hughes, J. M., Broadhurst, M. K., DiBattista, J. D., Fielder, S., Wilkes Walburn, J., & Furlan, E. M. (2022). Environmental DNA (eDNA) as a tool for assessing fish biomass : A review of approaches and future considerations for resource surveys. *Environmental DNA*, 4(1), 9-33. <https://doi.org/10.1002/edn3.185>
- Roveta, C., Pica, D., Calcinai, B., Girolametti, F., Truzzi, C., Illuminati, S., Annibaldi, A., & Puce, S. (2020). Hg Levels in Marine Porifera of Montecristo and Giglio Islands (Tuscan Archipelago, Italy). *Applied Sciences*, 10, 4342. <https://doi.org/10.3390/app10124342>
- Ruppert, K. M., Kline, R. J., & Rahman, M. S. (2019). Past, present, and future perspectives of environmental DNA (eDNA) metabarcoding : A systematic review in methods, monitoring, and applications of global eDNA. *Global Ecology and Conservation*, 17, e00547. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00547>
- Sala, E., & Giakoumi, S. (2018). No-take marine reserves are the most effective protected areas in the ocean. *ICES Journal of Marine Science*, 75(3), 1166-1168. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsx059>
- Sarà, G., Dean, J., D'Amato, D., Buscaino, G., Oliveri, A., Genovese, S., Ferro, S., Buffa, G., Lo Martire, M., & Mazzola, S. (2007). Effect of boat noise on the behaviour of bluefin tuna *Thunnus thynnus* in the Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 331, 243-253. <https://doi.org/10.3354/meps331243>
- Sassoubre, L. M., Yamahara, K. M., Gardner, L. D., Block, B. A., & Boehm, A. B. (2016). Quantification of Environmental DNA (eDNA) Shedding and Decay Rates for Three Marine Fish. *Environmental Science & Technology*, 50(19), 10456-10464. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b03114>

Références

- Schnell, I. B., Bohmann, K., & Gilbert, M. T. P. (2015). Tag jumps illuminated – reducing sequence-to-sample misidentifications in metabarcoding studies. *Molecular Ecology Resources*, *15*(6), 1289-1303. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12402>
- Sigsgaard, E. E., Nielsen, I. B., Carl, H., Krag, M. A., Knudsen, S. W., Xing, Y., Holm-Hansen, T. H., Møller, P. R., & Thomsen, P. F. (2017). Seawater environmental DNA reflects seasonality of a coastal fish community. *Marine Biology*, *164*(6), 128. <https://doi.org/10.1007/s00227-017-3147-4>
- Silva, P. C., Malabarba, M. C., Vari (In memoriam), R., & Malabarba, L. R. (2019). Comparison and optimization for DNA extraction of archived fish specimens. *MethodsX*, *6*, 1433-1442. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2019.06.001>
- Simpson, S. D., Radford, A. N., Nedelec, S. L., Ferrari, M. C. O., Chivers, D. P., McCormick, M. I., & Meekan, M. G. (2016). Anthropogenic noise increases fish mortality by predation. *Nature Communications*, *7*(1), 10544. <https://doi.org/10.1038/ncomms10544>
- Smith, A. D. M., Brown, C. J., Bulman, C. M., Fulton, E. A., Johnson, P., Kaplan, I. C., Lozano-Montes, H., Mackinson, S., Marzloff, M., Shannon, L. J., Shin, Y.-J., & Tam, J. (2011). Impacts of Fishing Low-Trophic Level Species on Marine Ecosystems. *Science*, *333*(6046), 1147-1150. <https://doi.org/10.1126/science.1209395>
- Smith, J., Free, C., Lopazanski, C., Brun, J., Anderson, C., Carr, M., Claudet, J., Dugan, J., Eurich, J., Francis, T., Hamilton, S., Mouillot, D., Raimondi, P., Starr, R., Ziegler, S., Nickols, K., & Caselle, J. (2023). A marine protected area network does not confer community structure resilience to a marine heatwave across coastal ecosystems. *Global change biology*. <https://doi.org/10.1111/gcb.16862>
- Soares, M. de O., Araújo, J. T. de, Ferreira, S. M. C., Santos, B. A., Boavida, J. R. H., Costantini,

Références

- F., & Rossi, S. (2020). Why do mesophotic coral ecosystems have to be protected? *Science of The Total Environment*, 726, 138456.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138456>
- Soares, M. de O., Tavares, T. C. L., & Carneiro, P. B. de M. (2019). Mesophotic ecosystems : Distribution, impacts and conservation in the South Atlantic. *Diversity and Distributions*, 25(2), 255-268. <https://doi.org/10.1111/ddi.12846>
- Spagnol, C., Guyader, O., Le Grand, C., Demaneche, S., Le Roy, E., & Leblond, E. (2021). Enquête Sur Les Conséquences À Court Terme De La Pandémie De Covid-19 Sur La Pêche Maritime Française. Premier Confinement Et Période Post-Confinement. France Métropolitaine. *Arch. - Ifremer's Institutional Repos (Ifremer)*.
<https://doi.org/doi:10.13155/84224>
- St. John, M. A., Borja, A., Chust, G., Heath, M., Grigorov, I., Mariani, P., Martin, A. P., & Santos, R. S. (2016). A Dark Hole in Our Understanding of Marine Ecosystems and Their Services : Perspectives from the Mesopelagic Community. *Frontiers in Marine Science*, 3. <https://doi.org/10.3389/fmars.2016.00031>
- Stat, M., Huggett, M. J., Bernasconi, R., DiBattista, J. D., Berry, T. E., Newman, S. J., Harvey, E. S., & Bunce, M. (2017). Ecosystem biomonitoring with eDNA: metabarcoding across the tree of life in a tropical marine environment. *Scientific Reports*, 7(1), 12240. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12501-5>
- Stauffer, S., Jucker, M., Keggin, T., Marques, V., Andrello, M., Bessudo, S., Cheutin, M.-C., Borrero-Pérez, G. H., Richards, E., Dejean, T., Hocdé, R., Juhel, J.-B., Ladino, F., Letessier, T. B., Loiseau, N., Maire, E., Mouillot, D., Mutis Martinezguerra, M., Manel, S., ... Waldock, C. (2021). How many replicates to accurately estimate fish biodiversity using environmental DNA on coral reefs? *Ecology and Evolution*, 11(21),

Références

- 14630-14643. <https://doi.org/10.1002/ece3.8150>
- Stock, A., Crowder, L. B., Halpern, B. S., & Micheli, F. (2018). Uncertainty analysis and robust areas of high and low modeled human impact on the global oceans. *Conservation Biology*, 32(6), 1368-1379. <https://doi.org/10.1111/cobi.13141>
- Sward, D., Monk, J., & Barrett, N. (2019). *A Systematic Review of Remotely Operated Vehicle Surveys for Visually Assessing Fish Assemblages*.
- Taberlet, P., Bonin, A., Zinger, L., & Coissac, É. (2018). Environmental DNA: For Biodiversity Research and Monitoring. In *Environmental DNA: For Biodiversity Research and Monitoring*. <https://doi.org/10.1093/oso/9780198767220.001.0001>
- Takashina, N., Mougi, A., & Iwasa, Y. (2012). Paradox of marine protected areas : Suppression of fishing may cause species loss. *Population Ecology*, 54(3), 475-485. <https://doi.org/10.1007/s10144-012-0323-8>
- Taylor, S. F. W., Roberts, M. J., Milligan, B., & Ncwadi, R. (2019). Measurement and implications of marine food security in the Western Indian Ocean : An impending crisis? *Food Security*, 11(6), 1395-1415. <https://doi.org/10.1007/s12571-019-00971-6>
- Tenggardjaja, K. A., Bowen, B. W., & Bernardi, G. (2014). Vertical and Horizontal Genetic Connectivity in Chromis verater, an Endemic Damselfish Found on Shallow and Mesophotic Reefs in the Hawaiian Archipelago and Adjacent Johnston Atoll. *PLOS ONE*, 9(12), e115493. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115493>
- Thalinger, B., Rieder, A., Teuffenbach, A., Pütz, Y., Schwerte, T., Wanzenböck, J., & Traugott, M. (2021). The Effect of Activity, Energy Use, and Species Identity on Environmental DNA Shedding of Freshwater Fish. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.623718>
- Thomsen, P. F., Kielgast, J., Iversen, L. L., Møller, P. R., Rasmussen, M., & Willerslev, E.

Références

- (2012). Detection of a Diverse Marine Fish Fauna Using Environmental DNA from Seawater Samples. *PLOS ONE*, 7(8), e41732.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041732>
- Trenkel, V., Vaz S, Albouy C, BrindAmour A, Duhamel E, Laffargue P, Romagnan JB, Simon J, & Lorance P. (2019). We can reduce the impact of scientific trawling on marine ecosystems. *Marine Ecology Progress Series*, 609, 277-282.
- Truelove, N. K., Patin, N. V., Min, M., Pitz, K. J., Preston, C. M., Yamahara, K. M., Zhang, Y., Raanan, B. Y., Kieft, B., Hobson, B., Thompson, L. R., Goodwin, K. D., & Chavez, F. P. (2022). Expanding the temporal and spatial scales of environmental DNA research with autonomous sampling. *Environmental DNA*, 4(4), 972-984.
<https://doi.org/10.1002/edn3.299>
- 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., ... Dejean, T. (2016). Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*, 25(4), 929-942.
<https://doi.org/10.1111/mec.13428>
- Villéger, S., Brosse, S., Mouchet, M., Mouillot, D., & Vanni, M. J. (2017). Functional ecology of fish : Current approaches and future challenges. *Aquatic Sciences*, 79(4), 783-801.
<https://doi.org/10.1007/s00027-017-0546-z>
- Villon, S., Mouillot, D., Chaumont, M., Darling, E. S., Subsol, G., Claverie, T., & Villéger, S. (2018). A Deep learning method for accurate and fast identification of coral reef fishes in underwater images. *Ecological Informatics*, 48, 238-244.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2018.09.007>

Références

- Visser, F., Merten, V. J., Bayer, T., Oudejans, M. G., de Jonge, D. S. W., Puebla, O., Reusch, T. B. H., Fuss, J., & Hoving, H. J. T. (2021). Deep-sea predator niche segregation revealed by combined cetacean biologging and eDNA analysis of cephalopod prey. *Science Advances*, 7(14), eabf5908. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abf5908>
- Wang, B., Xin, M., Wei, Q., & Xie, L. (2018). A historical overview of coastal eutrophication in the China Seas. *Marine Pollution Bulletin*, 136, 394-400. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.09.044>
- Wee, A. K. S., Salmo III, S. G., Sivakumar, K., Then, A. Y.-H., Basyuni, M., Fall, J., Habib, K. A., Isowa, Y., Leopargas, V., Peer, N., Artigas-Ramirez, M. D., Ranawana, K., Sivaipram, I., Suleiman, M., & Kajita, T. (2023). Prospects and challenges of environmental DNA (eDNA) metabarcoding in mangrove restoration in Southeast Asia. *Frontiers in Marine Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1033258>
- Weng, K. C., Friedlander, A. M., Gajdzik, L., Goodell, W., & Sparks, R. T. (2023). Decreased tourism during the COVID-19 pandemic positively affects reef fish in a high use marine protected area. *PLOS ONE*, 18(4), e0283683. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0283683>
- Whitmarsh, S. K., Huveneers, C., & Fairweather, P. G. (2018). What are we missing ? Advantages of more than one viewpoint to estimate fish assemblages using baited video. *Royal Society Open Science*, 5(5), 171993. <https://doi.org/10.1098/rsos.171993>
- Williams, R., Erbe, C., Ashe, E., & Clark, C. W. (2015). Quiet(er) marine protected areas. *Marine Pollution Bulletin*, 100(1), 154-161. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.09.012>
- Worm, B., Davis, B., Ketteimer, L., Ward-Paige, C. A., Chapman, D., Heithaus, M. R., Kessel, S.

Références

- T., & Gruber, S. H. (2013). Global catches, exploitation rates, and rebuilding options for sharks. *Marine Policy*, *40*, 194-204.
<https://doi.org/10.1016/j.marpol.2012.12.034>
- Xiong, F., Shu, L., Zeng, H., Gan, X., He, S., & Peng, Z. (2022). Methodology for fish biodiversity monitoring with environmental DNA metabarcoding : The primers, databases and bioinformatic pipelines. *Water Biology and Security*, *1*(1), 100007.
<https://doi.org/10.1016/j.watbs.2022.100007>
- Yamamoto, S., Masuda, R., Sato, Y., Sado, T., Araki, H., Kondoh, M., Minamoto, T., & Miya, M. (2017). Environmental DNA metabarcoding reveals local fish communities in a species-rich coastal sea. *Scientific Reports*, *7*(1), 40368.
<https://doi.org/10.1038/srep40368>
- Yan, H. F., Kyne, P. M., Jabado, R. W., Leeney, R. H., Davidson, L. N. K., Derrick, D. H., Finucci, B., Freckleton, R. P., Fordham, S. V., & Dulvy, N. K. (2021). Overfishing and habitat loss drive range contraction of iconic marine fishes to near extinction. *Science Advances*, *7*(7), eabb6026. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abb6026>
- Zhou, S., Fan, C., Xia, H., Zhang, J., Yang, W., Ji, D., Wang, L., Chen, L., & Liu, N. (2022). Combined use of eDNA metabarcoding and bottom trawling for the assessment of fish biodiversity in the Zhoushan Sea. *Frontiers in Marine Science*, *8*, 809703.
- Zupan, M., Fragkopoulou, E., Claudet, J., Erzini, K., Horta e Costa, B., & Gonçalves, E. J. (2018). Marine partially protected areas : Drivers of ecological effectiveness. *Frontiers in Ecology and the Environment*, *16*(7), 381-387.
<https://doi.org/10.1002/fee.1934>

