

© Aude Berger / RNNISM

SUIVI DES POPULATIONS COTIERES DE REQUINS ET DE RAIES DANS LES ANTILLES FRANÇAISES PAR LA METHODE DE L'ADN ENVIRONNEMENTAL

Citation recommandée : Beaufort O., Kap Natirel, 2023, Suivi des populations côtières de requins et de raies dans les Antilles françaises par la méthode de l'ADN environnemental, phase de test, 23 p.

Contact :

Beaufort Océane, Association Kap Natirel, oceane.beaufort@kapnatirel.org

Remerciements aux personnes qui ont participé à ce projet, notamment à Marie-Clémence BURG, Julien Chaliffour, Aude Berger, Etienne Bezault, ainsi que l'équipe de Spygen.

Ce projet a été réalisé avec le soutien de :



En collaboration avec :



Sommaire

1. Introduction	8
2. Matériel et méthode	11
2.1. Sites d'étude	12
2.2. Méthode	13
2.1.1. Echantillonnage	13
2.1.2. Amplification et analyse des échantillons	16
3. Résultats	17
3.1. Comparaison entre les deux amorces	18
3.2. Caractérisation des populations d'éla smobran ches	20
3.3. Comparaison avec les données obtenues avec la méthode des BRUVs	21
4. Discussion et conclusion	22
<i>Annexe 1 : Type d'amorces utilisées pour les analyses par secteur</i>	26
<i>Annexe 2 : Taxons détectés par secteurs en fonction de la méthode</i>	26
<i>Références bibliographiques</i>	27

Liste des figures :

Figure 1 : Sites d'étude	12
Figure 2 : Installation de la capsule de filtration, filtration et préparation de l'échantillon pour stockage.	14
Figure 3 : Répartition des secteurs (en haut en Guadeloupe, en bas les îles du Nord, St Martin et St Barthélemy).	15
Figure 4 : Répartition des reads détectés pour chaque Classe en fonction de l'amorce.	18
Figure 5 : Nombre de reads détectés pour chaque Classe en fonction de l'amorce.	19
Figure 6 : Nombre de reads détectés de Chondrichthyens en fonction de l'amorce	19
Figure 7 : Nombre de reads détectés pour chaque Ordre en fonction de l'amorce	19
Figure 8 : Nombre de reads pour chaque taxons en fonction de l'amorce.	19

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Nombre de reads détectés pour chaque taxons en fonction de l'amorce.	19
Tableau 2 : Liste des taxons détectées	20
Tableau 3 : Liste des taxons détectées pour chaque secteur.	20
Tableau 4 : Liste des taxons confirmés par méthode de suivi.	21

Liste des annexes :

Annexe 1 : Type d'amorces utilisées pour les analyses par secteur	6
Annexe 2 : Taxons détectés par secteurs en fonction de la méthode	7

Liste des encadrés :

Encadré 1 : 2PRK « Pou Pwoteksyon Rékin Karib »	6
Encadré 2 : L'ADN environnemental (ADNe)	7

Encadré 1 : 2PRK « *Pou Pwoteksyon Rékin Karib* »

Le projet 2PRK a débuté en février 2022 sur l'ensemble des Antilles françaises pour une durée de 24 mois. Ayant pour principal objectif l'amélioration des connaissances sur les populations de requins et de raies, trois méthodes complémentaires sont employées :

- les **sciences participatives** (INA Scuba Rékin),
- le suivi via **la méthode les caméras sous-marines appâtées** (BRUVs),
- le suivi via **la méthode de l'ADN environnemental** (ADNe).

La force de ce projet réside, entre autre, dans la collaboration avec différents acteurs répartis sur l'ensemble des Antilles françaises (gestionnaires de réserves marines, clubs de plongée, Université des Antilles, ...).

Ce projet est soutenu par l'Union Européenne via le programme **BEST4LIFE** et l'Office Français de la Biodiversité via le programme **Mob'Biodiv**.



Encadré 2 : L'ADN environnemental (ADNe)

L'analyse de l'ADNe est basée sur la collecte de matériels génétiques (ex: tissus, déchets métaboliques,...) par prélèvement de matériel environnemental (ex: eau). Cette méthode est en train d'émerger comme une nouvelle méthode non invasive permettant la détection et l'identification d'espèces rares et furtives (*Bohmann et al., 2014; Pedersen et al., 2015*). Les fragments d'ADN sont soumis à plusieurs facteurs qui vont les dégrader. On estime que la persistance de l'ADN dans le milieu marin serait d'environ 24 heures pour le milieu côtier (*Collins et al., 2018*).

Le Méta-Barcoding de l'ADN environnemental (ADNe) est une méthode innovante qui permet de caractériser les communautés d'espèces (d'un ou plusieurs groupes taxonomiques ciblés) à partir de prélèvements environnementaux comme de l'eau de mer). Cette méthode apporte des éléments essentiels à la compréhension de la taille de la population, de la distribution des espèces et de la dynamique des populations (*Bergman et al, 2016 ; Bohmann et al, 2014*).

L'étude des communautés par une approche de méta-barcoding consiste à identifier de multiples espèces au sein d'un seul échantillon prélevé dans l'environnement. Cette approche permet d'identifier de manière simultanée de multiples organismes sans avoir besoin de savoir quelles espèces sont présentes (*Valentini et al., 2016,a, Yamamoto et al; 2017*). Un prélèvement peut permettre de caractériser toute une communauté d'espèces sur un site donné (*Miya et al., 2015, Port et al, 2016a*). Cette approche est basée sur du séquençage de nouvelle génération couplé à l'utilisation de marqueurs taxonomiques spécifiques qui permettent d'amplifier les fragments d'ADN de nombreuses espèces en même temps (*Miya et al., 2015*).

Dans les Antilles françaises, cette méthode est utilisée par Kap Natirel dans le cadre d'une phase de test pour identifier les espèces de requins et de raies. En 2020 une première phase d'échantillonnage a été réalisée en Guadeloupe sur 8 secteurs. Dans le cadre du projet 2PRK, l'échantillonnage a été poursuivi sur les îles de St Barthélemy et de St Martin pour poursuivre et finaliser cette phase de test. L'objectif étant de déterminer si cette méthode est adaptée pour acquérir rapidement des données sur les populations de requins et de raies dans les Antilles françaises.



© Alfonso Gonzalez

1. Introduction

Au cours des dernières années, de nouvelles méthodes de suivi, ambitieuses et prometteuses, ont vu le jour permettant ainsi d'acquérir des nouvelles connaissances. Parmi ces méthodes, celle des caméras appâtées (BRUV) qui est aujourd'hui largement déployée à travers le monde (notamment dans la Caraïbe) pour étudier les populations récifales de requins et de raies. Plus récent encore, l'étude de l'ADN environnemental (ADNe), méthode en plein essor, présente l'avantage d'être non-invasive et économe. A la différence des BRUVs, qui possède l'inconvénient de sélectionner les espèces étudiées (via le type d'appât utilisé), l'ADNe permet de détecter les espèces ayant évolué récemment sur le site échantillonné.

En effet le méta-barcoding de l'ADNe permet de caractériser toute une communauté d'espèces (d'un ou plusieurs groupes taxonomiques ciblés) dans un site donné à partir d'un seul prélèvement environnemental, comme de l'eau de mer (*Miya et al., 2015 ; Port et al, 2016, Valentini et al., 2016*). Elle apporte des éléments essentiels à la compréhension de la taille de la population, de la distribution des espèces et de la dynamique des populations (*Bergman et al, 2016 ; Bohmann et al, 2014*). Lié à (i) la persistance limitée dans le temps de l'ADN dans l'environnement et (ii) de sa dispersion dans la colonne d'eau de mer, cette méthode permet de déterminer la présence de taxons-cibles au sein de la zone échantillonnées au cours des derniers jours (24-48 heures en milieu marin côtier) (*Baker et al, 2017*).

Encore peu utilisée à ce jour pour le suivi des requins, cette méthode semble particulièrement efficace pour détecter les espèces de chondrichthyens (+ 44% d'espèces détectées par l'ADNe par rapport à la méthode des BRUVs - *Boussarie et al, 2018*). Elle a notamment fait ses preuves pour détecter des espèces cryptiques qui sont par définition difficiles à (détecter et à) étudier par d'autres méthodes de suivi, comme c'est le cas pour les poissons-scies (*Simpfendorfer et al, 2016*).

Dans les Antilles françaises peu d'informations sont disponibles sur les chondrichthyens et il est difficile, aujourd'hui, de mesurer les enjeux de gestion liés à ce groupe (diversité, abondance, périodicité des présences, zones à fonctionnalités particulières...). Depuis fin 2012, l'association Kap Natirel, située en Guadeloupe, développe des actions pour améliorer les connaissances sur les requins et les raies sur l'ensemble des Antilles françaises avec l'appui de structures locales, et notamment la création du Reguar (Réseau requins des Antilles françaises). Par le biais

de suivis scientifiques (campagnes de pêche scientifique, enquête auprès des pêcheurs, BRUVs...), de sciences participatives (via le programme de recensement des observations, enquête auprès des clubs de plongées...) mais aussi de la littérature (archives ...), l'association Kap Natirel a recensé près de 50 espèces de chondrichthyens dans les eaux des Antilles françaises. Néanmoins, ce sont seulement 5 espèces qui sont régulièrement observées lors des divers suivis mis en place (com.pers. O.Beaufort). De plus, très peu de données ont pu être récoltées sur les espèces les plus menacées qui sont présentes dans les eaux territoriales. Ce constat pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs non-exclusifs : une faible abondance des espèces, un défaut d'observation ou d'échantillonnage des habitats effectivement fréquentés par les chondrichthyens, ou bien de possibles biais induits dans les suivis et/ou liés au comportement « cryptique » de certaines espèces. Par exemple, plusieurs espèces de requins fuient les bulles émises par les plongeurs, par conséquent, les sciences participatives avec les clubs de plongée ne permettent pas d'obtenir des informations sur ces espèces. Ainsi la méthode du méta-barcoding l'ADNe s'avère être une méthode complémentaire pour apporter des informations sur les chondrichthyens (notamment les requins) et plus particulièrement sur les espèces cryptiques et/ou rares pour lesquelles il y a peu d'informations.

Ce document présente les résultats d'une phase test de la méthode du méta-barcoding de l'ADNe dans les eaux des Antilles françaises. L'objectif principal étant d'évaluer, de tester, voire d'améliorer la méthode de méta-barcoding ADNe pour l'identification spécifique et le suivi des communautés de requins dans la Caraïbe.



2. Matériel et méthode

2.1. Sites d'étude

Les Antilles françaises sont localisées sur l'arc antillais, dans la Caraïbe. Elles sont composées de plusieurs îles :

- St Barthélemy (18°50' N, 62°49' W),
- St Martin (18°04' N, 63°03' W),
- L'archipel de Guadeloupe (16° N, 62° W),
- Martinique (14°40' N, 61°00' W).

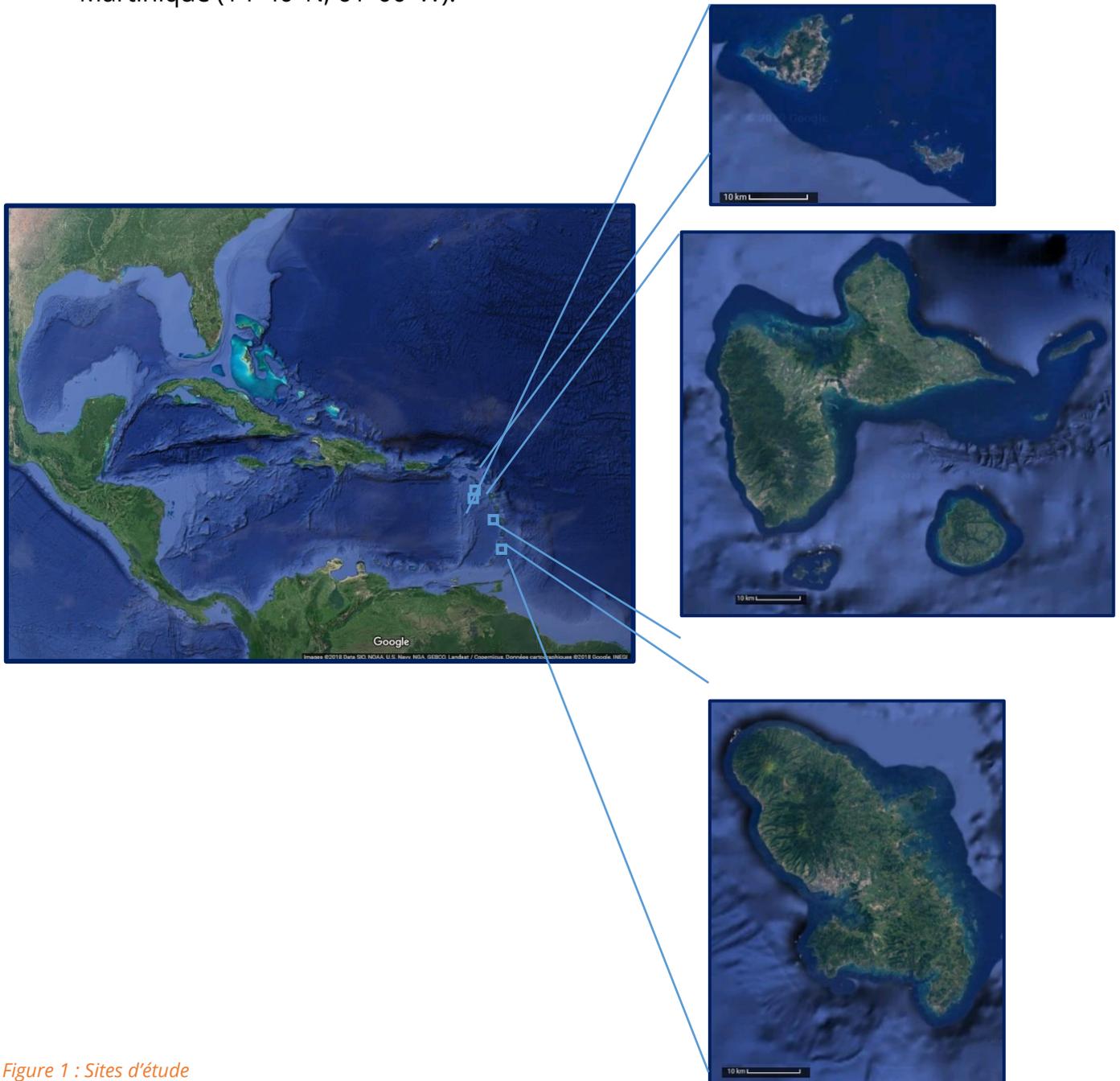


Figure 1 : Sites d'étude

2.2. Méthode

2.2.1. Echantillonnage

Le protocole employé est celui de la société Spygen avec un échantillonnage dynamique par filtration directe d'eau de mer de surface (environ 50 cm de profondeur) prélevée le long d'un transect d'environ 5 km. Les prélèvements sont réalisés à bord d'un bateau évoluant à une vitesse comprise entre 3 et 5 nœuds (selon les conditions météorologiques).

L'échantillonnage de l'ADNe a été réalisé à l'aide d'un appareil de filtration composée d'une pompe péristaltique (Athena® peristaltic pump Proactive Environmental Products LLC; nominal flow of 1.1 L/min), d'une capsule de filtration Filtre VigiDNA® 0,2 µm et d'un tube stérile jetable pour chaque capsule de filtration. Dans l'objectif d'augmenter la représentativité du milieu il a été décidé de procéder à 2 filtrations par transect. Ces filtrations sont réalisées de manière indépendante et simultanée, grâce à 2 pompes (T= pompe installée à tribord, B = pompe installée à babord). La durée de filtration est de 30 minutes correspondant à un volume d'eau d'environ 30 l. À la fin de chaque filtration, l'eau à l'intérieur de la capsule est vidée et une solution de conservation est ajoutée dans la capsule pour permettre le stockage à température ambiante. Un protocole strict de contrôle de la contamination sur le terrain a été suivi avec l'utilisation de gants jetables à usage unique et des tuyaux à usage unique.

Dans le cadre de ce projet 8 secteurs ont été échantillonnés sur les Iles du Nord (St Barthélemy et St Martin) dont 6 pour lesquels il y a 2 répliques (soit 14 échantillons prélevés). Ces 14 échantillons s'ajoutent aux 16 prélevés en 2020 sur 8 secteurs de l'archipel guadeloupéen dans le cadre d'un autre projet.



Figure 2 : Installation de la capsule de filtration, filtration et préparation de l'échantillon pour stockage.

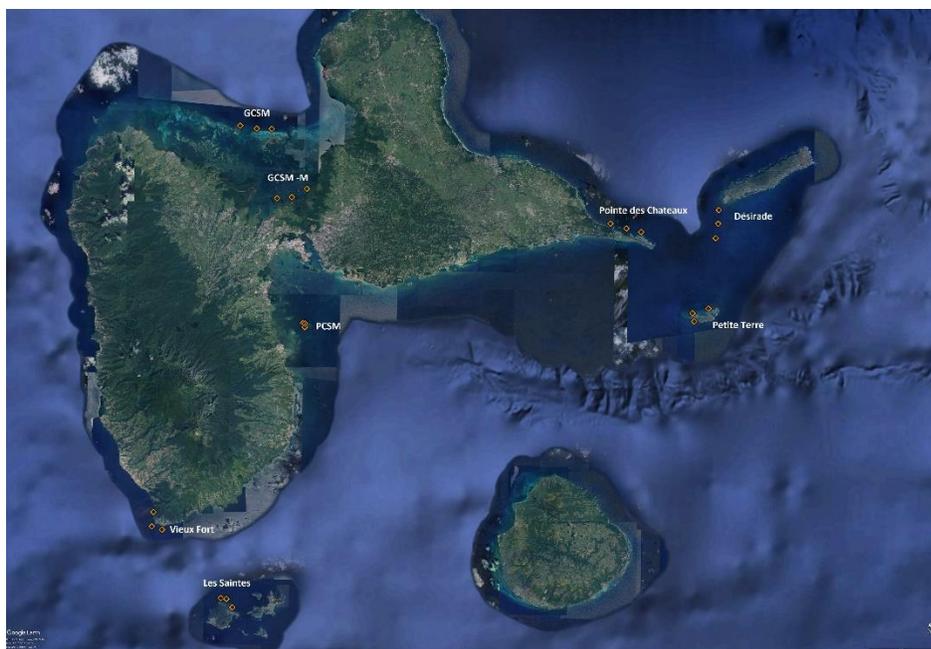


Figure 3 : Répartition des secteurs (en haut en Guadeloupe, en bas les îles du Nord, St Martin et St Barthélemy).

Chaque secteur comporte trois position : début du transect, milieu du transect et fin du transect.

2.2.2. Amplification et analyse des échantillons

Cette partie est réalisée par le sous-traitant SPYGEN. Les échantillons sont envoyés au laboratoire SPYGEN afin qu'ils soient extraits puis séquencés par la méthode NGS (Next Generation Sequencing).

L'ADN est extrait des capsules de filtration hermétique grâce à un protocole dédié (SPYGEN). Une fois l'ADN isolé et purifié, il peut être amplifié par PCR, qui permet la réplication des séquences d'ADN grâce à des amorces d'intérêts. Ici, dans notre étude, il a été utilisé 2 paires d'amorces différentes développées par SPYGEN:

- l'amorces « Téléostéens », qui est une amorce universelle qui permet la détection et l'identification d'un large panel de taxons, appelée amorce T dans ce rapport,
- l'amorces « Chondrichthyens », qui est une amorce plus spécifique que la précédente et qui cible principalement la détection et l'identifications de la Classe des Chondrichthyens, appelée amorce C dans ce rapport.

Lié à des contraintes budgétaires, certains échantillons ont été analysés avec les 2 amorces, d'autres avec une seule amorce (la liste des amorces utilisées par secteur est indiqué en annexe 1).

Une fois les molécules d'ADNe extraites et amplifiées grâce aux amorces sélectionnées, elles sont séquencées à haut débit par la technique de NGS (Beng et al., 2020). Une fois l'ensemble des séquences d'un échantillon ADNe obtenues, elles sont comparées à une base de données de référence contenant toutes les séquences connues répertoriées dans le cadre d'une analyse bio-informatique. Ainsi, il est possible de déterminer à quelles espèces appartiennent les molécules d'ADN échantillonnées et donc savoir quelles espèces étaient présentes dans le milieu étudié. Si la base de référence est incomplète, les séquences non assignées à une espèce précise sont généralement assignées à un plus haut niveau taxonomique (genre, famille).



© Jeff K

3. Résultats

3.1. Comparaison entre les deux amorces

Pour cette partie seules les données provenant des sites ayant été analysés avec les 2 amorces sont prises en compte (voir annexe 1). L'amorce T a permis de détecter plus de Classes que l'amorce C (+9 Classes par rapport à 3 Classes pour l'amorce C. Pour les 2 amorces trois Classes se démarquent : les téléostéens (*Actinopteri*), les chondrichthyens (*Chondrichthyes*) et les Mammifères (*Mammalia*). Les fragments détectés appartenant à des Chondrichthyens représentent moins de 5% avec les 2 amorces (4% avec l'amorce T, 2% avec l'amorce C) (figure X). Le nombre de reads détectés par l'amorce T est supérieur à ceux détectés par l'amorce C (respectivement 219 078 et 75 448) (figure X). Les deux amorces ont permis de détecter 3 Ordres : *Carcharhiniformes*, *Myliobatiformes* et *Orectolobiformes*. Le nombre de reads détecté par l'amorce « Téléostéens » est supérieur pour les deux premiers Ordres, en revanche l'amorce « Chondrichthyens » a un nombre de reads supérieur par rapport à l'amorce « Téléostéens » pour les *Orectolobiformes*. En réduisant le niveau taxonomique les différences entre les deux amorces augmentent.

Sur les 7 taxons détectés, 4 sont communs avec les 2 amorces (*Aetobatus narinari*, *Carcharhinidae*, *Rhizoprionodon sp.* Et *Ginglymostoma cirratum*). Les taxons *Dayatoidae* (les raies pastenague) et *Galeocerdo cuvier* (requin tigre) ont été détecté seulement avec l'amorce T. Tandis que le taxon *Ginglymostomatidae* a été détecté seulement avec l'amorce C. A noté néanmoins qu'il s'agit de la famille du requin nourrice (*Ginglymostoma cirratum*), ce dernier étant le seul représentant de cette famille dans le secteur des Antilles, taxon détecté par les 2 amorces.

Globalement, bien que l'amorce C semble bien détecter le requin nourrice, l'amorce T semble la plus adaptée pour détecter les autres taxons de requins et de raies.

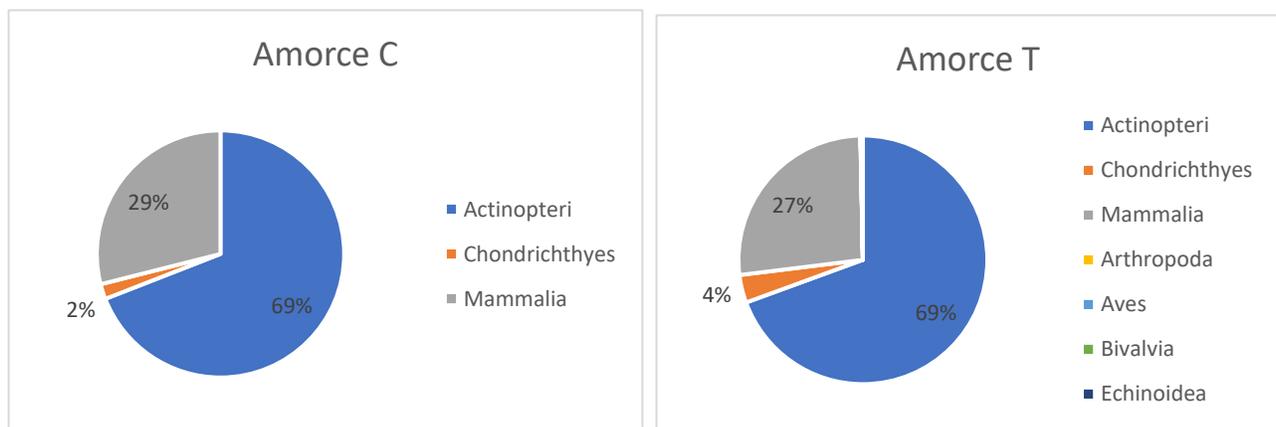


Figure 4 : Répartition des reads détectés pour chaque Classe en fonction de l'amorce.

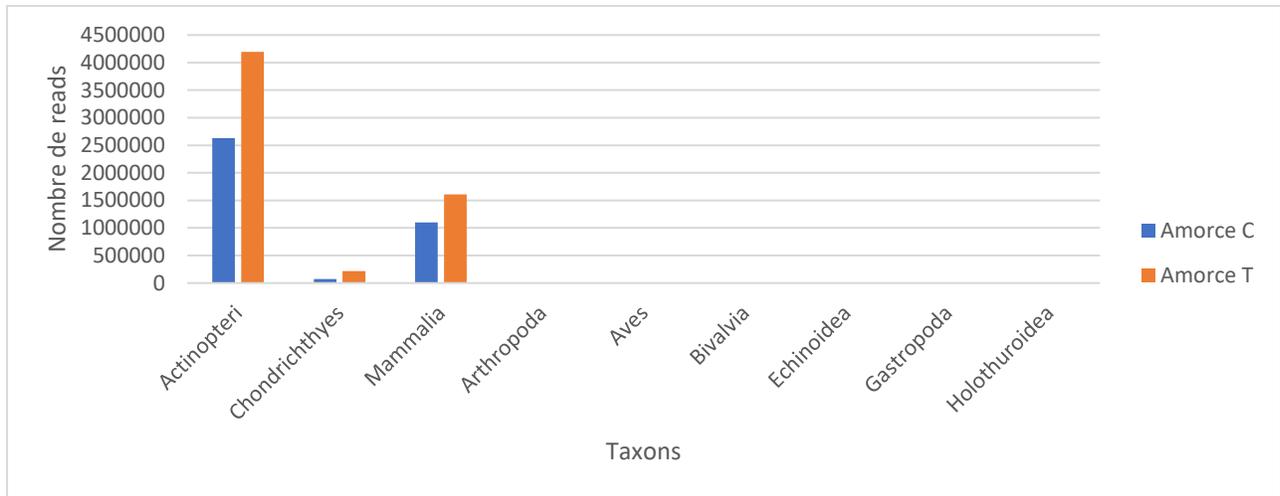


Figure 5 : Nombre de reads détectés pour chaque Classe en fonction de l'amorce.

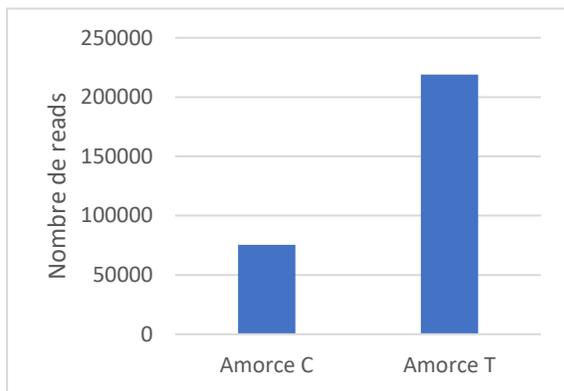


Figure 6 : Nombre de reads détectés de Chondrichthyes en fonction de l'amorce

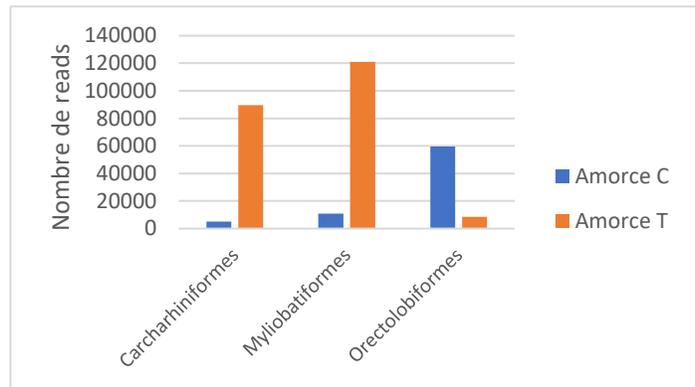


Figure 7 : Nombre de reads détectés pour chaque Ordre en fonction de l'amorce

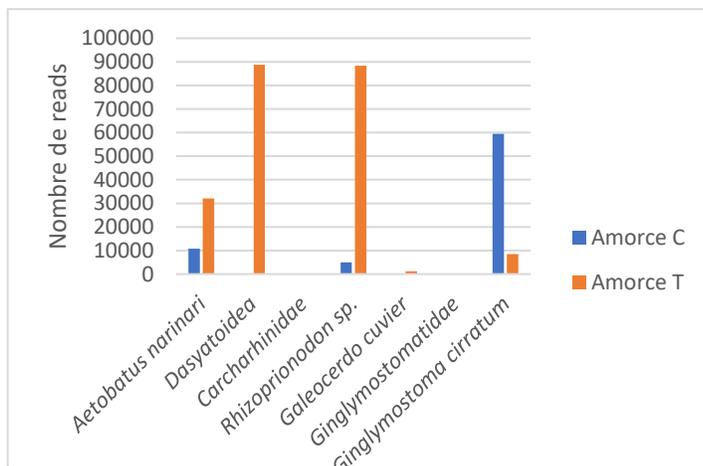


Figure 8 : Nombre de reads pour chaque taxon en fonction de l'amorce.

Tableau 1 : Nombre de reads détectés pour chaque taxon en fonction de l'amorce.

Taxons détectés	Nombre de reads	
	Amorce C	Amorce T
<i>Aetobatus narinari</i>	10831	32162
<i>Dasyatoidea</i>	0	88778
<i>Carcharhinidae</i>	12	12
<i>Rhizoprionodon sp.</i>	5005	88376
<i>Galeocerdo cuvier</i>	0	1240
<i>Ginglymostomatidae</i>	86	0
<i>Ginglymostoma cirratum</i>	59514	8519

3.2. Caractérisation des populations d'éla smobran ches

L'analyse par méta-barcoding de l'ADNe a permis de détecter différentes espèces de requins et de raies dans les eaux des Antilles françaises. Les tableaux 7 et 8 présentent la liste des taxons détectés et la détection des taxons pour chaque secteur d'étude. Différents types de taxons ont été détectés, en passant de l'Ordre, à la Famille et à l'Espèce. Au total, sur les 10 taxons détectés, au moins 7 espèces différentes ont été détectées. On observe également une diversité supérieure dans les îles du Nord (St Barthélemy et St Martin).

Tableau 2 : Liste des taxons détectés

Taxons détectés	Ordre	Famille	Espèces
<i>Carcharhiniformes</i>	Carcharhiniformes	-	-
<i>Carcharhinidae</i>	<i>Carcharhiniformes</i>	Carcharhinidae	-
<i>Carcharhinus acronotus</i>	<i>Carcharhiniformes</i>	<i>Carcharhinidae</i>	Carcharhinus acronotus
<i>Carcharhinus perezii</i>	<i>Carcharhiniformes</i>	<i>Carcharhinidae</i>	Carcharhinus perezii
<i>Galeocerdo cuvier</i>	<i>Carcharhiniformes</i>	<i>Carcharhinidae</i>	Galeocerdo cuvier
<i>Rhizoprionodon sp.</i>	<i>Carcharhiniformes</i>	<i>Carcharhinidae</i>	Rhizoprionodon sp.
<i>Ginglymostomatidae</i>	<i>Orectolobiformes</i>	Ginglymostomatidae	-
<i>Ginglymostoma cirratum</i>	<i>Orectolobiformes</i>	<i>Ginglymostomatidae</i>	Ginglymostoma cirratum
<i>Aetobatus narinari</i>	<i>Myliobatiformes</i>	<i>Myliobatidae</i>	Aetobatus narinari
<i>Dasyatoidea</i>	<i>Myliobatiformes</i>	Dasyatoidea	-

Tableau 3 : Liste des taxons détectés pour chaque secteur.

		<i>Carcharhinidae</i>	<i>Carcharhiniformes</i>	<i>Carcharhinus acronotus</i>	<i>Carcharhinus perezii</i>	<i>Galeocerdo cuvier</i>	<i>Rhizoprionodon sp.</i>	<i>Aetobatus narinari</i>	<i>Dasyatoidea</i>	<i>Ginglymostoma cirratum</i>	<i>Ginglymostomatidae</i>
Guadeloupe	GCSM							X			
	GCSM-M							X			
	PCSM										
	Petite Terre							X		X	
	Vieux Fort										
	Désirade										
	Les Saintes										
St Martin	Baie Rouge					X		X	X		
	Tintamarre									X	
	Rocher creole			X	X			X	X	X	
	Baie du Gallon*		X	X				X	X	X	
St Barthélemy	Frégate / Toc Vert*									X	
	Pain de Sucre					X		X	X	X	
	Ile Bonhomme								X	X	X
	Marigot	X					X				

3.3. Comparaison avec les données obtenues avec la méthode des BRUVs

Le tableau 4 présente les taxons détectés sur chaque île en fonction de la méthode de suivi. Globalement, la méthode de l'ADNe n'a pas permis de détecter de nouveaux taxons en requins et raies, en effet les taxons détectés sur les différentes îles dans le cadre de cette étude avec l'ADNe ont déjà été confirmés par la méthode des BRUVs et/ou celle d'INA Scuba.

Tableau 4 : Liste des taxons confirmés par méthode de suivi.

Secteurs	Taxons détectés									
	Carcharhinidae	Carcharhiniformes	Carcharhinus acronotus	Carcharhinus perezii	Galeocerdo cuvier	Rhizoprionodon sp.	Aetobatus narinari	Dasyatoidea	Ginglymostoma cirratum	Ginglymostomatidae
Guadeloupe	X	X	X	X			X	X	X	X
St Martin	X	X	X	X	X		X	X	X	X
St Barthélemy	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

X	Taxon confirmé seulement par l'ADNe
X	Taxon confirmé seulement par les BRUVs
X	Taxon confirmé seulement par INA Scuba
X	Taxon confirmé par les BRUVs et INA Scuba
X	Taxon confirmé par l'ADNe et les BRUVs
X	Taxon confirmé par les 3 méthodes



© Kevin Bryant

4. Discussion et conclusion

Dans le cadre de cette phase de test de la méthode de l'ADNe pour étudier les communautés de requins et de raies dans les Antilles françaises ce sont 16 secteurs qui ont été échantillonnés sur 3 îles différentes : la Guadeloupe, St Martin et Barthélemy. Ce premier essai a permis d'identifier des modifications à apporter au protocole d'échantillonnage pour optimiser les prélèvements. Le protocole d'échantillonnage est basé sur un prélèvement proche de la surface en navigation le long d'un transect avec un protocole rigoureux et contraignant pour réduire les risques de pollutions des échantillons. Le transect est déterminé en amont notamment en fonction des données disponibles sur la courantologie et la profondeur du secteur (<20m). Cependant sur le terrain le transect réel ne correspond généralement pas au transect prévisionnel et de nombreux imprévus peuvent être rencontrés imposant des adaptations (ex : mer levée, banc de sargasses, ...). Par ailleurs la préparation et l'installation du matériel (installation des tubes et des filtres sur les pompes, stérilisation de la parcelle de travail,...) nécessite des conditions de mer calme. Il en est de même pour la phase de filtration de l'eau, le tube de filtration étant situé à proximité de la surface (30-50 cm de la surface), la moindre houle peut rapidement faire sortir le tube de filtration à l'air libre pouvant ainsi assécher et dégrader le filtre. Afin de réduire les difficultés sur le terrain et faciliter les prélèvements il serait intéressant de revoir la position de la crépine pour la filtration de l'eau et ainsi de prélever une masse d'eau située plus en profondeur (>50cm de la surface).

Concernant les amorces, dans cette étude deux amorces développées par SPYGEN ont été utilisées. Une amorce dite universelle (amorce « téléostéens » ou amorce T) et une amorce plus spécifique pour la détection des requins et des raies (amorce « chondrichtyens » ou amorce C). Sur les échantillons qui ont été traités avec ces deux amorces les fragments d'ADN détectés et attribués à des requins et des raies représentent moins de 5 % de l'ensemble des fragments détectés (2 % avec l'amorce C et 4% avec l'amorce T). Cette faible représentation pourrait s'expliquer par une i) une faible abondance de fragments d'ADN de requins et de raies par rapport à ceux des autres taxons présents dans le milieu, ii) des amorces pas suffisamment adaptées pour amplifier principalement les fragments d'ADN provenant de requins et de raies. En milieu marin, les courants diluent l'ADN dans un volume d'eau important. Il est donc nécessaire d'échantillonner une large surface, de réaliser des répliques et de filtrer une quantité importante d'eau pour maximiser la représentativité du signal ADNe (*Bessey et al, 2020*). Par ailleurs, une fois dans l'environnement, l'ADN est très sensible à certains paramètres, par exemple une concentration élevée en oxygène peut produire un stress oxydatif et ainsi endommager l'ADN (*Vaddi Damodara Reddy et al, 2017*). Ainsi, si les populations de requins et de raies sont moins abondantes que d'autres taxons (ex : les téléostéens) et que l'ADN libéré dans l'environnement est soumis à divers facteurs qui

peuvent favoriser sa dégradation, les fragments d'ADN de requins et de raies détectables par la méthode de l'ADNe peuvent être moins nombreux. Parmi les 2 amorces, l'amorce T, dite universelle, a permis de détecter plus de taxons de requins et de raies que l'amorce C (qui est spécifique aux requins et aux raies, à l'exception du requin nourrice, *Ginglymostoma cirratum*). Ce constat met en avant le besoin d'adapter et de faire évoluer l'amorce C pour la rendre plus performante. Avec les 2 amorces on note également des taxons détectés au niveau de l'Ordre (*Carcharhiniforme*) et de la Famille (ex : *Carcharhinidae*) pouvant notamment s'expliquer par des fragments d'ADN trop dégradés et/ou une base de références pour l'analyse bio-informatique qui nécessite d'être plus étayée. On note également l'absence de détection de certaines espèces dont la présence est confirmée sur le secteur au moment de l'étude. C'est le cas du requin citron (*Negaprion brevirostris*) sur Petite Terre (Guadeloupe), ce site est connu pour abriter toute l'année la plus grande population des Antilles françaises de juvéniles et de sub-adultes. De même pour le requin de récif des Caraïbes (*Carcharhinus perezi*) qui est observé toute l'année au stade juvénile sur Tintamarre (St Martin) ainsi que Pain de Sucre (St Barthélemy).

Cette première utilisation de l'ADNe n'a malheureusement pas permis d'agrandir la liste des espèces de requins et de raies dans les Antilles françaises et l'ensemble des taxons détectés par cette méthode ont également été confirmés avec d'autres méthodes de suivi (BRUVs et INA Scuba). Cependant, la comparaison des méthodes est délicate notamment car les efforts d'échantillonnage ne sont pas les mêmes. En effet, sur la Guadeloupe, St Martin et St Barthélemy ce sont près de 1000 caméras qui ont été déployées depuis 2016 pour le suivi BRUVs alors que pour la méthode de l'ADNe une 30^{aine} de prélèvements ont été réalisés sur 16 secteurs. Néanmoins, il est également important de relever certaines différences notables entre ces méthodes. Lors de cette phase test de l'ADNe le niveau taxinomique des fragments détectés varie entre Ordre, Famille et Espèce. Cependant, pour des questions de conservation, l'Espèce est le niveau à favoriser. En effet, notamment pour des Ordres comme les Carcharhiniformes et des Familles comme les *Carcharhinidae* qui regroupent un nombre important d'espèces avec des statuts de conservation et des paramètres biologiques et écologiques qui peuvent être très différents. De plus à la différence d'autres méthodes comme les BRUVs et INA Scuba, l'utilisation de l'ADNe est restreinte à la détection/identification des taxons. En effet il n'est pas possible d'obtenir des résultats exploitables sur l'abondance et les stades du cycle de vie. De plus, si le taxon est détecté sur le site A cela ne signifie pas qu'il est présent sur le site A mais que des fragments de son ADN ont été retrouvés dans la masse d'eau échantillonnée sur le site A. Si les connaissances sur la courantologie et les paramètres physico-chimiques du secteur étudié sont pauvres, il semble compliqué de déterminer le secteur ou le taxon concerné évolue.

Bien que cette première utilisation de l'ADNe dans les Antilles françaises n'ait pas permis d'agrandir la liste des espèces présentes, il ne faut pas oublier que cette méthode a permis d'apporter de nouvelles connaissances sur d'autres secteurs (+44% d'espèces détectées avec l'ADNe par rapport aux BRUVs, *Boussarie, 2018*). Il serait donc intéressant i) d'adapter le protocole d'échantillonnage pour faciliter les prélèvements dans les conditions environnementales locales, ii) d'augmenter la sélectivité des amorces utilisées, iii) d'étayer la base de référence pour l'analyse bio-informatique. Enfin, l'utilisation de l'ADNe pour le suivi des requins et des raies est en plein essor à travers le monde et notamment dans la Caraïbe. Dans un objectif de travail à grande échelle et de collaboration avec les territoires voisins il semble essentiel d'uniformiser les protocoles d'échantillonnage notamment par rapport au type de filtration (dynamique/stationnaire), à la quantité d'eau prélevée, au nombre de réplicats par site d'étude, les amorces utilisées ainsi que les bases de données utilisées pour la phase d'analyse bio-informatique.

Annexe 1 : Type d'amorces utilisées pour les analyses par secteur

		Amorce téléostéens	Amorce chondrichthyens
Guadeloupe	GCSM	X	X
	GCSM-M		X
	PCSM	X	X
	Petite Terre	X	X
	Vieux Fort	X	X
	Désirade		X
	Les Saintes		X
	Pointe des Chateaux		X
St Martin	Baie Rouge	X	X
	Tintamarre	X	X
	Rocher creole	X	
	Baie du Gallion*	X	
St Barthélemy	Frégate / Toc Vert*	X	
	Pain de Sucre	X	
	Ile Bonhomme	X	X
	Marigot	X	X

Annexe 2 : Taxons détectés par secteurs en fonction de la méthode

Secteurs	Taxons détectés									
	<i>Carcharhinidae</i>	<i>Carcharhiniformes</i>	<i>Carcharhinus acronotus</i>	<i>Carcharhinus perezii</i>	<i>Galeocerdo cuvier</i>	<i>Rhizoprionodon sp.</i>	<i>Aetobatus narinari</i>	<i>Dasyatis</i>	<i>Ginglymostoma cirratum</i>	<i>Ginglymostomatidae</i>
Guadeloupe	GCSM	X	X		X			X	X	X
	GCSM-M							X	X	
	PCSM									
	Petite Terre	X	X	X	X			X	X	X
	Vieux Fort	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Désirade							X	X	
	Les Saintes	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Pointe des Chateaux							X	X	
St Martin	Baie Rouge					X		X	X	X
	Tintamarre	X	X		X	X		X	X	X
	Rocher creole			X	X			X	X	X
	Baie du Gallion		X	X				X	X	X
St Barthélemy	Frégate / Toc Vert	X	X	X	X	X		X	X	X
	Pain de Sucre	X	X	X	X	X		X	X	X
	Ile Bonhomme	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Marigot	X	X	X	X		X	X	X	X

X	Taxon confirmé par les 2 méthodes
X	Taxon confirmé par l'ADNe
X	Taxon confirmé par les BRUVs
ND	Secteur non prospecté avec la méthode

Références bibliographiques

Bakker, J., Wangensteen, O. S., Chapman, D. D., Boussarie, G., Buddo, D., Guttridge, T. L., Hertler, H., Mouillot, D., Vigliola, L., Mariani, S. (2017). Environmental DNA reveals tropical shark diversity in contrasting levels of anthropogenic impact. *Sci. Rep.* 16886 (2017).

Bergman, P.S., Schumer, G., Blankenship, S., Campbell, E. (2016). Detection of adult green sturgeon using environmental DNA analysis. *PLoS One*, 11, e0153500.

Bohmann, K. et al. (2014). Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends in Ecology and Evolution*, 29(6), pp.358–367.

Boussarie, G., Bakker, J., Wangensteen 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 *Adv.* 2018;4: eaap9661

Dulvy, N.K., Fowler, S.L., Musick, J.A. et al. (2014). Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *eLife* 3, e00590

Ferretti, F., Worm, B., Britten, G.L., Heithaus, M.R., Lotze, H.K. (2010). Patterns and ecosystem consequences of shark declines in the ocean. *Ecology Letters*, 13(8), 1055-1071.

Heithaus, M.R., Wirsing, A.J., Dill, L.M. (2012). The ecological importance of intact top-predator populations: A synthesis of 15 years of research in a seagrass ecosystem. *Marine and Freshwater Research*, 63, 1039–1050.

Miya, M. et al. (2015). MiFish, a set of universal PCr primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *!. Soc. Open Sci.* 2, 150088.

Port, J. A. et al. (2016). Assessing vertebrate biodiversity in a 'elp forest ecosystem using environmental DNA. *Mol. Ecol.* 25, 527–541.

Simpfendorfer, C.A., Heupel, M.R., White, W.T., Dulvy, N.K. (2011). The importance of research and public opinion to conservation management of sharks and rays: A synthesis. *Marine and Freshwater Research*, 62, 518–527.

Simpfendorfer, Colin & Kyne, Peter & Noble, Tansyn & Goldsbury, Julie & Basiita, Rose & Lindsay, R & Shields, A & Perry, C & Jerry, Dean. (2016). Environmental DNA detects Critically Endangered largetooth sawfish in the wild. *Endangered Species Research*. 30. 10.3354/esr00731.

Stevens, J. D. et al. (2000). The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, 57(3), 476-494.

Valentini, A., Taberlet, P., Miaud, C., Civade, R., Herder, J., Thomsen, P.F. et al . (2016). Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*., 25, 929– 942.