



HAL
open science

L'utilisation de l'ADNe/ADNa pour la surveillance des espèces non indigènes marines : État des lieux et recommandations concernant le descripteur D2 de la DCSMM

Frédérique Viard, Axel Gayot, Cécile Massé

► To cite this version:

Frédérique Viard, Axel Gayot, Cécile Massé. L'utilisation de l'ADNe/ADNa pour la surveillance des espèces non indigènes marines : État des lieux et recommandations concernant le descripteur D2 de la DCSMM. ISEM (Univ Montpellier, CNRS, IRD); Office Français de la Biodiversité. 2025, 40 p. + annexes. <hal-05102866>

HAL Id: hal-05102866

<https://hal.science/hal-05102866v1>

Submitted on 7 Jun 2025

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.



Distributed under a Creative Commons CC BY-ND 4.0 - Attribution - No Derivative Works - International License

L'utilisation de l'ADNe/ADNa pour la surveillance des espèces non indigènes marines : Etat des lieux et recommandations concernant le descripteur D2 de la DCSMM

Rapport réalisé pour le compte de l'Office Français pour la Biodiversité par le Centre National de la Recherche Scientifique, représenté par l'Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier (UMR 5554)

Coordinateurs : Cécile Massé (OFB) et Frédérique Viard (CNRS-ISE-M)

Collaborateur : Axel Gayot (CNRS-ISE-M)

Mai 2025

Résumé

Ce travail a été réalisé afin d'alimenter les réflexions en amont de la constitution éventuelle d'un programme de surveillance s'appuyant sur l'utilisation d'ADN environnemental (ADNe) ou d'ADN d'assemblages (ou massal) (ADNa), dédié aux espèces non-indigènes marines, en soutien au descripteur 2 de la Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin. Il s'appuie sur deux volets : 1) une revue systématique de la littérature récemment publiée (2019-2024), réalisée selon les standards de « Collaboration for Environmental Evidence qui visent en particulier à éviter les biais d'opinion d'une revue bibliographique classique et 2) les résultats d'une enquête réalisée avec un questionnaire envoyé à des acteurs académiques et non académiques français, utilisant ou non des outils basés sur l'utilisation d'ADNe/ADNa, afin d'évaluer leurs objectifs, les méthodes employées et leur perception de ces approches. La synthèse des deux volets met en relief différents points dont la pertinence de ces approches ADNe/ADNa pour des suivis et surveillance d'ENI, associé à un intérêt des acteurs nationaux pour la mise en œuvre de ces approches dans ce contexte. Néanmoins, d'importants biais de cibles (milieux d'études ou groupes taxonomiques) et une grande hétérogénéité des pratiques ressortent de ces deux volets, ce qui pénalise encore l'approche dans le cadre d'un réseau de surveillance. Afin de consolider l'approche pour déployer un tel réseau, une série de recommandations sont faites, partant des objectifs fins de la surveillance, de la levée de verrous actuels à la mise en œuvre d'un centre de ressources dédié.

Mots clés

ADN environnemental, metabarcoding, qPCR, digital PCR, espèces non-indigènes, espèces exotiques envahissantes, surveillance, DCSMM

Citation

Frédérique Viard, Axel Gayot & Cécile Massé (2025) « L'utilisation de l'ADNe/ADNa pour la surveillance des espèces non indigènes marines : Etat des lieux et recommandations concernant le descripteur D2 de la DCSMM ». Rapport CNRS ISE-M réalisé pour le compte de l'Office Français pour la Biodiversité. 90 pages.

Table des matières

Contexte, objectifs et structure du rapport	3
Volet 1. Synthèse bibliographique	4
1.1. Méthodologie de la revue systématique	5
1.1.1. Recherche et filtrage des articles : constitution du corpus	5
1.1.2. Extraction des informations des articles : codage	6
1.2. Présentation du corpus : localisation, objectifs, et approches	6
1.3. Milieux d'étude et cibles biologiques	8
1.4. Protocoles mis en œuvre	10
1.5. Résultats obtenus (identification des ENI)	15
Nouvelles ENI identifiées	15
Identification d'ENI déjà connues	15
1.6. Avantage et Limites	16
1.7. Messages clés issus de la synthèse bibliographique	17
Volet 2. Enquête à l'échelle nationale	19
2.1. Typologie des répondants	20
2.1.1. Distribution des répondants par type de structure	20
2.1.2. Mise en œuvre des approches ADNe/ADNa par les répondants	21
2.1.3. Objectifs de la mise en œuvre	22
2.1.4. Zones géographiques	23
2.2. Répondants ayant déjà utilisé l'ADNe/ADNa	23
2.2.1. Cibles biologiques et milieux d'étude	24
2.2.2. Protocoles mis en œuvre	25
2.2.3. Evaluation des approches ADNe/ADNa : satisfaction et points d'amélioration	28
2.3. Acteurs n'ayant jamais utilisé des approches ADNe / ADNa	30
2.3.1. Verrous rencontrés	30
2.3.3. Les leviers possibles	31
2.4. Messages-clés issus de l'enquête	32
Volet 3. Synthèse et recommandations	34
Synthèse issue des volets 1 et 2	34
Recommandations	36
Références bibliographiques citées dans le texte	39
Annexes	41

Annexe 1. Liste des 106 articles retenus par la recherche bibliographique : 81 articles codés pour les analyses, 3 articles non codés (texte complet non accessible) et 22 articles de synthèse, revues, perspectives	41
Articles codés	41
Articles non codés (par manque de disponibilité du texte complet)	46
Articles de revues, perspectives, opinions	46
Annexe 2. Feuille de codage	48
Annexe 3. Liste des espèces citées dans les études présentées dans les 81 articles analysés	52
Annexe 4. Liste d'ENI, identifiées par metabarcoding, dont la présence a été validée par une analyse morphologique et/ou une approche ciblée	54
Annexe 5. Formulaire tel que visible en ligne	67

Contexte, objectifs et structure du rapport

Les espèces exotiques envahissantes (**EEE**), aussi appelées espèces non indigènes (**ENI**) invasives, font partie des 5 pressions majeures s'exerçant sur la biodiversité (IPBES, 2019). A ce titre, le descripteur 2 de la Directive Cadre Stratégie Milieu Marin (**DCSMM**) leur est dédié. Selon la Décision UE 2017/848, ce descripteur se décompose en trois critères :

- Critère 1 (D2C1) : Le nombre d'espèces non indigènes nouvellement introduites dans le milieu naturel par le biais des activités humaines, par période d'évaluation (six ans), comptabilisé à partir de l'année de référence retenue pour l'évaluation initiale réalisée conformément à l'article 8, paragraphe 1, de la directive 2008/56/CE ; ce nombre doit être réduit au minimum et, si possible, ramené à zéro.
- Critère 2 (D2C2) : L'abondance et la répartition spatiale des espèces non indigènes établies, en particulier les espèces envahissantes, qui contribuent de manière notable aux effets néfastes sur certains groupes d'espèces ou grands types d'habitats.
- Critère 3 (D2C3) : La proportion du groupe d'espèces ou l'étendue spatiale du type d'habitat subissant des altérations néfastes dues à la présence d'espèces non indigènes, en particulier des espèces non indigènes envahissantes.

Afin d'acquérir les données permettant de renseigner au mieux ces critères, plusieurs approches de surveillance sont mises en œuvre ou envisagées dont une surveillance basée sur l'utilisation d'ADN environnemental (**ADNe**) ou d'assemblages (**ADNa**) (*Encadré 1.1*) pour suivre la distribution des ENI dites prioritaires (à fort risque d'invasion et/ou d'impact sur les écosystèmes), mais aussi pour la détection précoce d'espèces non encore observées mais fortement attendues dans nos eaux. Dans ce contexte, ce rapport vise à faire la synthèse de ce qui est actuellement mis en œuvre pour développer ou utiliser de l'ADNe/ADNa à des fins de surveillance des ENI marines et d'émettre des recommandations concernant l'utilisation de ces approches pour le programme de surveillance DCSMM relatifs aux ENI.

Le travail s'est articulé autour

1) d'une analyse bibliographique des articles parus récemment (2019-2024) ; celle-ci a été effectuée selon un protocole de revue systématique de la littérature (**RSL**) selon les standards de « Collaboration for Environmental Evidence » (<https://environmentalevidence.org/>) ; ces standards visent en particulier à éviter les biais d'opinion d'une revue bibliographique classique.

2) d'une enquête réalisée avec un questionnaire envoyé à des acteurs académiques et non académiques français, utilisant ou non des outils basés sur l'utilisation d'ADNe/ADNa, afin d'évaluer leurs objectifs, les méthodes employées et leur perception de ces approches. Cette approche vise à obtenir une image actuelle, c'est-à-dire non pénalisée par les délais de publication et au plus proche de la réalité de terrain des acteurs du territoire national.

Afin de contextualiser les résultats de l'enquête, les résultats de la revue systématique de littérature sera présentée dans le volet 1. L'analyse des résultats de l'enquête fera l'objet du volet 2. Enquête et synthèse bibliographique seront utilisées pour réaliser une synthèse des points saillants de ces deux analyses pour proposer des recommandations pour la surveillance des espèces non indigènes marines dans le cadre de la DCSMM sur le territoire français.

Volet 1. Synthèse bibliographique

Afin de contextualiser les résultats de l'enquête, ainsi que la façon dont a été structuré le questionnaire proposé pour cette enquête, une synthèse bibliographique a été menée à partir des études utilisant l'ADN environnemental (**ADNe**) ou l'ADN d'assemblages (**ADNa**) dans le but d'identifier ou étudier des espèces non-indigènes (*Encadré 1.1*).

Il existe de très nombreux articles de revue, de synthèse ou d'opinion publiés récemment concernant les approches utilisant de l'ADNe ou de l'ADNa (voir par exemple Duarte, Vieira, Lavrador, & Costa, (2021) ou Jarman et al., 2024) pour des articles dédiés aux ENI ou (Blackman et al., 2024) pour une analyse des progrès et limites actuels concernant l'utilisation d'ADNe). Aussi cette analyse ne concernera que les articles scientifiques récemment publiés (5 dernières années) donc n'ayant probablement pas été intégrés dans des articles de revues publiés au cours de la même période. Afin d'éviter biais et partialité dans les articles utilisés, la synthèse a été conduite en utilisant la méthodologie de « Collaboration for Environmental Evidence » (cf. <https://environmentalevidence.org/>), largement utilisée pour réaliser des « revues systématiques de la littérature » (**RSL**) ; cette approche propose un cadre et un protocole rigoureux d'extraction et de filtrage des articles scientifiques publiés dans des journaux internationaux arbitrés. Cette méthodologie, le corpus issu des requêtes bibliographiques réalisées et les résultats sont présentés ci-dessous. Cette revue s'est intéressée à l'ensemble des approches utilisant ADNe/ADNa pour identifier des espèces non-indigènes, c'est-à-dire des approches ciblées et des approches non ciblées (*Encadré 1.1*). L'analyse à proprement parler porte sur les articles comportant des données primaires. Les articles de revues/synthèse/opinion, également recherchés lors de la RSL, seront néanmoins également indiqués.

Encadré 1.1- Approches moléculaires ciblées vs. non ciblées utilisant ADNe/ADNa

Rappelons que l'ADN environnemental (ADNe) fait référence à de l'ADN extrait à partir d'échantillons du milieu d'étude, par exemple l'eau de mer ou les sédiments, alors que l'ADN d'assemblage (ADNa ; également appelé ADN massal ou « bulk DNA » en anglais) fait référence à des ADN extraits sur un ensemble plus restreint d'organismes piégés ou ciblés, tels que du meroplankton prélevé avec un filet à plancton ou l'ensemble des organismes récoltés par grattage sur un collecteur passif comme des plaques de recrutement ou des ARMS (Autonomous Reef Monitoring Structures).

ADNe et ADNa peuvent être analysés de deux manière :

1) par des approches ciblées, qui utilisent des sondes ou des amorces de PCR visant à identifier spécifiquement une ou quelques espèces cibles ; les techniques mises en œuvre sont par exemple la PCR quantitative ou la PCR digitale ; la spécificité de l'approche (son efficacité et sa robustesse pour identifier les espèces ciblées et elles seules) est validée antérieurement à l'analyse des ADNe/ADNa

2) des approches dites non ciblées, et ici en particulier le metabarcoding, qui consiste en un séquençage haut-débit de tous les amplicons issus d'une PCR utilisant des amorces à plus ou moins large spectre taxonomique, par exemple permettant d'amplifier les procaryotes ou les eucaryotes ou les poissons ; dans les approches non ciblées, au contraire de l'approche ciblée, l'identification taxonomique est un des produits final de l'analyse des séquences générées par séquençage haut-débit des amplicons ; quand il s'agit d'identifier des espèces particulières, par exemple des espèces non-indigènes, une étape cruciale est donc de réaliser une assignation taxonomique des séquences obtenues afin d'obtenir des listes d'espèces ou taxons présents dans l'échantillon analysé.

De plus amples informations sur les principes généraux de ces méthodes peuvent être obtenues dans deux rapports récemment réalisés par l'UAR Patrinat : le rapport coordonné par Cartier et al. (2022) et celui coordonné par Lacoëuilhe et al. (2024).

1.1. Méthodologie de la revue systématique

1.1.1. Recherche et filtrage des articles : constitution du corpus

Selon le protocole développé par « Collaboration for Environmental Evidence », une première étape a consisté à créer une requête pour **interroger la base bibliographique** de référence dans le domaine, Web of Science Core Collection, sur la période 2019-2024 (requête réalisée le 27 août 2024). Cette requête est constituée de mots-clés, à rechercher dans le titre, le résumé et les mots-clés, combinés par des booléens. Cette clé est cruciale pour la qualité de la RSL. Elle est établie par itération successive à partir d'une liste « test » contenant des articles qui devraient être trouvés lors de la recherche. La clé de recherche est constituée de trois blocs : un bloc décrivant le milieu d'étude (milieu marin et ses environnements associés), la cible (les espèces non-indigènes) et la méthode d'étude (approches ciblées et non ciblées sur de l'ADN obtenu dans l'environnement ou l'écosystème). La clé de recherche est présentée dans le Tableau I.1.

Tableau I.1. Requête bibliographique réalisée en date du 28 août 2024

Base	Clé de recherche	Période	N articles
Web of Science	<p>TS=("marine" OR "coastal" OR "estuarine" OR "saline" OR "brackish" OR "oceanic" OR "sea" OR "saltwater" OR "salt water" OR "pelagic" OR "seawater" OR "littoral" OR "littorals" OR "offshore" OR "hotspot" OR "hotspots" OR "marina" OR "marinas" OR "port" OR "ports" OR "harbour" OR "harbours" OR "harbor" OR "harbors" OR "maritime" OR "nautical" OR "ballast" OR "ballasts" OR "aquaculture" OR "mooring" OR "moorings" OR "bait" OR "baits" OR "seaweed farming" OR "seaweed farm" OR "seaweed farms" OR "biofouling" OR "bio-fouling" OR "fouling" OR "bilge" OR "hull" OR "hull-fouling" OR "tank" OR "tanks" OR "tanker" OR "tankers" OR "tankship" OR "tankships" OR "ship" OR "ships" OR "vessel" OR "vessels" OR "boat" OR "boats" OR "shipping" OR "dockyard" OR "dockyards" OR "dock" OR "docks" OR "yatch" OR "yachts" OR "yatching" OR "boating" OR "fishing" OR "debris" OR "litter" OR "litters" OR "trash" OR "plastic" OR "plastics" OR "ferry" OR "ferries" OR "anti-fouling" OR "antifouling" OR "seawall" OR "seawalls" OR "jetty" OR "jetties" OR "quay" OR "quays" OR "shipyard" OR "shipyards") AND TS=("non native" OR "non-native" OR "nonnative" OR "non indigenous" OR "nonindigenous" OR "non-indigenous" OR "alien" OR "aliens" OR "pest" OR "pests" OR "invasive" OR "exotic" OR "outsider" OR "foreign" OR "translocated" OR "non-endemic" OR "invading" OR "invader" OR "invaders" OR "IMS" OR "NIS" OR "INNS" OR "AIS" OR "IAS") AND TS=("eDNA" OR "environmental DNA" OR "environmental deoxyribonucleic acid" OR "eRNA" OR "environmental RNA" OR "environmental ribonucleic acid" OR "environmental genetic material" OR "environmental genetic materials" OR "biomass DNA" OR "massal DNA" OR "assemblage DNA" OR "bulk DNA" OR "organismal DNA" OR "extra-organismal DNA" OR "free DNA" OR "environmental nucleic acids" OR "eNA" OR "eNAs" OR "sediment DNA" OR "sediments DNA" OR "sediment eDNA" OR "sediments eDNA" OR "sedimentary DNA" OR "sedimentary eDNA" OR "sedDNA" OR "sedimentary ancient DNA" OR "sedimentary ancient eDNA" OR "sedaDNA" OR "ancient DNA" OR "ancient eDNA" OR "aDNA" OR "community DNA" OR "communities DNA" OR "community eDNA" OR "communities eDNA" OR "eDNA community" OR "eDNA communities" OR "plankton-DNA" OR "planktonic-DNA") AND TS=("sequencing" OR "barcoding" OR "metabarcoding" OR "qPCR" OR "quantitative PCR" OR "metagenomics" OR "amplicon sequencing" OR "high-throughput sequencing" OR "high throughput sequencing" OR "HTS" OR "next-generation sequencing" OR "next generation sequencing" OR "NGS" OR "PCR" OR "polymerase chain reaction" OR "cPCR" OR "conventional PCR" OR "dPCR" OR "digital PCR" OR "ddPCR" OR "droplet digital PCR" OR "multiplex" OR "multiplexing" OR "single-species" OR "multi-species" OR "species-specific" OR "marker" OR "markers" OR "primer" OR "primers" OR "bioinformatic" OR "bioinformartics" OR "bio-informatic" OR "bio-informatics" OR "reference database" OR "molecular") NOT TS=("medicine" OR "medical" OR "patient" OR "patients" OR "clinical" OR "clinic" OR "clinics" OR "covid-19")</p>	1/1/2019-27/08/2024	226

A l'issue de cette recherche, et après avoir enlevé un duplicata, un total de 225 articles a été obtenu, articles publiés sur la période 2019-2024. A noter, à titre de comparaison, que la même requête sans le bloc dédié aux espèces non-indigènes fournit 1413 articles et que la même requête sans le bloc dédié à l'ADNe fournit 3054 études sur cette même période de 5 ans. On voit ici que ces sujets ENI comme ADNe sont des sujets centraux dans les études du milieu marin et que le bloc ADNe/ADNa correspond à 16% des articles dédiés aux ENI (avant filtrage et vérification de l'éligibilité – cf. ci-dessous).

Pour éliminer les faux positifs (i.e., articles issus de la requête mais ne correspondant pas aux critères de recherche), une seconde étape de ce protocole a consisté à lire les titres/résumés/mots-clés de tous les articles pour vérifier leur **éligibilité**. Ainsi, ont été exclus les articles ne concernant pas 1) des espèces marines (telles que référencées dans la base de données « World Register of Marine Species » (WoRMS), 2) des environnements non marins (ou mesocosmes, tanks et aquariums d'expérimentations d'eau de mer) ou n'étant pas des milieux salines ou saumâtres d'interface terre-mer tels que des estuaires, lagunes ou deltas. Ainsi, par exemple, les études dans la région des Grands Lacs ont été exclues. A l'issue de ce filtrage, 114 articles ont été retenus (i.e., 111 exclus). Pour chacun des articles retenus après l'étape d'analyse de l'éligibilité, le texte complet des articles a été récupéré afin de réaliser une seconde étape d'éligibilité sur la base du texte intégral. Cette nouvelle étape a été réalisée sur 111 articles car pour 3 d'entre eux (cf. Yip et al. 2023, Yang et al. 2024, Xu et al. 2024 dans la liste présentée en [Annexe 1](#)), l'article n'était pas accessible en ligne et les auteurs n'ont pas répondu à notre demande du texte complet. Après lecture du texte intégral, 96 parmi ces 111 articles ont été retenus. Ainsi seulement 15 articles ont été exclus après lecture du texte complet, indiquant que la première phase d'analyse de l'éligibilité sur les seuls titre, résumé et mots-clés, qui est relativement rapide, est assez robuste. Enfin, 7 articles (dont un article de revue) ont été ajoutés manuellement car ces faux-négatifs étaient cités dans les articles retenus et pertinents pour l'analyse.

Ainsi au total, **le corpus comprend 103 articles composés de 81 études primaires et 22 revues/synthèses** (cf. Liste des références bibliographiques en [Annexe 1](#)). Les analyses présentées ici ont été effectuées sur les 81 articles présentant des données primaires. En effet, la nature non systématique des revues et l'hétérogénéité des sources qu'elles utilisent nous ont conduit à ne pas les utiliser dans l'analyse bibliographique, si ce n'est dans la présentation du corpus lui-même et pour en fournir la liste (cf. [Annexe 1](#)) à des fins d'informations complémentaires.

1.1.2. Extraction des informations des articles : codage

Afin d'extraire de façon identique les informations caractérisant l'étude, le protocole et les résultats présentés dans les articles, une feuille de codage a été préparée. La feuille de codage est présentée en [Annexe 2](#). Elle comprend 45 variables représentant 6 domaines :

- 1) Le objectifs généraux de l'étude
- 2) les régions, milieux et échelles d'étude
- 3) Les méthodes mises en œuvre pour l'obtention des données moléculaires
- 4) les procédures informatiques
- 5) les prestations utilisées pour obtenir les données
- 6) le bilan : espèces identifiées et limites/perception de l'approche données par les auteurs

A quelques exceptions près les variables sont à choix multiples.

1.2. Présentation du corpus : localisation, objectifs, et approches

Le corpus final est constitué de **81 articles primaires correspondant à 119 études, une étude étant définie par le type d'approche** (ciblée vs. non ciblée) ; plusieurs articles utilisent en effet ces deux approches (cf. ci-dessous) par nature très différentes ([Encadré 1.1](#)) et pour lesquelles la plupart des informations recherchées ne peuvent pas être combinées. Sur les 5 dernières années, leur

distribution par année est équilibrée avec de 15 (2023, année partielle) à 21 (2020) articles par an. En 2024 (année incomplète du fait de la requête effectuée en aout 2024), 12 articles ont été obtenus.

En utilisant l'affiliation du premier auteur, trois pays apparaissent de façon prépondérante (*Figure 1.1*), l'Espagne (15 articles) les Etats-Unis (14 articles) et le Royaume-Uni (12 articles). La France est 7ième ex-aequo avec l'Australie et la Corée du Sud (4 articles).

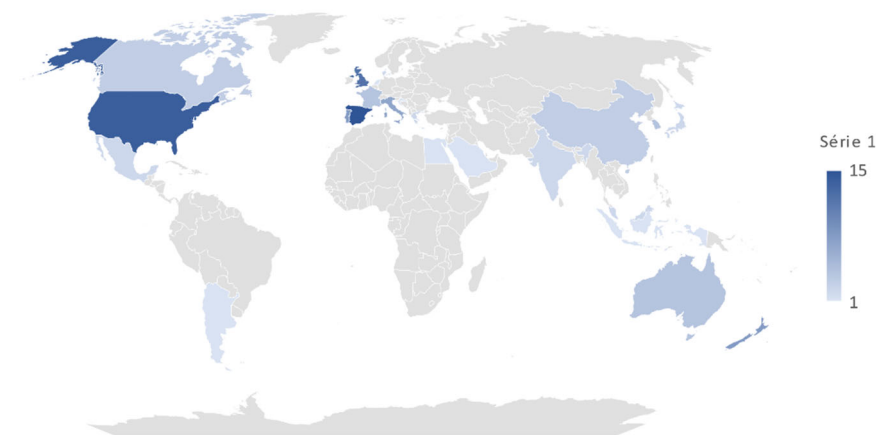


Figure 1.1. Nombre d'articles par pays sur la base de l'affiliation du premier auteur.

En accord avec ces affiliations, **les terrains d'étude sont majoritairement dans l'hémisphère Nord**, avec cependant quelques petites inversions dans les rangs : 12 articles concernent le territoire des Etats-Unis, 10 en Espagne, 8 en Nouvelle-Zélande puis 7 en France, qui se trouve ainsi en quatrième position. Concernant plus spécifiquement la France, les travaux sont équilibrés entre façades métropolitaines (2 à 4 études) à l'exception de la Manche-Est/Mer du Nord qui n'a fait l'objet d'aucune étude sur la période. Par ailleurs, une seule étude a été réalisé en Outre-mer (Pacifique).

Les financements de ces recherches sont pour 54 des 81 articles de plusieurs sources mais en premier lieu par des agences de financement de la recherche nationales (37%) ou internationales (17%). Viennent ensuite des agences gouvernementales en charge notamment de politiques publiques de l'environnement (28%). Pourtant, selon les auteurs, **85% des articles ont comme contexte d'étude un double objectif de recherche et de gestion (55 articles ; 70%) voire un objectif de gestion uniquement (14 articles ; 17%)** ; ceci souligne que les recherches croisant ADN_e/ADN_a et ENI se placent essentiellement dans une perspective de **recherche-action**. Les objectifs détaillés, souvent plusieurs par articles, sont présentés dans la *figure 1.2*. On notera que près d'un tiers des articles (29%) cherchent à optimiser les protocoles d'acquisition des données moléculaires (optimisation et/ou comparaison des techniques d'échantillonnage, d'extraction d'ADN ou d'acquisition des données moléculaires) ou d'améliorer leur traitement (travail de comparaison ou d'amélioration des bases de référence, comparaison des pipelines bio-informatiques). **Ceci souligne que la phase de consolidation de l'approche n'est pas terminée**. Néanmoins, et de façon relativement inattendue, seuls **10% des articles comparent leurs résultats à ceux issus de méthodes traditionnelles**, ce qui suggère de façon non exclusive i) une certaine confiance dans la maturité de ces approches moléculaires, ii) des ressources ou expertises insuffisantes pour mener de front les deux types d'approches ou iii) l'utilisation des méthodes moléculaires pour aller au-delà de la seule identification des ENI. Sur ce dernier point, remarquons d'ailleurs que **20% articles utilisent ces approches ADN_e/ADN_a pour non seulement identifier une ou l'ensemble des ENI (35% des articles) mais aussi pour évaluer de façon globale la biodiversité marine**, rappelant la nature holistique de l'approche (quand elle est non ciblée).

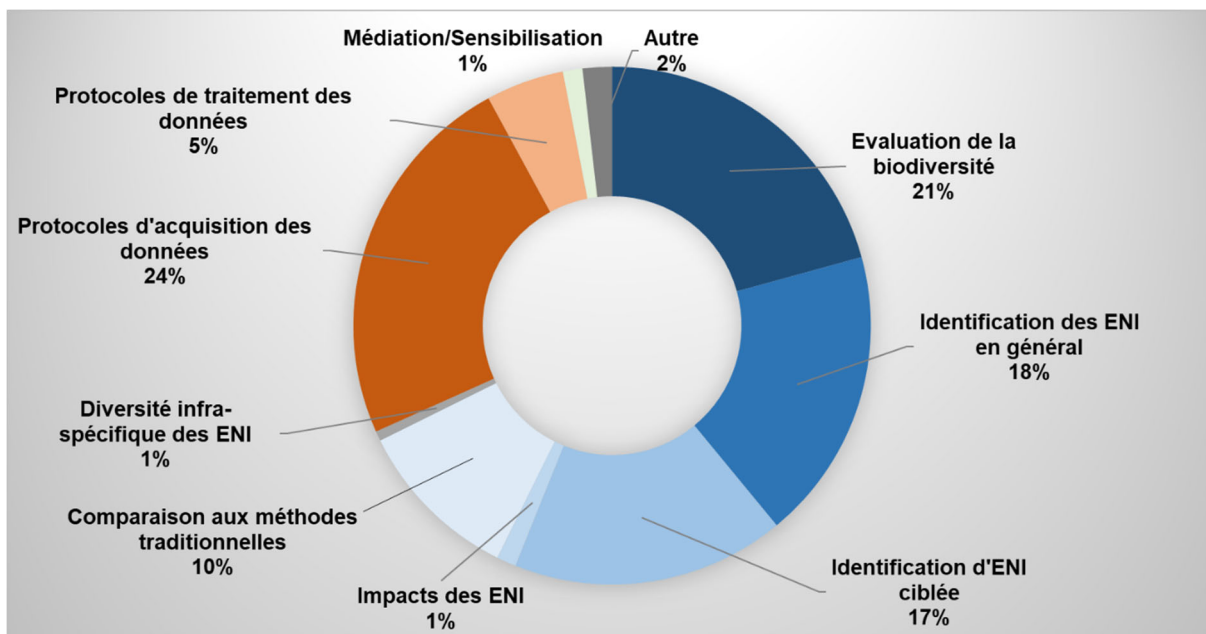


Figure I.2. Distribution (en pourcentage) des objectifs des études menées dans les 81 articles analysés. Le nombre total est de 164 relevés car 60 études ont de 2 à 4 objectifs simultanément.

Les 81 articles concernent des **études utilisant majoritairement une approche non ciblée (62%, N=50)**, les approches ciblées représentant 30% des articles (N=24). Seuls 7 articles (8%) utilisent les deux types d'approches. Des précisions sur les techniques utilisées sont données plus loin.

1.3. Milieux d'étude et cibles biologiques

Sur les 81 articles analysés, 73 sont de nature expérimentale sur un milieu d'étude déterminé (les 8 autres articles sont des études *in silico* ou d'optimisation techniques). Les recherches présentées dans ces articles sont réalisées dans trois grandes catégories d'habitats/milieus : des habitats expérimentaux (mésocosmes, aquariums, N=5), des habitats naturels (N= 41) et des habitats artificiels (N=39). Douze articles ciblent plusieurs d'entre eux : 2 ciblent mésocosmes et habitats naturels et 10 (soit 15% des articles) étudient conjointement habitats naturels et artificiels.

Si on examine en détail les habitats naturels et artificiels, l'upset plot ci-dessous ([Figure I.3](#)) permet de souligner que **près de la moitié des études sont réalisées en milieu portuaire** (33 articles), incluant bouées, pontons et/ou bateaux, etc. ainsi que dans son environnement (ex. eau du port). Ce résultat fait sens en regard d'une part du rôle connu de ces espaces comme points chauds d'introduction et d'établissement des ENI marines (Mineur et al., 2012), du fait des activités de navigation connues comme les vecteurs d'introduction principaux en milieu marin (Bailey et al., 2020), mais aussi des cibles taxonomiques (cf. ci-dessous), essentiellement des chordés et plus généralement des invertébrés marins, communs dans les zones portuaires. **On remarquera en revanche des manques de connaissance concernant : 1) les zones aquacoles, qui sont également des points chauds d'introduction (Mineur et al., 2012) et donc des zones à surveiller (4 articles), et 2) les comparaisons entre ports et milieux naturels (9 articles ; soit 15% des études) ;** ce manque d'étude questionne sur la transférabilité des protocoles entre habitats et, d'autre part, sur les données permettant de qualifier voire quantifier l'échappement des ENI des points chauds d'introduction et leur propagation en milieu naturel, et qui est par ailleurs un des objectifs sur le critère C2 de la **DCSMM**.

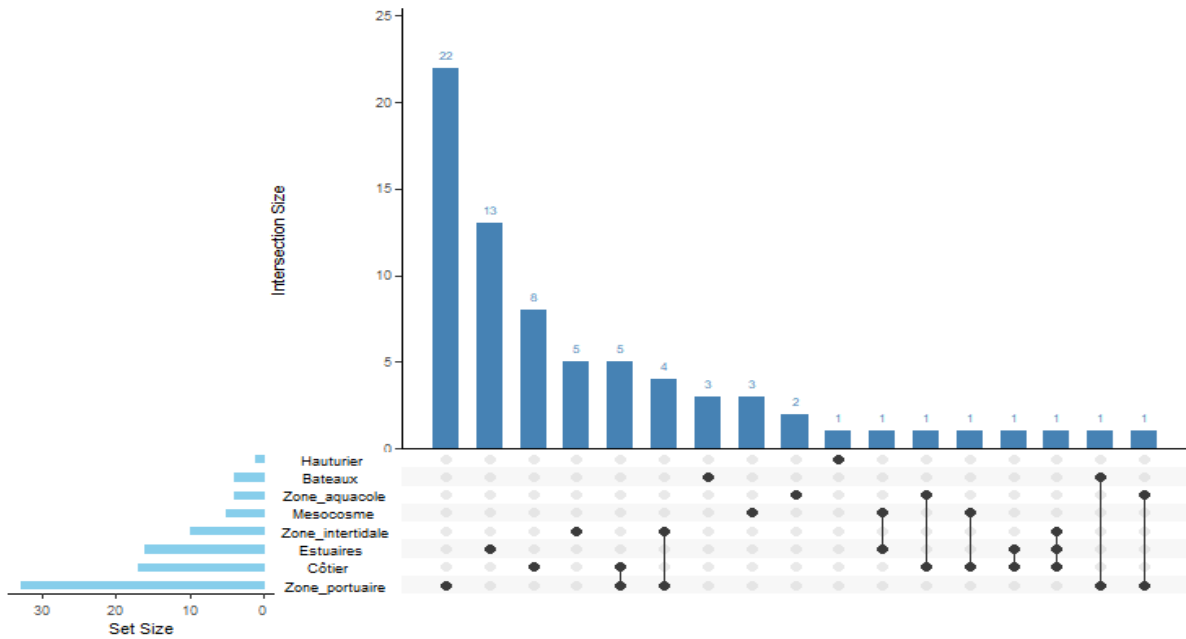


Figure 1.3. Diagramme « upset plot » des milieux étudiés dans les 73 articles analysés. L'histogramme à gauche indique le nombre d'articles pour chaque milieu ; l'histogramme principal indique le nombre par milieu ou combinaison de milieux (indiqué par les points noirs, ex. 5 articles étudient le milieu naturel côtier et les ports).

Comme pour les types d'habitats, on note un déséquilibre important concernant les groupes taxonomiques étudiés dans les 75 articles éligibles pour cette variable (les 6 autres étant par exemple des approches techniques) (Figure 1.4). En effet, sur l'ensemble des cibles biologiques, **26% d'entre elles sont des chordés** (dont 60% sont des poissons, les autres étant des ascidies), les autres phylums étant représentés dans moins de 8% des études. On note par ailleurs que dans 17% des études les groupes étudiés ne sont pas mentionnés et 15% « ciblent » les invertébrés d'une façon générale, ce qui reflète une propriété attendue des approches ADNe/ADNa non ciblée, à savoir leur caractère holistique.

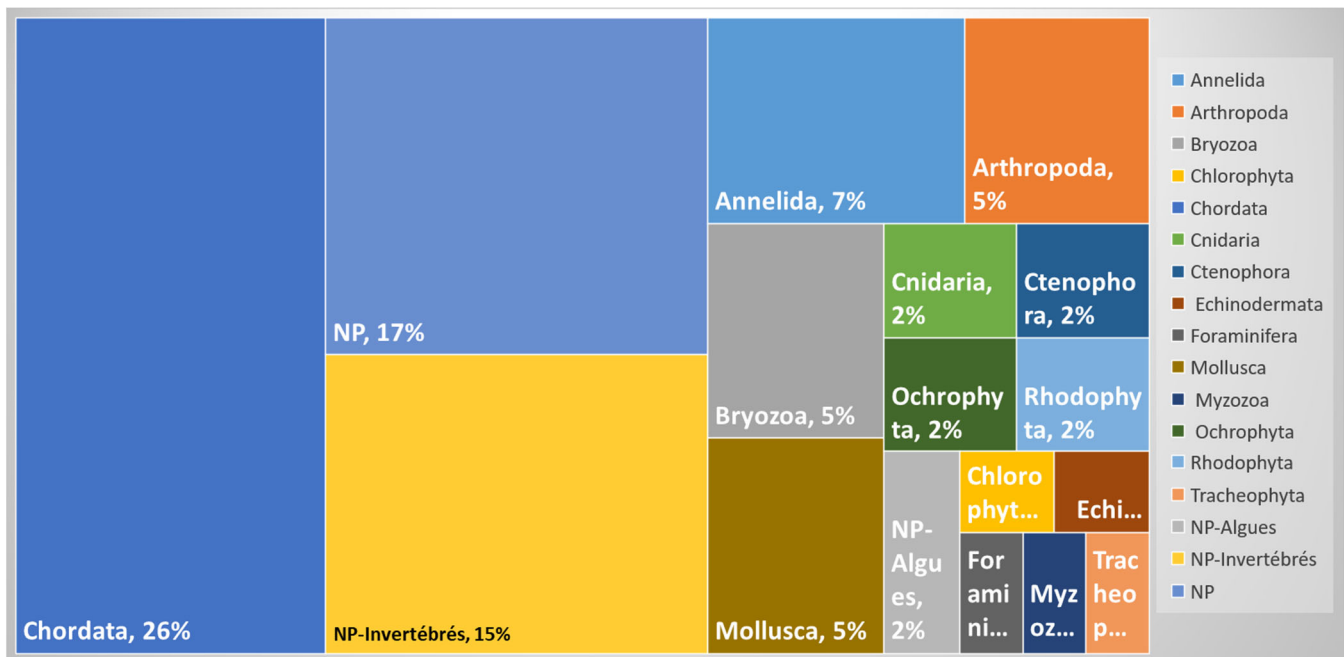


Figure 1.4. Distribution des phylums ou groupes biologiques ciblés dans les 81 articles. Certaines de ces études concernent plusieurs groupes. Les pourcentages indiqués sont ainsi calculés sur un total de 101 mentions. NP : non précisé. NP-Invertébrés et NP-Algues : non précisé au sein de ces catégories représentant plusieurs phylums.

Un total de 49 espèces est cité dans ces 73 articles comme des cibles privilégiées ou uniques de l'étude. Leur liste complète est donnée en [Annexe 3](#). On notera la grande diversité de ces espèces, appartenant à 14 phylum différents ([Figure 1.5](#)). Néanmoins, la plupart d'entre elles (38%) sont des chordés distribués sur deux classes : Ascidiacea (22%) et Teleostei (16%) ; en troisième position viennent les bivalves (10%) au sein du phylum Mollusca (12%). Ces chiffres reflètent bien les proportions des groupes taxonomiques auxquels appartiennent les ENI marines à l'échelle mondiale (Bailey et al., 2020). On remarquera également que seulement 5 espèces ont fait l'objet d'au moins deux articles ([Annexe 3](#)) : les ascidies *Ciona robusta*, *Didemnum vexillum* (4 articles) et *Styela clava*, le cténophore *Mnemiopsis leidyi* et l'annélide *Sabella spallanzanii* (5 articles). Ces cinq espèces sont très étudiées en biologie des invasions, notamment pour leurs introductions répétées dans de multiples pays et/ou parce qu'elles sont reconnues comme des EEE dans de nombreuses listes de référence.

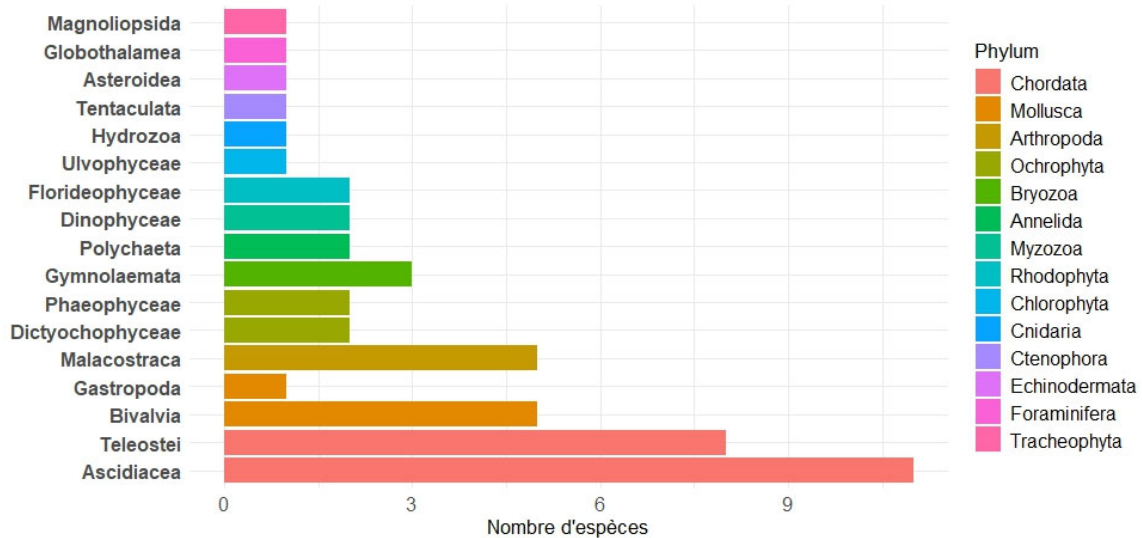


Figure 1.5. Nombre d'espèces ciblées dans les 73 articles analysés (liste des espèces en Annexe 3), ordonnées selon leur classe d'appartenance ; les couleurs font référence au phylum d'appartenance (légende : panel de droite).

1.4. Protocoles mis en œuvre

Type d'échantillons

Sur les 109 études (en distinguant approche ciblée et/ou non ciblée par article) pour lesquelles cette variable est applicable, l'eau est le substrat le plus utilisé ([Figure 1.6](#)) représentant 85% des types d'échantillons pour les approches ciblées et 58% pour les approches non ciblées.

Pour les approches non ciblées (metabarcoding), les sédiments représentent 17% des types d'échantillons, le grattage de supports 14% et les prélèvements au filet 11%. Ces trois types sont très minoritairement utilisés dans le cas d'approches ciblées (représentant respectivement 8%, 3% et 3%).

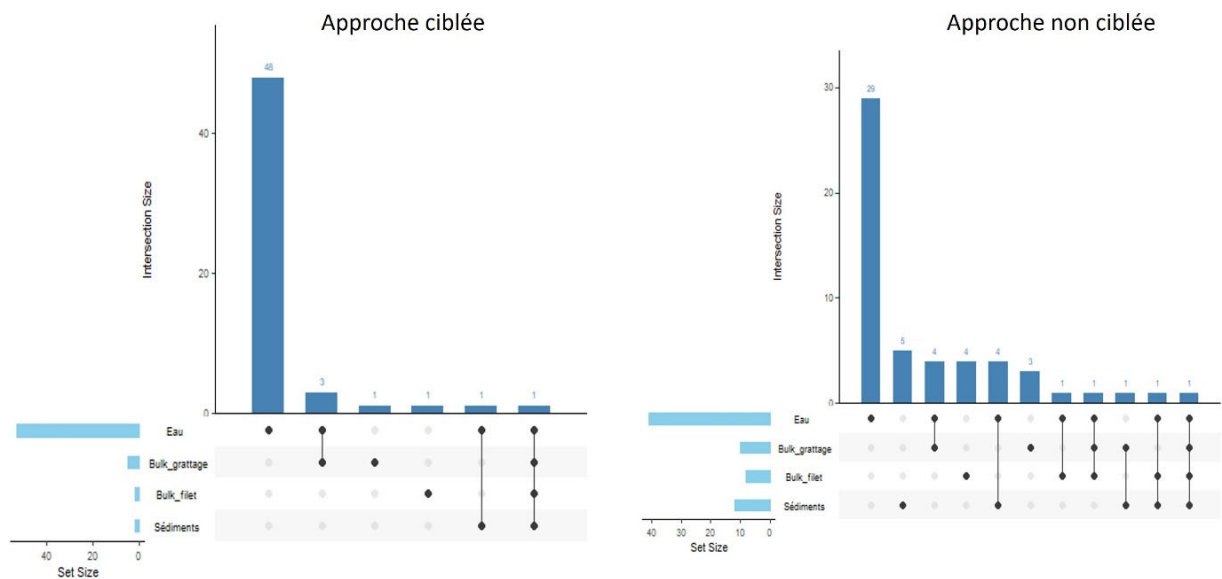


Figure 1.6. Distribution des types d'échantillons utilisés avec les approches ciblées (à gauche) et non ciblées (à droite). Quelques études utilisent plusieurs types d'échantillons (combinaisons indiquées par les points noirs). Pour rappel, les échantillons d'eau et de sédiments correspondent à l'ADNe et les échantillons Bulk grattage et Bulk filet à l'ADNa.

L'eau étant le substrat le plus utilisé en vue des extractions d'ADN, nous avons examiné plus en détail les modalités de son échantillonnage. Pour les approches ciblées, la gamme est extrêmement large (de 0,001 à 150L). Sans les valeurs extrêmes (éliminées selon la règle de Tukey), la moyenne est de 1,3 L (Figure 1.7). Pour les approches non ciblées, le volume utilisé est généralement de 1 L sur une gamme s'étalant de 0,2 L à 60 L par prise (réplica). Sans les valeurs extrêmes, la moyenne des prélèvements est de 1,1 L donc similaire à celle pour les approches ciblées (Figure 1.7). Le nombre de réplica est en moyenne de 3 (médiane à 3) pour les approches non ciblées et légèrement inférieure pour les approches ciblées, en moyenne 2.7 réplica (médiane à 2).

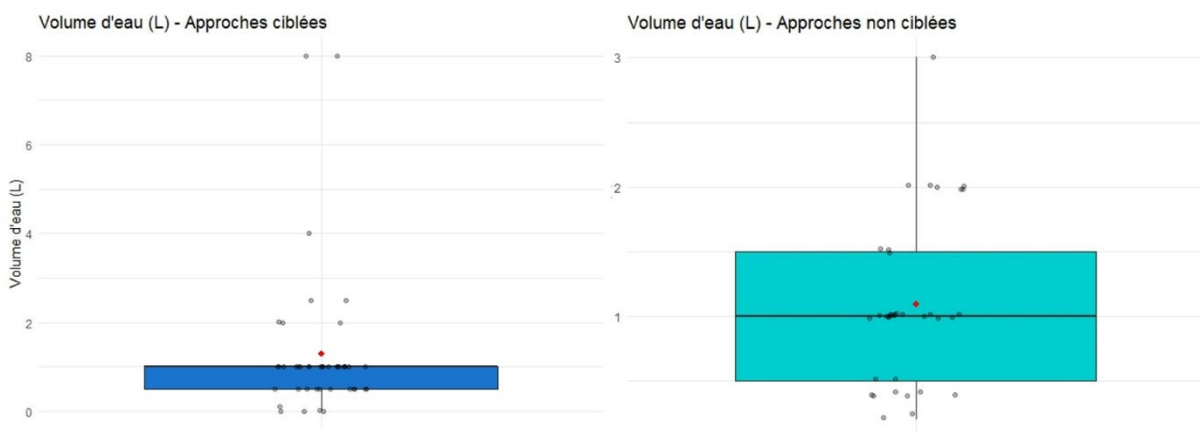


Figure 1.7. Boîte à moustache présentant les distributions, médianes (trait noir) et moyenne (point rouge) des volumes d'eau utilisés dans les études analysées, selon les types d'approches.

Techniques moléculaires

Comme indiqué plus haut, 70% des articles ont mis en œuvre une approche de metabarcoding, qui, à l'exception d'un article utilisant de l'ARN, est toujours réalisé avec de l'ADN. Parmi les 30% d'articles utilisant des approches ciblées, des techniques très variées sont en revanche mises en œuvre. Certaines sont conventionnelles, telles que la PCR classique ou la PCR quantitative, alors que d'autres

sont plus récentes, telles que la PCR digitale ou les techniques de PCR réalisées sur le terrain (ex. PCR isotherme). Ainsi, en considérant des catégories plus fines, nous obtenons 119 entrées (61 concernant des articles utilisant le metabarcoding et 58 concernant une des techniques dites ciblées). La *figure 1.8* présente le nombre de fois qu'une ou l'autre de ces techniques a été utilisée seule ou en combinaison. On notera que la technique la plus utilisée, celle du metabarcoding est le plus souvent utilisée seule (48 entrées). La PCR quantitative est également très utilisée (38 entrées dont 36 où elle est la seule technique utilisée dans l'article).

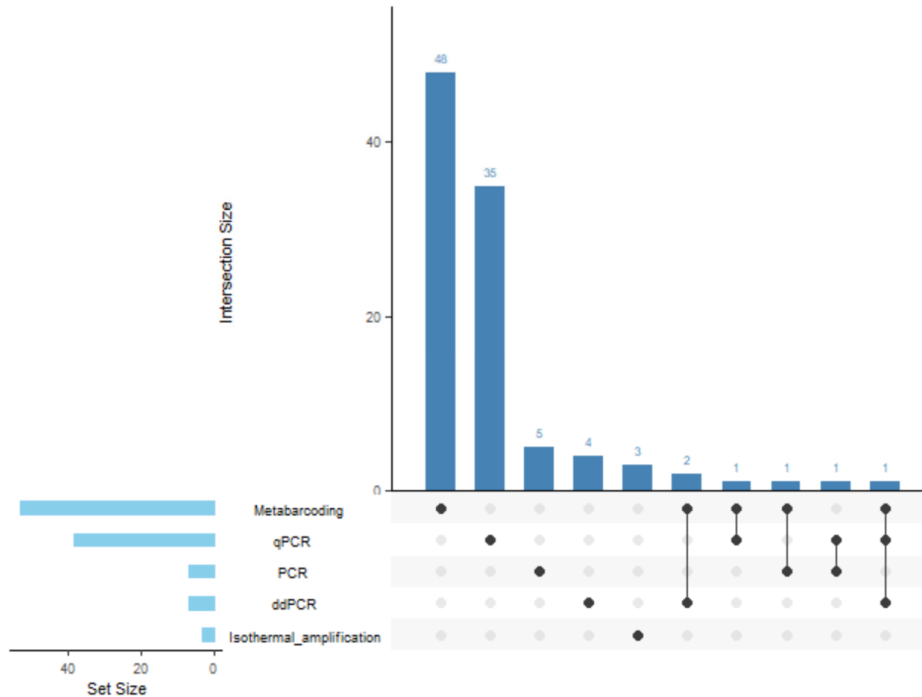


Figure 1.8. Présentation des techniques mises en œuvre. Le nombre de fois qu'une technique est utilisée seule ou en combinaison (ronds noirs) est indiqué dans l'histogramme principal.

Les gènes ciblés sont relativement diversifiés, avec 13 régions différentes citées dans les articles. Néanmoins, sur les 134 mentions de régions génomiques analysées dans les articles, deux marqueurs dominent : la région mitochondriale du cytochrome oxydase I (COI), qui représente 56% des mentions et la région nucléaire 18S rRNA qui en représente 18%. Le marqueur mitochondrial 12S rRNA, utilisé en particulier pour les études de poissons téléostéens est cité dans 8% des cas et la région 16S rRNA mitochondriale dans 6% des cas. Toutes les autres régions génomiques sont citées dans moins de 5% des cas.

Une étape importante de ces approches utilisant l'ADNe/ADNa est le choix des amorces et sondes utilisées pour cibler la région d'intérêt. Les différences entre les deux approches sont alors très marquées. En effet, le développement d'amorces dans le cadre de l'étude est réalisé dans 70% des cas pour les approches ciblées mais quasiment jamais pour le metabarcoding (*Figure 1.9*).

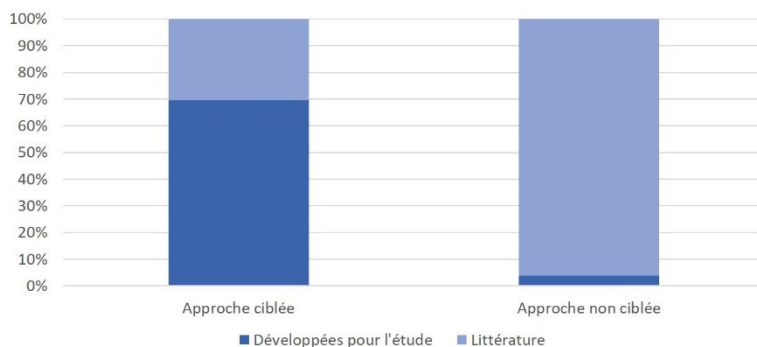


Figure 1.9. Proportion d'études faisant des développements d'amorces spécifiquement pour l'étude ou utilisant des amorces issues de la littérature.

Dans le cas de développement d'amorces spécifiques (39 études), toutes ont utilisé des données issues de la plateforme Genbank (NCBI) pour dessiner leurs amorces, et dans 9 cas, en parallèle la plateforme BOLD. A noter que la totalité de ces 39 études ont utilisé un contrôle positif (ADN de l'espèce cible) et 95% ont utilisé des contrôles négatifs (ADN d'espèces proches) pour valider la spécificité des amorces. Concernant les amorces issues de la littérature et les deux gènes les plus étudiés (COI et 18S) : 1) pour la région mitochondriale COI, les amorces publiées par Leray et al. (2013) représentent 56% des citations ; les autres en représentant moins de 10% chacune ; à noter que ces résultats ne sont pas surprenants, cet article étant cité, en mars 2025, 1034 fois dans Web Of Science Core Collection (WOSCC) ; 2) pour la région 18S, 54% des citations concernent Zhan et al. (2013) (cité 219 fois dans WOSCC) alors que les 13 autres sources bibliographiques citées représentent moins de 10% des citations.

Bases de référence utilisées pour les assignations taxonomiques (approches non ciblées)

L'approche non ciblée de metabarcoding permet d'obtenir, après la phase de séquençage haut-débit, un ensemble de séquences (plusieurs dizaines ou centaines de milliers par ADN analysé) qui sont traitées pour obtenir des séquences uniques (ASV : *Amplicon Sequence Variant*, utilisé dans 44% des études) ou des OTUs (*Operational Taxonomic Unit* ; résultat du regroupement des séquences uniques en un groupe censé représenter une unique taxon voire une espèce, utilisés dans 55% des études). A ce stade, comme évoqué plus haut (*Encadré 1.1*), une étape cruciale à réaliser est l'étape d'assignation taxonomique qui permet d'associer un nom de taxon, et idéalement d'espèce, à un ASV ou à un OTU (selon les pipelines bio-informatiques utilisés). Cette étape est d'autant plus décisive dans le cas de la recherche d'ENI car deux risques d'erreurs sont possibles liés aux faux-positifs (i.e., des espèces identifiées par l'assignation taxonomique mais qui sont mal identifiées et non présentes réellement sur le terrain) et, plus grave dans le contexte des ENI, des faux-négatifs (i.e., des espèces réellement présentes ne sont pas déterminées car les séquences ont été associées à un mauvais nom d'espèce, par exemple une espèce native de la zone d'étude) (voir des exemples et une discussion dans Couton et al. (2022)). Il existe de nombreuses raisons pour obtenir ces faux-positifs et faux-négatifs mais deux des plus importantes sont : 1) l'absence de données de séquence dans les bases de référence pour l'ENI réellement présente et une similitude trop grande de sa séquence diagnostique (barcode) avec celle d'une espèce native, et 2) des erreurs dans les bases de données qui sont nombreuses et se traduisent par l'association entre le nom d'une ENI et une séquence qui n'est pas celle de l'ENI ciblée (voir un exemple avec les espèces du genre *Botrylloides* en Europe dans Viard et al. (2019)). Pour s'en prévenir, plusieurs options sont possibles : un examen attentif des résultats de l'assignation, des analyses des « barcoding gaps » (i.e., indiquant une différence entre les distances génétiques intra- et inter-spécifique) pour les ENI identifiées, une curation manuelle de la base de référence à partir des connaissances d'experts en taxonomie moléculaire, ou encore la création de sa propre base de référence.

Dans ce contexte, il est remarquable de constater que seules 2% des bases de données utilisées ont été créées *de novo* pour l'étude et 24% ont été l'objet de curation ou modifiées (par exemple ajouts de séquences de référence créées pour l'étude) (*Figure 1.11*). La moitié des études se basent sur l'interrogation des bases de données généralistes Genbank (NCBI) et BOLD (qui bien que dédiée au barcoding intègre les résultats de Genbank). Genbank est aussi utilisé communément en combinaison avec d'autres bases de données. De façon plus marginale, d'autres bases de données sont utilisées notamment des bases dédiées à des marqueurs et groupes particuliers (ex. MitoFish pour les données mitochondriales des poissons (Sato, Miya, Fukunaga, Sado, & Iwasaki, 2018), MIDORI pour les données mitochondriales des Eucaryotes (Leray, Knowlton, & Machida, 2022)).

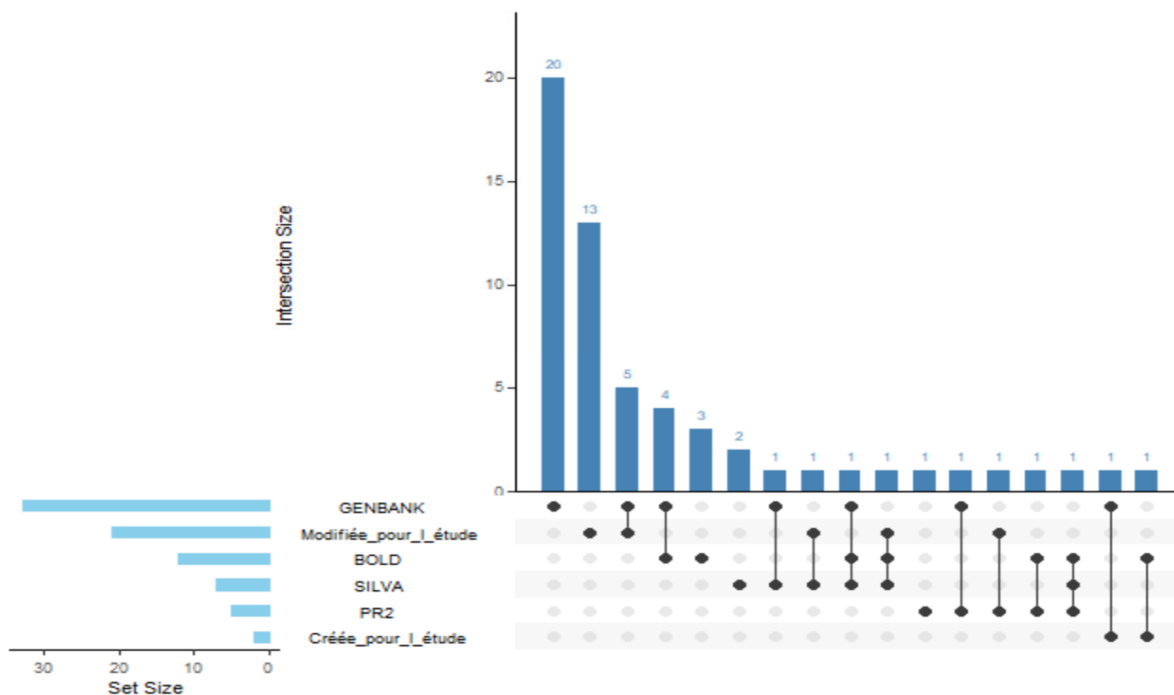


Figure I.11. Diagramme de type « upset plot » présentant la distribution des 89 mentions de bases de données utilisées pour réaliser les assignations taxonomiques dans les articles de metabarcoding. Le nombre de mention unique ou en combinaison (ronds noirs) est indiqué dans l'histogramme principal.

Prestations

Des prestations sont réalisées aux différentes étapes de l'obtention des données (Figure I.10), et pour les deux types d'approches, à l'exception des traitements bio-informatiques qui comme attendu sont absents des études utilisant des approches ciblées. En effet ces dernières ne nécessitent pas de traitements bio-informatiques suite à l'obtention des résultats permettant d'identifier la présence de l'espèce ciblées, qui sont réalisés par un prestataire. Elles en nécessitent en revanche lors de la phase de mise au point de la technique (ex. pour le choix des sondes) en amont de la prestation.

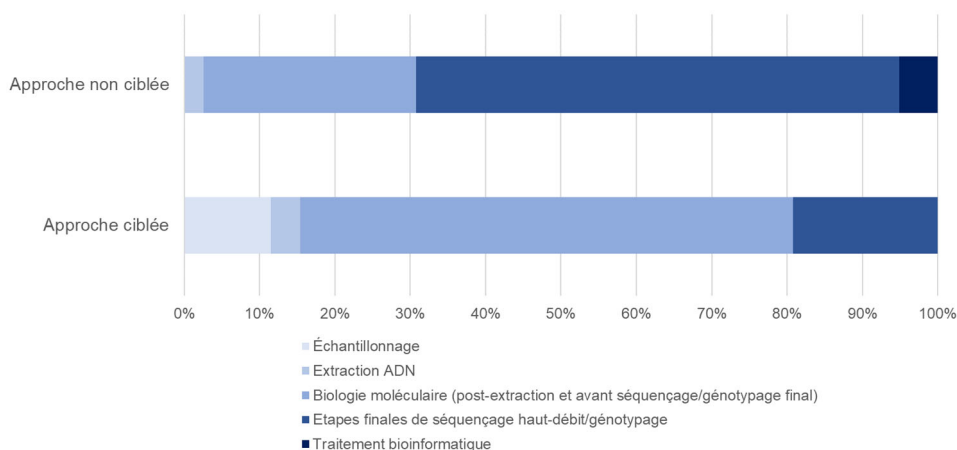


Figure I.10. Distribution (%) des différents types de prestations mentionnées dans la section « Materials & Methods ». Ces pourcentages ont été calculés sur un total de respectivement de 39 et 26 entrées extraites des articles analysés pour les approches non ciblées et ciblées.

La part la plus importante des prestations de service concerne les étapes de biologie moléculaire post-extraction d'ADN, et en particulier pour le séquençage haut-débit pour les approches de metabarcoding ; ce résultat fait sens dans la mesure où les nombreuses sociétés privées ou plateformes proposant ces services permettent aux chercheurs de bénéficier des séquenceurs les plus à la pointe

(et qui ont une production très élevée de bases séquencées donc assurant une très bonne couverture de séquençage par échantillon d'ADN). A noter que 94% des études ont été réalisées sur un séquenceur de type Illumina (88% sur un séquenceur de type MiSeq ; les 12% restant se partageant équitablement entre Hiseq et Novaseq). Les alternatives citées sont les séquenceurs Ion-Torrent mais avec seulement 2 mentions (3%).

1.5. Résultats obtenus (identification des ENI)

Nouvelles ENI identifiées

Parmi les 81 articles examinés, seuls trois articles font explicitement mention d'ENI nouvellement identifiées. Il s'agit d'une approche par metabarcoding dans les trois cas. Quelques informations sur ces signalements sont données dans le [tableau 1.2](#). Aucune de ces espèces n'a fait l'objet d'une validation par identification morphologique. Il faut remarquer que de nouvelles ENI potentielles sont très fréquemment identifiées dans les études de metabarcoding mais le plus souvent notées comme « potentielles » ou « incertaines ». Par exemple, Couton et al. (2022) ont identifié initialement 18 espèces non attendues et potentiellement ENI dans la région d'étude mais en utilisant une approche conservative, une seule a été proposée comme une potentielle nouvelle ENI. Il est néanmoins important de rappeler ici que ces approches ADNe/ADNa ont pour vocation à servir de système d'alerte et peuvent là être très efficaces (i.e., il vaut mieux invalider une observation que laisser s'installer une nouvelle ENI).

Tableau 1. 2. ENI proposées comme nouvelles à l'échelle d'un pays, d'un bassin ou d'une région

Classe	Espèce	Lieu d'étude	Commentaire	Source (référence en Annexe 1)
Bivalvia	<i>Mytilus edulis</i>	Polynésie Française	Première signalisation à Tahiti et Moorea	(Ardura, Fernandez, Haguenaer, Planes, & Garcia-Vazquez, 2021)
Bivalvia	<i>Mytilus trossulus</i>	Polynésie Française	Première signalisation à Tahiti et Moorea. Validée par barcoding	(Ardura et al., 2021)
Bivalvia	<i>Dendostrea frons</i>	Polynésie Française	Déjà trouvée à Papetee en 2013 mais uniquement sur la coque de bateaux (donc non ENI selon la définition) – ici sur le substrat donc ENI. Validée par barcoding	(Ardura et al., 2021)
Copepoda	<i>Oithona davisae</i>	Cheaspeake Bay	Première observation sur la côte Ouest Atlantique – Mais ADNe issu d'eaux de ballast (donc non formellement classifiable à une ENI). Pas de validation par une autre approche mais forte confiance dans cette assignation indiquée par les auteurs	(Rey et al., 2019)

Identification d'ENI déjà connues

Un des avantages des méthodes de mebarcoding est de pouvoir analyser un très grand nombre d'échantillons et donc d'exercer une importante pression d'observation dans le temps et/ou dans l'espace. L'Annexe 3 présente une liste d'études et d'ENI qui ont été identifiées par metabarcoding dans le lieu d'étude, où elles n'avaient encore jamais été répertoriées. Il est important de noter que cette liste ne comporte que les identifications qui ont été validées par une autre approche directe, soit par une identification morphologique sur le terrain ou au laboratoire, soit par une approche ciblée. Cette liste comprend 84 espèces, appartenant à 21 classes différentes, pour lesquelles l'approche par metabarcoding est valide avec le protocole retenu dans ces études. Sur l'ensemble des études par metabarcoding, de telles validations sont rares (Figure I.12).

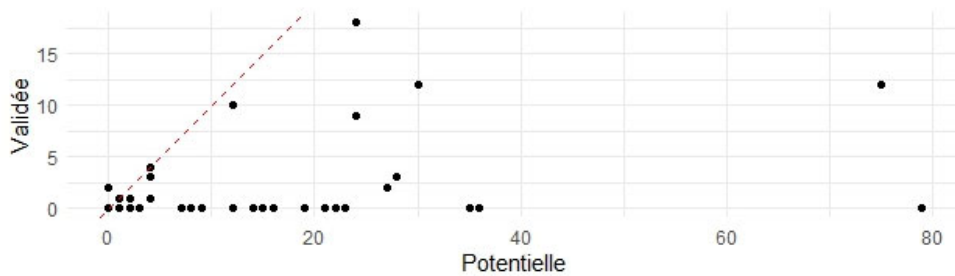


Figure I.12. Graphique indiquant le nombre d'ENI détectées par metabarcoding (appelées ENI potentielles sur l'axe des X) et le nombre d'ENI validées par une autre approche ou connues sur le lieu de l'étude (appelées ENI validées sur l'axe des Y). La courbe en pointillé rouge est la droite $y=x$. Les points proches ou sur cette courbe indiquent que les ENI potentielles sont validées. On notera un point au-dessus de la courbe correspondant à des ENI connues sur le lieu d'étude mais non détectées.

1.6. Avantages et Limites

Les articles analysés discutent pour la plupart des avantages des approches mises en œuvre. Celles-ci ont été catégorisées selon les labels indiqués dans la figure I.13. Concernant les approches ciblées (les avantages sont discutés dans 22 articles dédiés à ces approches), **l'avantage principal retenu par les auteurs est celui de la valeur ajoutée par rapport aux méthodes traditionnelles (29%) et immédiatement derrière celui de la sensibilité et de la spécificité de la méthode (25% des mentions)**, ce qui est le but recherché avec ce type d'approche. D'ailleurs, cet avantage n'est pas du tout mis en avant dans les articles ayant mis en œuvre du metabarcoding (1% des avantages listés dans 38 articles), et ceci sera éclairé par les limites discutés dans ces articles dans le paragraphe suivant. En revanche, comme pour les approches ciblées, **la valeur ajoutée par rapport aux méthodes traditionnelles est retenue comme un net avantage (40% des mentions), juste devant le grand nombre d'espèces détectées par cette méthode (19%) et la capacité à détecter des espèces non observables ou difficilement observables sur le terrain y compris à plusieurs stades de leur cycle de vie (20%)**. La facilité de mise en œuvre n'est retenue que dans 6 % des cas pour le metabarcoding. Ainsi, approches ciblées et non ciblées semblent largement complémentaires.

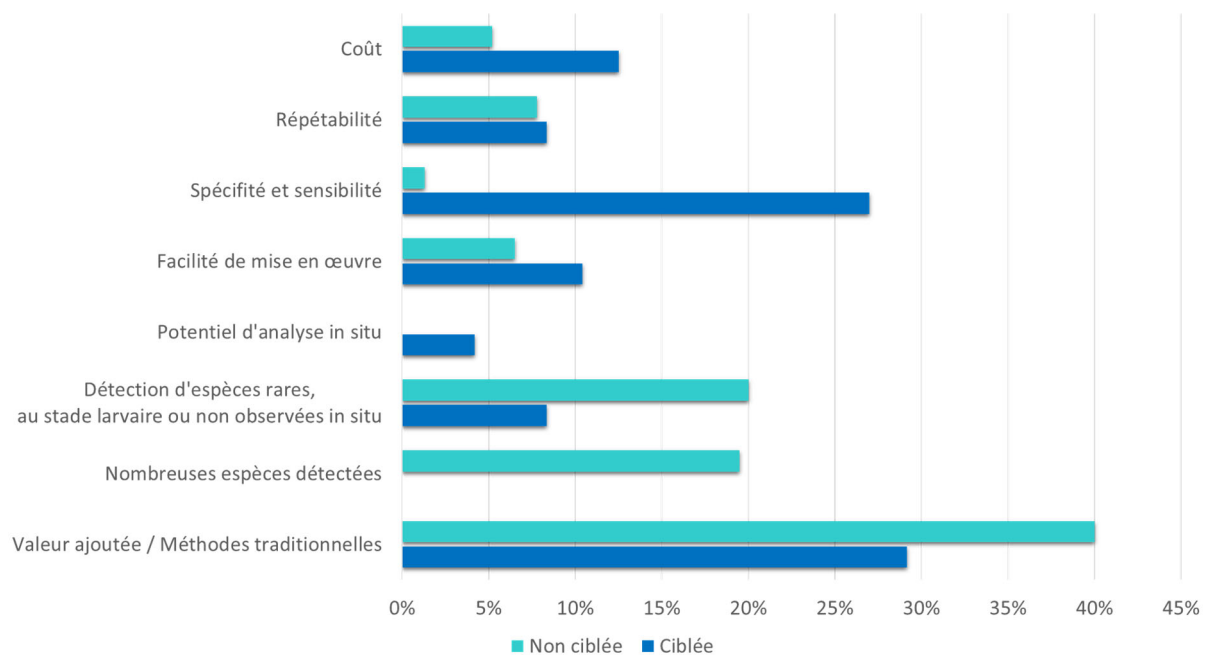


Figure I.13. Avantages indiqués par les auteurs des approches ciblées et non ciblées d'après les résultats obtenus.

En parallèle de ces avantages, les auteurs pointent aussi du doigt des limites, à quelques exceptions près (4 sur 24 articles reposant sur une approche ciblée et 7 sur 50 articles reposant sur une approche non ciblée n'en discutent pas). Comme pour les avantages, les limites soulevées par les auteurs ont été catégorisées (*Figure I.13*). Les 20 articles présentant les limites des approches ciblées soulignent dans la majorité des cas (53%) des problèmes relatifs à l'ADNe lui-même, notamment des incertitudes quant à sa vitesse de dégradation ou sa dispersion dans l'environnement. Les auteurs se questionnent aussi quant au seuil de détection possible dans 26% des cas. Il est normal que les questionnements relatifs aux bases de données ou à la résolution taxonomique, qui représentent à eux deux la majorité des limites soulignées par les auteurs d'études par metabarcoding (respectivement 31% et 24%), soient moins présents dans les articles d'approches ciblées. En effet, la spécificité et le pouvoir diagnostique des marqueurs est faite lors de la phase d'optimisation et en amont du protocole d'obtention des données. Comparativement aux approches ciblées, les problématiques relatives au comportement et à la durée de vie de l'ADNe sont moins apparentes dans le cas de metabarcoding (représentées dans seulement 10% des articles), alors que ces problématiques sont théoriquement de même importance que pour une approche ciblée. Aucun des articles ne s'expriment sur la difficulté potentielle de mise en œuvre de ces approches.

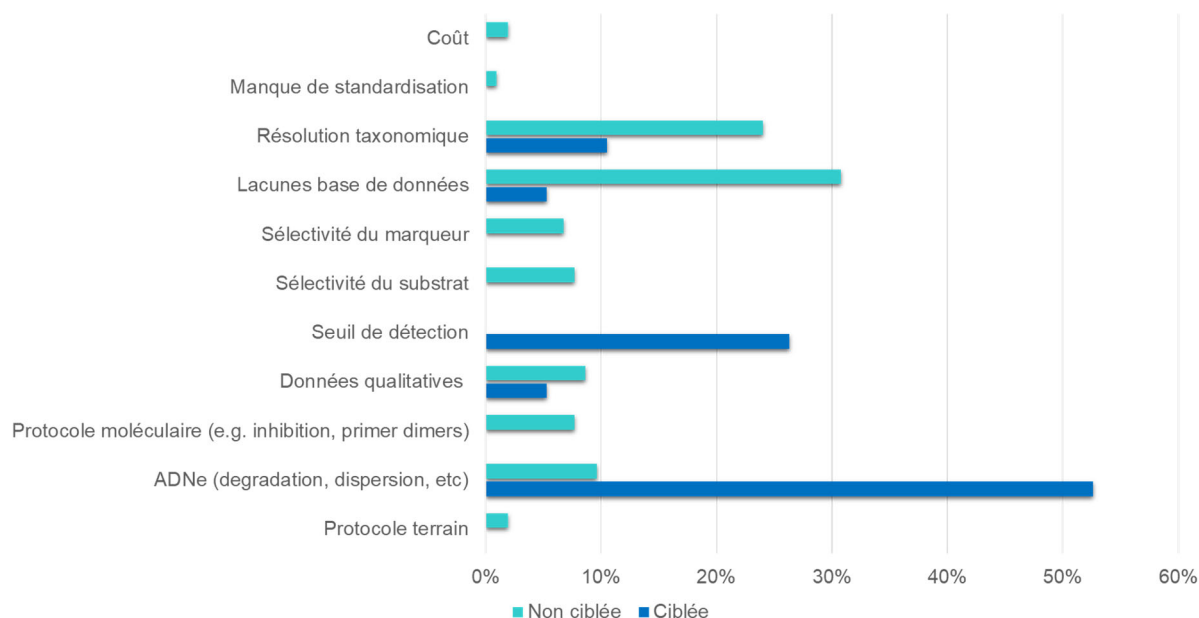


Figure I.13. Limites indiquées par les auteurs des approches ciblées et non ciblées d'après les résultats obtenus.

1.7. Messages clés issus de la synthèse bibliographique

La recherche bibliographique qui a été menée à partir des études utilisant l'ADN environnemental ou l'ADN d'assemblages dans le but d'identifier ou étudier des espèces non-indigènes a permis d'identifier 81 articles sur la période 2019-mi 2024, avec une majorité d'articles utilisant une approche par metabarcoding seule (N=50) ou en parallèle d'une approche ciblée (N=7). Le reste (N=24) sont des articles mettant en œuvre une approche ciblée seule (N=24), avec diverses techniques (mais essentiellement par PCR quantitative). Quelques messages clés peuvent être dégagés à ce stade :

- **La plupart de ces études se placent dans un objectif de recherche et de gestion des ENI.**
- **L'analyse des articles révèle un certain nombre de lacunes de connaissance.** Les études s'intéressent en premier lieu aux zones portuaires (N=33 articles). Les habitats naturels côtiers sont comparativement moins étudiés, et rares sont les études qui les analysent de concert. Cette lacune de connaissance pourrait à la fois affecter la transposabilité des protocoles et donc leur robustesse s'ils étaient utilisés en milieu naturel. Elle questionne

aussi sur les données permettant à ce jour de documenter la propagation des ENI depuis les zones d'introduction (et en particulier les ports) vers les milieux naturels, ce qui est un objectif des critères C2 et C3 de la DCSMM. Un autre biais de connaissance concerne les cibles biologiques car certains groupes dominent nettement : les Chordés (26% du total des cibles biologiques) dont les ascidies et les autres invertébrés (42%). Ce sont également dans ces groupes que se trouvent les espèces qui sont ciblées (38% des espèces nommées sont des chordés). Comparativement les algues sont très peu représentées (moins de 10%) que ce soit en tant que cible des approches ciblées ou par metabarcoding, et alors que de nombreuses algues invasives sont reconnues à l'échelle mondiale, et que l'une d'entre elles, *Rugulopteryx okamurae* fait partie de la liste des EEE préoccupantes de l'Union Européenne ([EU 2022/1203 of 12 July 2022](#)).

- **Le substrat le plus utilisé dans les approches ciblées comme non ciblées est l'eau** du milieu (85% des types d'échantillons analysés). C'est un constat intéressant en regard de certains des articles lus qui soulignent que les études gagnent en robustesse et précision par la complémentarité des substrats analysés.
- **La standardisation reste un enjeu majeur, même si non identifiée comme une limite par les auteurs des articles.** En effet, à l'exception du substrat utilisé (cf. point précédent), l'analyse des protocoles décrits dans les 81 articles met en avant une très grande hétérogénéité des pratiques à pratiquement tous les niveaux : sur le terrain, en ce qui concerne les volumes d'eau, les filtres et modalités de conservation (données non montrées), les protocoles d'obtention des données moléculaires (amorces, sondes diversifiées), à l'exception des données de metabarcoding essentiellement obtenues avec le marqueur COI (56% des études) en utilisant les amorces décrites dans Leray et al. (2013) (56%) mais aussi leur traitement (ex. ASV vs. OTUs, outils bio-informatiques – données non montrées).
- **Concernant les approches par metabarcoding, alors qu'une étape cruciale concerne l'assignation taxonomique des séquences obtenues, la plupart des études utilisent des bases de référence publiques pour l'assignation,** au premier rang GenBank, sans curation particulière. Seules 26 % des études mentionnent des bases de données créées *de novo* ou modifiées (curation, ajout de références) à partir de requêtes dans des bases de données publiques. Ce résultat est intéressant en regard d'une des limites des approches par metabarcoding par les auteurs, à savoir les lacunes dans les bases de référence (évoqués dans 31% des cas) et les problèmes de résolution taxonomique (24%).
- **Les approches ciblées comme non ciblées détectent de nombreuses ENI avérées ou putatives.** C'est un des avantages les plus mis en avant dans les articles utilisant les approches par metabarcoding. De plus, pour 84 ENI identifiées dans les articles étudiés, leur identification par metabarcoding a été validée par d'autres approches. La valeur ajoutée des approches ciblées et non ciblées par rapport aux approches traditionnelles est le point positif le plus souvent pointé par les auteurs (respectivement 24% et 40% pour les deux types d'approche).

Volet 2. Enquête à l'échelle nationale

Dans ce second volet sont présentés les résultats d'une enquête conduite auprès des acteurs académiques et non académiques, utilisant ou intéressés par l'utilisation des outils basés sur l'utilisation d'ADNe/ADNa dans le cadre d'études des ENI. Cette enquête a été menée sur la base d'un formulaire préparé avec comme principaux objectifs de :

- 1) comprendre les difficultés et les attentes selon le type de structure/profil du répondant,
- 2) analyser ce qui est réalisé ou souhaité selon le type de structure

Les réponses étaient anonymes mais des éléments de profil du répondant ont été demandés, en particulier pour déterminer leur structure d'appartenance puisque cette enquête cherchait à cibler le monde académique comme le monde non-académique (parties prenantes telles que les administrations, les gestionnaires d'espaces naturels, les bureaux d'étude etc.).

Le formulaire, présenté dans l'*Annexe 5*, a été structuré en blocs (*Figure II.1*) qui devaient être renseignés en fonction du profil du répondant selon

- 1) s'il avait déjà ou pas utilisé de l'ADNe/ADNa au sujet d'ENI et

- 2) le type d'approche mise en œuvre (cf. *Volet 1 - Encadré I.1*); cette dernière était catégorisée en i) approches « non ciblées », définies par l'utilisation d'ADNe/ADNa sans ciblage a priori d'une ou quelques espèces ; le metabarcoding est dans cette catégorie et en ii) approches « ciblées » ici définies par l'utilisation d'ADNe/ADNa pour rechercher une ou quelques espèces définies a priori ; on trouve dans ces approches les techniques de digital PCR ou de PCR quantitative.

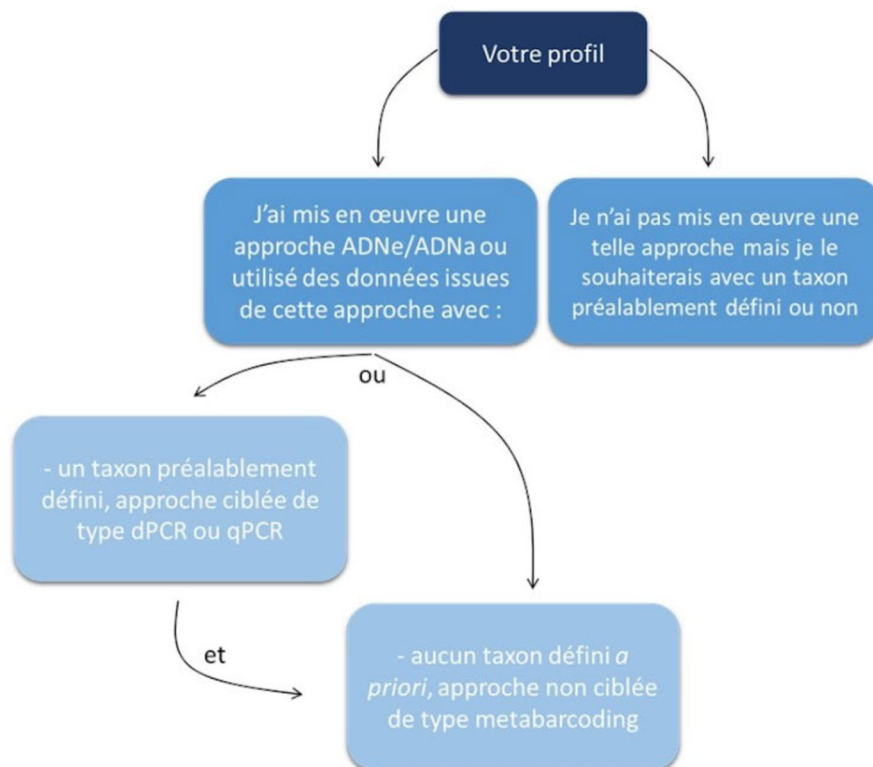


Figure II.1. Présentation de la structure (blocs) constituant le formulaire d'enquête

Le formulaire a été envoyé par email, par les coordinateurs, en utilisant différents canaux de diffusion et en demandant aux destinataires de l'envoyer aux personnes potentiellement concernées. A titre d'exemples, le formulaire a été envoyé à la liste des experts consultés par le pilote pour le descripteur 2 de la DCSMM mais aussi à des listes permettant d'atteindre le réseau des aires protégées, le réseau des observatoires marins, des structures d'appui aux politiques publiques (OFB) ainsi qu'au Réseau Scientifique et Technique du centre de ressources espèces exotiques envahissantes. Le premier envoi a été réalisé le 27 février 2024 suivi de deux relances fin mars et fin juin.

Arrêtée à la date du 11 juillet 2024, l'enquête a obtenu un retour de 50 répondants dont l'un avec insuffisamment de réponses pour être prise en compte. L'analyse a donc été menée sur 49 formulaires. A noter que 5 répondants se sont affiliés à plusieurs types de structure ; Leur formulaire a été alors répliqué pour les analyses concernant les réponses par type de structure, faisant un total de **55 grilles analysables**.

2.1. Typologie des répondants.

2.1.1. Distribution des répondants par type de structure.

La représentation des différents types de structure est déséquilibrée (*Figure II.2*), avec **78% (n=43) des réponses concernant une structure d'appui à la recherche (n=10) ou un laboratoire de recherche (n=33)**. Les catégories les moins représentées sont les structures chargées d'espaces naturels (5% ; n=3) et les bureaux d'études en environnement (4% ; n=2). Ce déséquilibre n'était pas attendu sachant l'effort de diffusion de ce questionnaire hors du monde académique, en utilisant des listes dédiées et en ciblant des « têtes de pont » pour des réseaux de suivi et surveillance au sein de l'OFB.

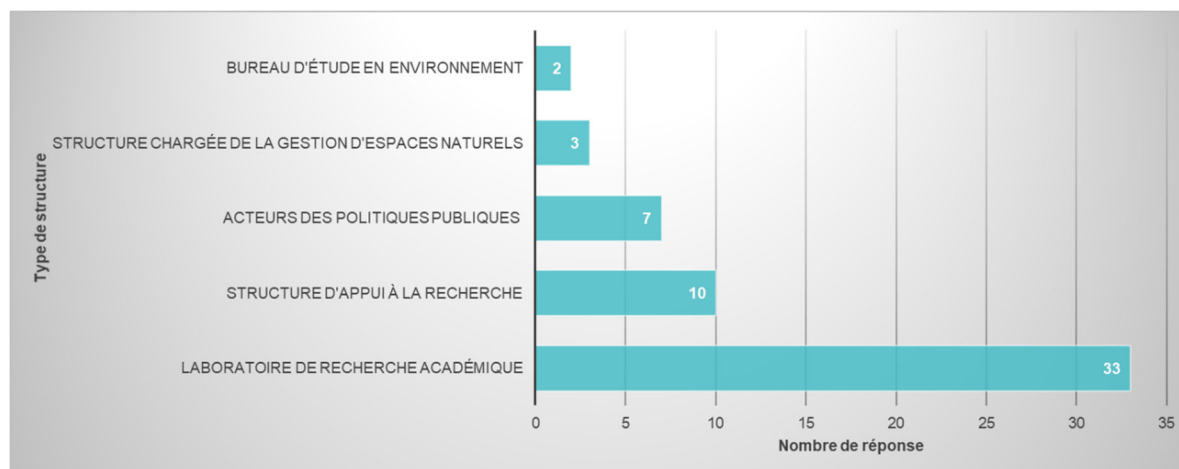


Figure II.2. Types de structure auxquels les répondants sont affiliés

La participation importante des laboratoires de recherche académiques suggère un intérêt prononcé pour les techniques ADN/ADNa à l'instar du développement des outils dits « -omiques » dans de nombreuses branches de la biologie et de l'écologie. On note par ailleurs que la moitié des réponses issues de laboratoires de recherche ont les ENI comme cible principale mais seulement un-tiers pour l'ensemble formé par les acteurs publics et bureau d'étude (*Figure II.3*). **Le faible retour des structures non académiques pourrait donc indiquer des priorités différentes,** par exemple parce que les ENI ne font pas ou peu partie des demandes faites auprès des bureaux d'études, ou que les ENI ne sont pas encore jugées prioritaires pour les structures chargées de la gestion d'espaces naturels ou les acteurs des politiques publiques en milieu marin. Ceci contraste néanmoins avec une étude récente, à l'échelle Européenne, montrant que le descripteur D2 est un des descripteurs faisant l'objet de plus de programmes de suivis par les gestionnaires d'aires marines protégées (Capurso, Carroll, & Stewart, 2023). Enfin, la très faible participation de certaines structures dont celles en charge de la gestion des milieux marins ou des politiques publiques souligne **un possible**

manque de connaissance sur les potentialités offertes par les approches ADNe/ADNa, et *in fine* la nécessité de mieux comprendre les barrières et mieux communiquer sur ce sujet. Là encore cela fait écho à l'étude de Capurso et al. (2023) soulignant que l'adéquation de l'ADNe/ADNa pour le descripteur D2 est le plus souvent jugé comme un outil seulement complémentaire.

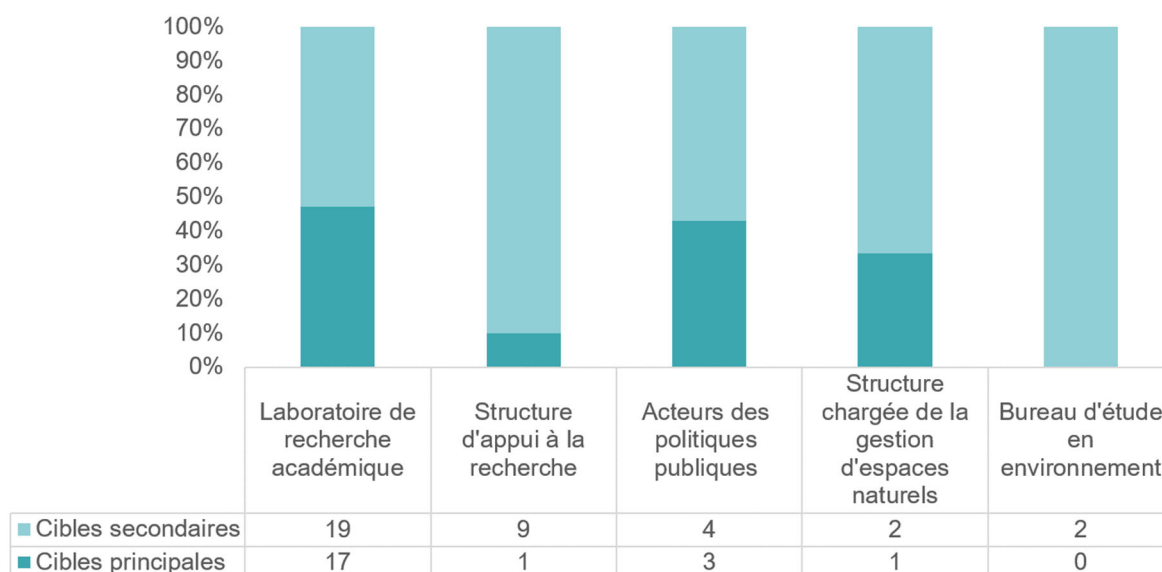


Figure II.3 : Parts des structures ayant les ENI comme cibles principales ou secondaires

2.1.2. Mise en œuvre des approches ADNe/ADNa par les répondants

Autant les structures ayant répondu sont déséquilibrées dans leur représentation, autant les répondants étaient équilibrés quant à leur expérience sur la mise en œuvre des approches ADNe/ADNa. Le questionnaire ne cherchait pas à cibler des acteurs ayant déjà une pratique autour de l'ADNe/ADNa. Au contraire, un des objectifs était aussi de comprendre ce qui limitait leur utilisation par des acteurs potentiellement intéressés. Aussi, de ce point de vue l'enquête est très satisfaisante puisque la distribution des réponses pour la question « **Avez-vous déjà mis en œuvre une approche ADNe/ADNa ou utilisé des données issues de ces approches ?** » est équilibrée avec **51% (n=26) des structures ayant répondu « Oui »**. Cet équilibre est observé chez les acteurs de la recherche (mise en œuvre : 49%) comme chez les acteurs non liés à la recherche (mise en œuvre : 58%).

Il est également intéressant de noter que cette utilisation d'ADNe/ADNa est plus importante lorsque les ENI sont des cibles principales, en particulier chez les répondants non académiques (mise en œuvre : 75%). Ce taux pourrait indiquer une plus grande confiance dans l'utilité pratique des approches ADNe/ADNa dans des contextes où l'identification rapide des ENI est importante. Pour les structures académiques, cela fait écho au déclin de l'expertise taxonomique. Pour les structures privées, cela permet aussi de réduire les coûts liés à la rémunération de taxonomistes spécialisés. Sur ce dernier point, il convient néanmoins d'être prudent dans les interprétations du fait du faible nombre de réponses analysables pour cette catégorie (n=12).

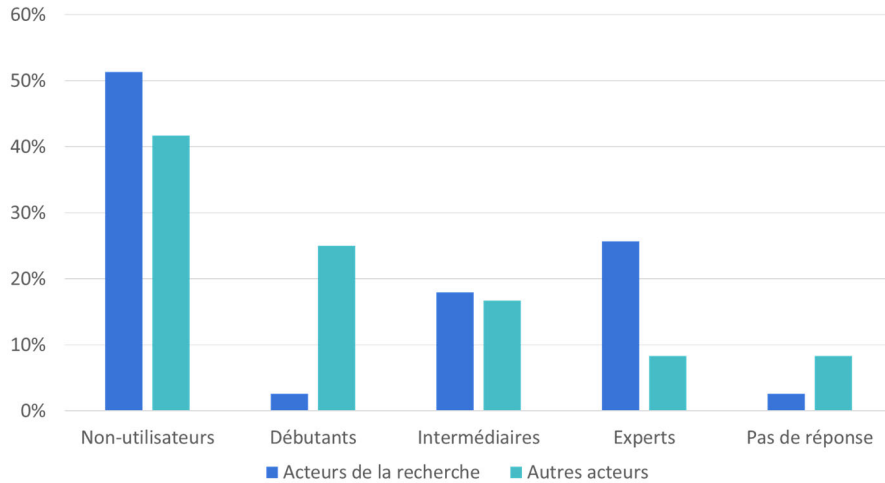


Figure II. 4 : Niveau d'expertise des répondants (auto-évaluation) concernant la mise en œuvre d'approches ADNe/ADNa concernant les ENI (en tant que cible primaire ou secondaire)

Les auto-évaluations des niveaux d'expérience par les répondants qui ont déjà mis en œuvre ces approches révèlent des niveaux intermédiaires ou experts très élevés pour la très grande majorité des acteurs de la recherche (89%) (Figure II.4), que les ENI soient ou non des cibles prioritaires, mais seulement de **43% pour les autres types d'acteurs, suggérant que l'appropriation de l'outil n'est pas encore aboutie hors du secteur de la recherche.**

2.1.3. Objectifs de la mise en œuvre

Concernant les objectifs de l'utilisation d'ADNe/ADNa, les réponses peuvent être regroupées en quatre catégories : médiation scientifique, surveillance réglementaire, suivi/observation, recherche. Au total, 96 réponses ont été enregistrées pour les 51 répondants à cette question. **Les activités de « suivi-observation » et de « recherche » sont très largement majoritaires (82%)** représentant chacune respectivement 42% et 40% des réponses, ce qui est **loin devant la surveillance réglementaire (12%) et la médiation scientifique (6%)**, et qui est en accord avec le profil des répondants (des acteurs de la recherche en grande majorité).

Les proportions relatives ces objectifs varient néanmoins selon les catégories de répondants (Figure II.5). Des contrastes sont en effet observés entre les acteurs de la recherche et les autres, concernant l'objectif d'un travail de recherche (43% et 29%, respectivement) mais aussi l'objectif de suivi-observation (39% et 52%, respectivement).

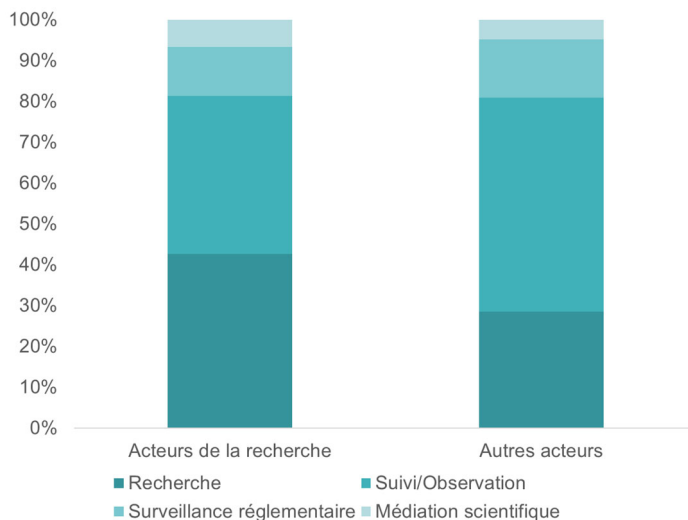


Figure II.5. Objectifs de l'utilisation d'approches basées sur ADNe/ADNa

La part relativement importante des actions de suivi-observation par les acteurs académiques est à rapprocher du fait que ces termes reflètent des objectifs variables : les suivis pouvant être réalisés à des fins de travaux de recherche (ex. étude des dynamiques de communautés à partir de séries de données temporelles) comme pour de la surveillance. En revanche, les deux types d'acteurs montrent des profils identiques pour la surveillance réglementaire et la médiation scientifique : une part faible.

2.1.4. Zones géographiques

La très grande majorité des réponses reçues concernent des structures réalisant des travaux sur les ENI le long des côtes métropolitaines (*Figure II.6*). Les trois grandes façades, Golfe de Gascogne, Manche (Est et Ouest) et Méditerranée sont relativement équitablement représentées, suggérant qu'il n'existe pas là de déséquilibre territorial en métropole. En revanche, les DROM-COM ne représentent que 12% des zones mentionnées par les répondants.

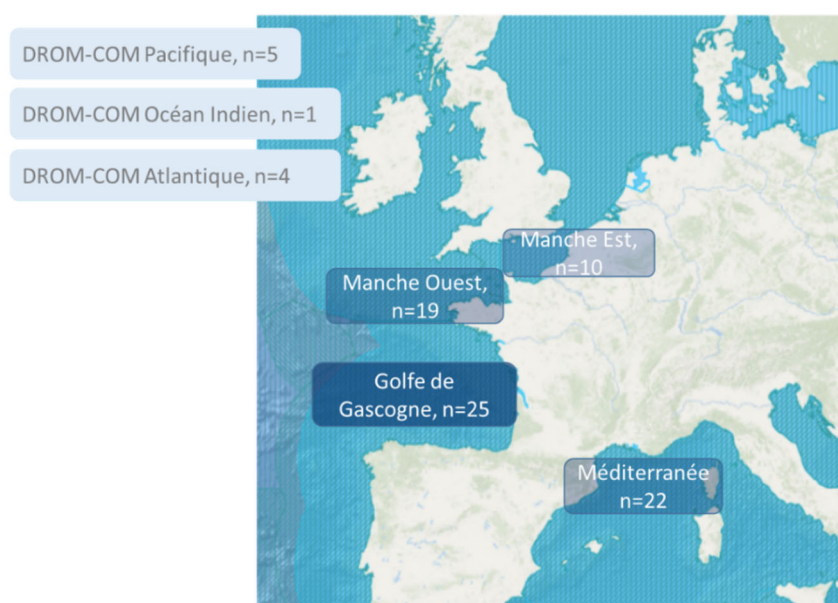


Figure II.6 : Distribution des zones de travail sur les ENI des répondants par façades métropolitaines et territoires d'outre-mer. Le total est supérieur au nombre de répondants car plusieurs travaillent sur différentes façades ou zones géographiques.

2.2. Répondants ayant déjà utilisé l'ADNe/ADNa

Concernant les répondants ayant déjà mis en œuvre ou ayant déjà utilisé des données issues de l'analyse d'ADNe/ADNa, nous cherchions à avoir un retour d'expérience de leur part : ce qu'ils font, ce qui est satisfaisant et ce qui est à améliorer dans l'objectif de suivre/identifier des ENI.

Sur les 26 structures ayant déjà mis en œuvre une approche ADNe/ADNa ou utilisé des données issues de ces approches, **plus de la moitié (63%) utilisent les deux types d'approches**, ciblées ou non ciblées, dans leurs travaux (*Figure II. 7*), mais cette utilisation mixte est surtout le fait des structures de recherche (56%). Les répondants d'autres types de structure utilisent en effet beaucoup plus largement l'approche non ciblée (43%), peut-être pour bénéficier d'un des avantages de la méthode, à savoir avoir une vue plus générale de la biodiversité taxonomique et obtenir par exemple des données qui pourraient alimenter plusieurs descripteurs de la DCSMM (D1 et D2 notamment).

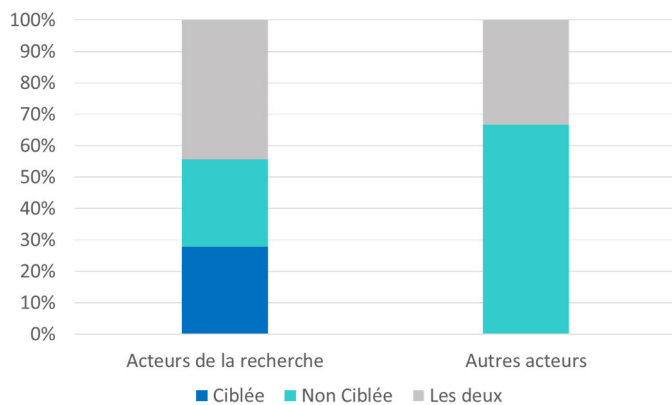


Figure II.7. Distribution (%) du type d'approche utilisé (ciblée, non ciblée ou les deux) chez les utilisateurs d'ADNe/ADNa

2.2.1. Cibles biologiques et milieux d'étude

La plupart des répondants (20 sur un total de 26) travaillent sur plusieurs milieux. Ces études concernent pour la moitié d'entre elles les habitats marins naturels (Figure II.8) ; pour les acteurs de la recherche un tiers concernent également les habitats artificiels de type ports – ces milieux ne concernent qu'une minorité d'études pour les autres acteurs de la recherche. Cette différence est tout à fait cohérente avec le fait que la plupart des autres acteurs travaillent très probablement dans des aires marines protégées ou des zones pour lesquels il existe des objectifs de conservation du milieu marin, donc des milieux naturels. On remarquera que si parmi les « points chauds d'introduction » les habitats artificiels hors zones aquacoles (ports en particulier) sont bien représentés, les zones aquacoles – autre point chaud d'introduction et de dispersion assistée par l'homme – ne sont que très rarement considérées.

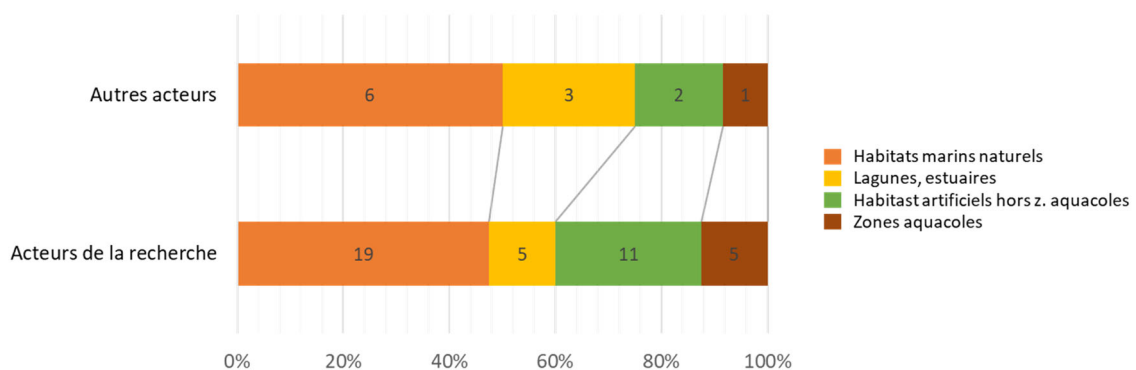


Figure II. 8. Distribution (%) des milieux d'étude chez les utilisateurs d'ADNe/ADNa. La somme des études par milieu et acteur est supérieure à 26 (nombre de répondants) car ces derniers travaillent sur plusieurs milieux.

Concernant les groupes biologiques étudiés, la majorité des répondants travaillent sur des animaux (Figure II.9), un résultat attendu compte-tenu du nombre important d'ENI répertoriées parmi les Animalia (anciennement « Metazoa ») sur le territoire français (70% des espèces répertoriées par Massé et al. (2023)). On note néanmoins que pour les approches non ciblées, les bactéries et protozoaires sont étudiés par un nombre significatif de répondants (ces catégories sont indiquées dans respectivement 16% et 13% des réponses). **Chromista et Plantae, pourtant également largement représentées dans les ENI françaises** (respectivement 24% et 6%, (Massé et al., 2023)) **sont en comparaison très peu ciblées**, et ce quelle que soit la méthode. Pour les études ciblées, les espèces nommées sont très diversifiées et la plupart du temps uniques à un répondant (sauf *Rapana venosa* et *Idiostylochus tortuosus*, citées deux fois) et des microalgues toxiques (citées 2 fois), ce qui montre que les efforts sont faits en réponse à des questions spécifiques des acteurs ou à des besoins locaux mais ne répondent pas nécessairement à des enjeux plus globaux et/ou manquent de coordination à une échelle large (par exemple pour le crabe bleu *Callinectes sapidus* ou le cténophore *Mnemiopsis leidyi*, des ENI invasives citées une seule fois).

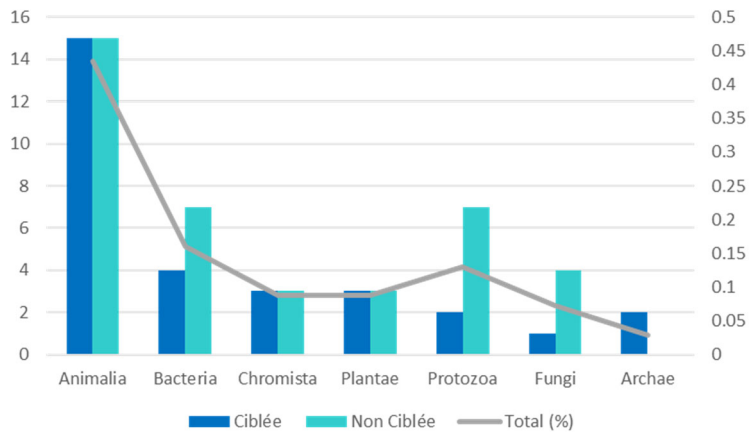


Figure II.9. Distribution des cibles biologiques pour les études ciblées et non ciblées et pourcentage sur le total (ciblée et non ciblée), par embranchement. Plusieurs répondants travaillant avec les deux approches, les nombres indiqués sont supérieurs au nombre total de répondants.

2.2.2. Protocoles mis en œuvre

Type d'échantillons

Comme attendu de par sa facilité de mise en œuvre et, peut-être aussi, parce que ce type d'échantillonnage est proposé par différents prestataires, ce sont des échantillons d'eau qui sont le plus souvent utilisés : 48 % des réponses totales - ciblées et non ciblées – et atteignant 57% pour les approches ciblées. On notera toutefois la diversité des substrats utilisés et le fait que la plupart des utilisateurs adoptent plusieurs types d'échantillons pour en extraire ADNe/ADNA (Figure II.10).

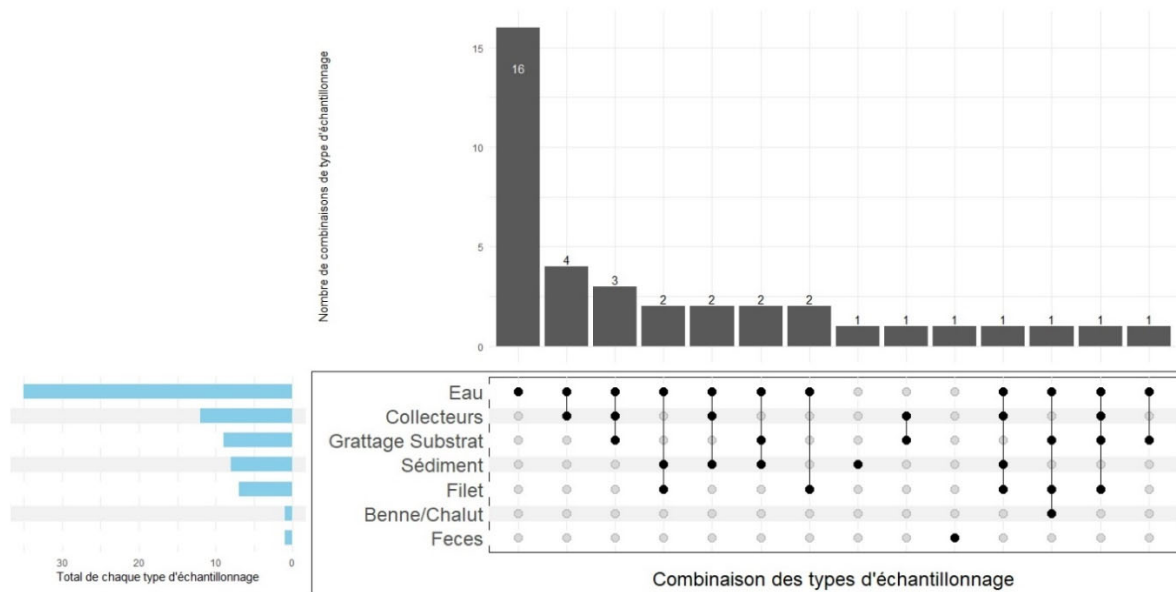


Figure II.10. Diagramme « upset plot » illustrant la distribution des types d'échantillons utilisés. Le nombre total de réponses pour un type d'échantillons donné est indiqué sur l'histogramme en bleu sur la gauche. Le nombre de type d'échantillon utilisé seul ou en combinaison est indiqué avec l'histogramme coloré en gris. Les points dans le tableau indiquent quelles sont les combinaisons pour chaque barre de l'histogramme en gris.

Cette utilisation de substrats diversifiés est intéressante à noter dans la mesure où différentes études ont montré la complémentarité des données acquises à partir de différents substrats (e.g., (Lavrador et al., 2024; Rey, Basurko, & Rodriguez-Ezpeleta, 2020; Tagliabue et al., 2023)).

Gènes utilisés

Les régions génomiques mitochondriales COI et nucléaires 18S représentent la quasi majorité des régions génomiques utilisées, et ce de façon équilibrée (respectivement 21% et 23%), que ce soit pour des approches ciblées (24% et 21%) ou non ciblées (19% et 24%). Ces résultats sont

en adéquation avec la littérature : le marqueur COI est utilisé pour sa capacité à détecter un large éventail d'espèces au sein de l'embranchement Animalia et bénéficier de nombreuses références dans les bases de données publiques (Leray et al., 2013; Porter & Hajibabaei, 2018). Quant au gène 18S rRNA, il est utilisé pour cibler les organismes eucaryotes, offrant ainsi une large couverture taxonomique, bien qu'avec un coût en termes de résolution taxonomique (Couton et al., 2022; Fonseca et al., 2010).

Les régions 12S (poissons) et 16S rRNA gene sont également largement utilisées (14% et 16% respectivement). De plus alors que les régions génomiques COI, 18S et autres sont utilisées de manière relativement équilibrée entre les deux approches, le gène 12S est presque deux fois plus mentionné dans l'approche non ciblée (16%) que ciblée (9%). Là encore en cohérence avec la littérature puisque le marqueur 12S rRNA est souvent utilisé pour les études spécifiques aux poissons, car il offre un taux de détection élevé (Maiello et al., 2023). Quant au marqueur 16S rRNA, il est utilisé, en particulier pour détecter les organismes procaryotes (Pitz et al., 2017). Concernant les amorces, leur développement spécifique est réalisé dans la majorité des cas pour l'approche ciblée contrairement à l'approche non ciblée (74% et 42%, respectivement). Les méthodes de séquençage dans le cas des approches non ciblées sont essentiellement sur des plateformes Illumina (15 des 18 réponses – sachant que trois ne connaissent pas la technologie de séquençage confié à un prestataire).

Assignations taxonomiques – bases de référence

Dans le cas des approches non ciblées, il était demandé aux répondants d'indiquer les bases de référence utilisées pour l'assignation taxonomique, étape critique dans cette approche (cf. Volet I). Parmi les répondants, la majorité (39%) utilisent une base de référence ouverte et publique, tandis que 18% ajoutent un traitement des données (validation, curation, filtration des séquences, etc.) avant de l'utiliser. Une part relativement importante (27%) utilise des bases de références développées par eux-mêmes. Enfin, 15% des répondants n'ont pas su dire quelle base de référence était utilisée dû au manque de précision de la part du prestataire.

Prestation

En analysant les combinaisons « utilisateurs » et « types d'approche », 38 réponses ont pu être analysées concernant les prestations réalisées. Les types d'approches sont différenciées car les prestations sont de natures très différentes. Globalement, acteurs de la recherche ou hors du monde de la recherche utilisent de façon importante des prestations de service, et ce particulièrement pour les approches non ciblées (Figure II.11).

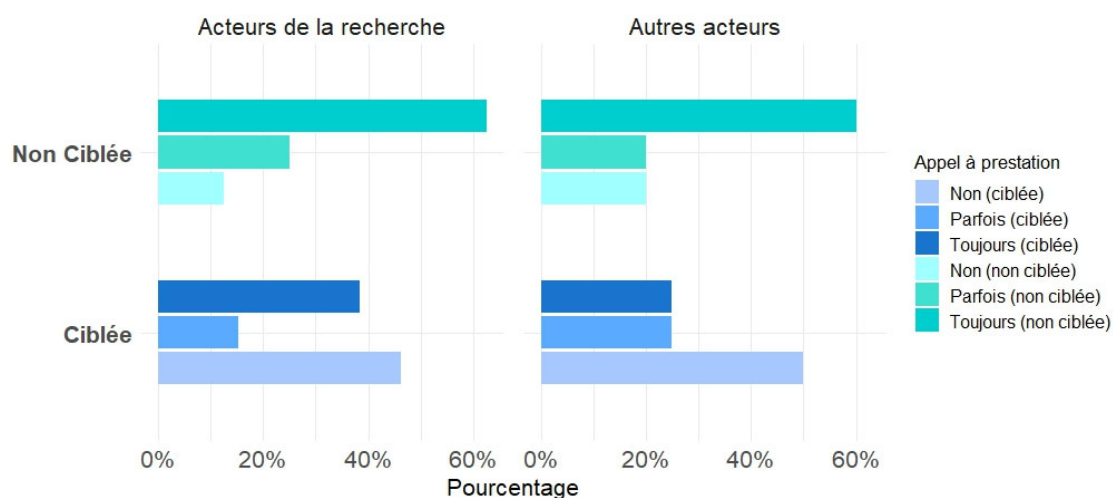


Figure II.11. Utilisation de prestations de services (%) en fonction du type d'approche et du type d'acteurs.

Sur l'ensemble des acteurs, 53% mentionnent l'utilisation d'une prestation de service dans le cas d'approche ciblée et 86% dans le cas d'approche par metabarcoding, pour l'une ou toutes les études

qu'ils ont réalisé. Parmi les 38 réponses analysables, seulement 14% correspondent à l'absence de demande de prestation pour les approches par metabarcoding. Elles correspondent à deux utilisateurs, un acteur de la recherche et un hors recherche, qui ne font mention d'aucune prestation de service quelle que soit l'approche, et à un utilisateur, acteur de la recherche, qui utilise des prestations de service pour les approches ciblées.

Ces résultats rendent naturellement compte de la nécessité d'utiliser du séquençage haut-débit dont la mention est indiquée pour 15 des 18 réponses obtenues pour les approches par metabarcoding (Figure II.12), voire d'obtenir des banques dont la construction est très technique et nécessite d'importantes précautions pour éviter les contaminations dans le cas de l'utilisation d'ADNe/ADNa. A noter qu'il n'est pas attendu de séquençage ni de bio-informatique pour les approches ciblées (et donc l'absence de réponse pour ces deux étapes dans la Figure II.2 est normale). Il est plus surprenant de constater un niveau assez modéré pour l'extraction des ADNa/ADNe, pourtant une étape très sensible.

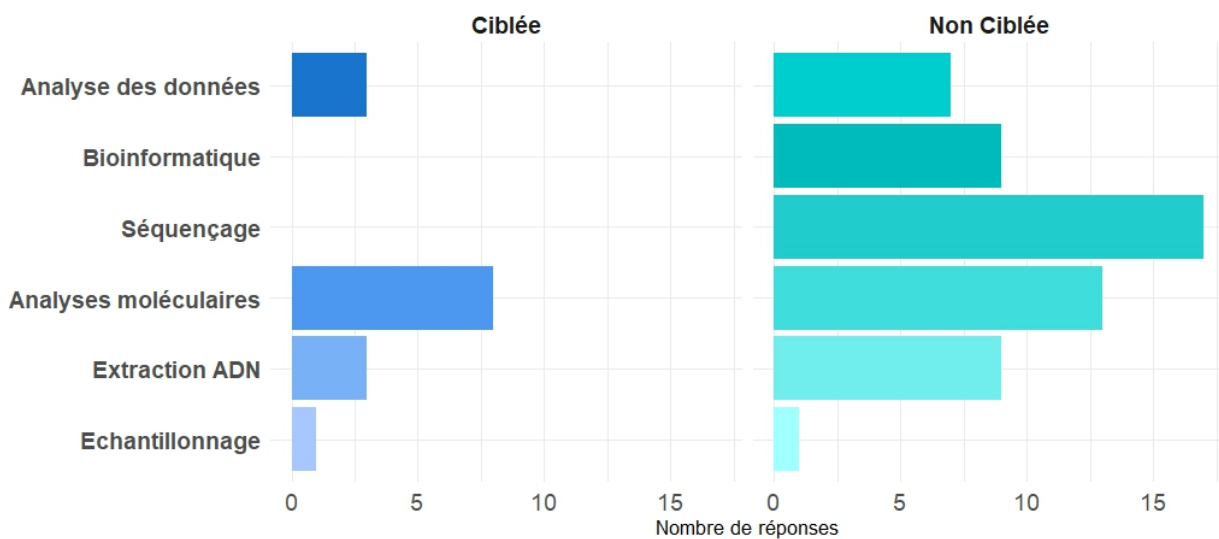


Figure II.12. Détails des étapes utilisées pour de la prestation par les utilisateurs des approches ciblées (à gauche) et non ciblées (à droite). Pour chacune, il y avait respectivement un total de 9 et 18 réponses. Les analyses moléculaires pour l'approche non ciblée concernent l'une ou toutes les étapes postérieures à l'extraction d'ADN et antérieure au séquençage. L'étape de bio-informatique comprend le traitement des séquences brutes mais exclue la production des listes d'espèce (assignations taxonomiques) qui sont en revanche incluses dans l'étape « Analyse des données » pour le metabarcoding. Cette « analyse des données » comprend aussi pour les données ciblées l'interprétation des données à partir des résultats bruts.

Globalement les utilisateurs sont satisfaits des prestations demandées mais souvent de façon partielle (Figure II.13). Le « Oui » représente 44% et 55% des réponses pour les approches ciblées et non ciblées. On notera par ailleurs une réponse négative pour 3 des 18 réponses pour le metabarcoding.

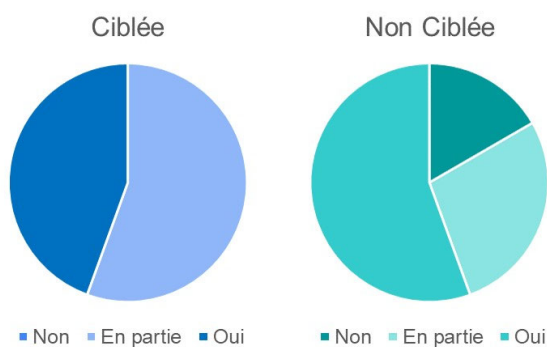


Figure II.13. Niveau de satisfaction des prestations réalisées par les utilisateurs des deux types d'approche.

Dans les commentaires associés aux réponses partiellement positives ou négatives reviennent comme principaux problèmes rencontrés : 1) le coût par échantillon (approche ciblée), 2) le manque de

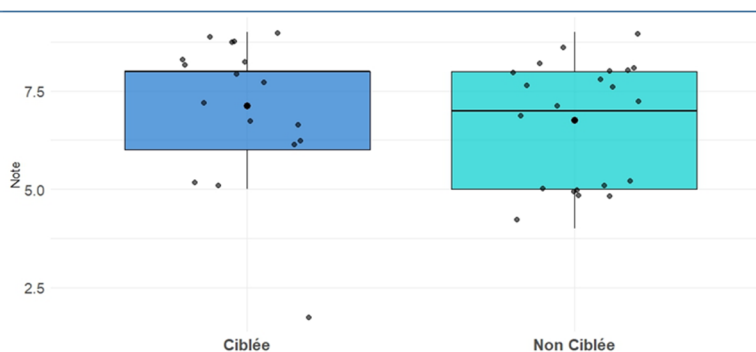
transparence notamment concernant le protocole mis en œuvre et le manque d'accès aux données brutes (les deux approches), 3) la relation de dépendance à un prestataire donné (pour continuité des études et possibilité de réaliser les études de façon indépendante plus tard (les deux approches), 4) des préconisations erronées du prestataire (approche ciblée) et 5) une déception face aux résultats (ex. peu d'espèces d'intérêt).

2.2.3. Evaluation des approches ADNe/ADNa : satisfaction et points d'amélioration

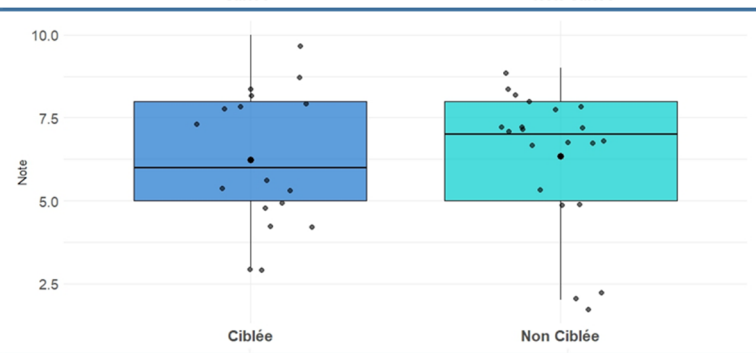
Degré de satisfaction

Malgré le taux élevé de prestations et une satisfaction relative à ces prestations modérée (moins de 50% avec une satisfaction totale), les utilisateurs des approches ADNe/ADNa ont au final une évaluation très positive, que ce soit en termes de fiabilité, de mise en œuvre (technique ou analytique) ou de rapport coût-bénéfice. Les notes sont élevées (*Figure II.14*). La moyenne des notes (sur 10) données par les répondants pour l'approche ciblée est similaire à celle de l'approche non ciblée pour les aspects « technique et analytique » (moyenne = 6) et le critère de « fiabilité » (moyenne = 7). En revanche, on peut observer une légère différence sur l'aspect « coût-bénéfice » avec une moyenne légèrement plus basse pour l'approche ciblée (6) que non ciblée (7).

Fiabilité



Facilité technique



Rapport Coût-Bénéfice

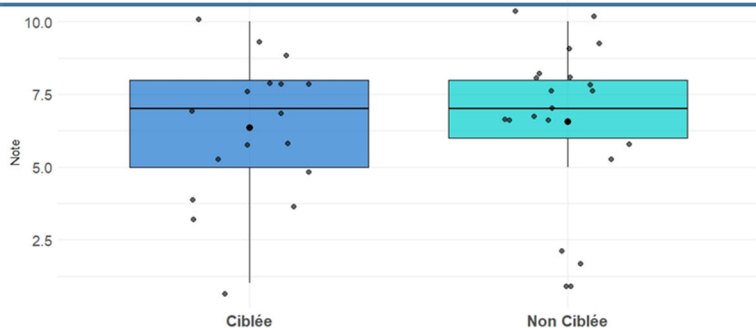


Figure II.12. Boîtes à moustache permettant de synthétiser les réponses des utilisateurs des approches ciblées et non ciblées concernant leur degré de satisfactions. Les répondants devaient donner une note entre 0 (très négatif) et 10 (très positif).

Limites rencontrées

Dans un second temps, les répondants devaient indiquer quelles étaient les contraintes et difficultés auxquelles ils avaient dû faire face pour mettre en œuvre cette approche ADNe/ADNa. La liste des réponses proposées était commune aux utilisateurs d'approche ciblée et non ciblée, à l'exception de 3 propositions additionnelles proposées aux utilisateurs d'une approche non ciblée (réponses « Manque de séquences de référence pour l'assignation taxonomique », « Manque d'interfaces faciles à utiliser pour la réalisation des analyses bio-informatiques » et « Difficulté d'accès à des infrastructures de stockage des données et de calcul ») et une réponse additionnelle (« Disponibilité de données de référence pour la définition des sondes/amorces ») pour les utilisateurs de l'approche ciblée. Quatre catégories communes aux deux approches se sont distinguées et ont ainsi été utilisées pour regrouper les réponses de tous les utilisateurs.

Sur les 111 réponses reçues à la question, plus de la moitié mentionnent deux contraintes majeures : 1) la difficulté d'accès aux ressources moléculaires ou informatiques (33%) et 2) le besoin de guides de bonne pratique et d'une transparence pour la standardisation entre études (30%). Les autres contraintes mentionnées sont les ressources financières limitées (23%) et les problèmes liés aux prestations (difficulté de choix des prestataires, qualité) (14%) (*Figure II.13*).

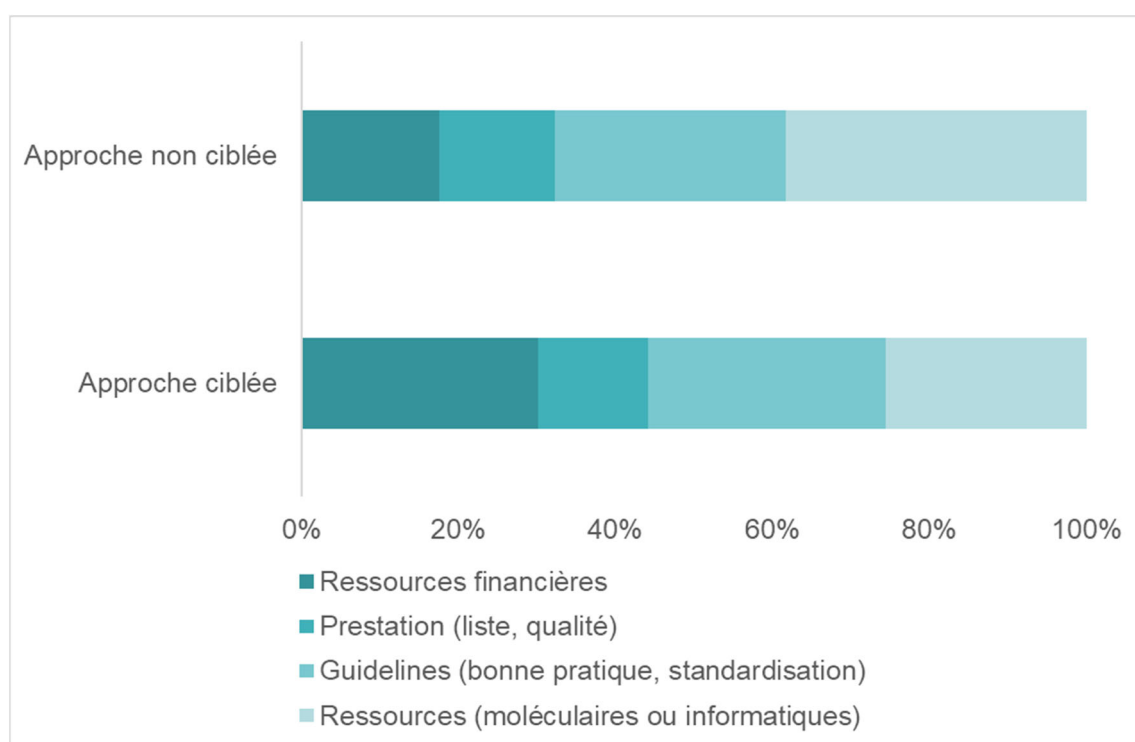


Figure II.13. Contraintes rencontrées par les utilisateurs des différentes approches.

Certaines différences sont néanmoins observées entre les utilisateurs d'approche ciblée et non ciblée. En effet, malgré une proportion similaire des problématiques liées aux « guides de bonnes pratiques » (ciblée : 30% et non ciblée : 29%) et à la prestation utilisée (ciblée : 14% et non ciblée : 15%), l'approche ciblée semble poser plus de défis financiers (30 %) comparativement à l'approche non ciblée (18 %). Ce point est d'ailleurs discuté dans certains commentaires libres des utilisateurs, rapportant le coût élevé de la technique et son mauvais ratio coût/espèce comme point négatif principal dû au nombre important de réplicas nécessaires pour avoir des résultats corrects, une notion qui semble n'avoir été comprise qu'après avoir mis en œuvre l'approche. En effet, les non-utilisateurs d'approches ADNe/ADNa n'ont pas souligné de différence au niveau financier entre les approches (données non montrées). Cette appréciation par les utilisateurs pourrait aussi expliquer la part élevée des contraintes liées aux *guidelines* (bonnes pratiques) pour cette approche (30%). En effet, contrairement à l'approche non ciblée, la qPCR ou la dPCR sont extrêmement sensibles et il est crucial de minimiser les erreurs

expérimentales pour obtenir des résultats quantitatifs robustes. Pour cela, les répliques techniques permettent de mettre en place des essais en laboratoires, d'estimer la variabilité et d'assurer que les quantifications sont précises et reproductibles, notamment en déterminant les limites de quantification et de détection.

2.3. Acteurs n'ayant jamais utilisé des approches ADNe / ADN

Pour les 25 répondants n'ayant jamais mis en œuvre une approche ADNe/ADNa, notre objectif était de comprendre ce qu'ils souhaiteraient réaliser, les raisons pour lesquelles ils n'avaient jamais utilisé ces approches et ce dont ils auraient besoin pour les mettre en œuvre.

Concernant le type d'approche souhaitée (i.e., ciblée vs. non ciblée), 4 répondants ne savaient pas (1 acteur de la recherche et 3 d'autres structures). Pour les 21 restant, la majorité est issue des acteurs de la recherche (n=18, 82%). Les approches souhaitées sont principalement des deux types ciblés et non ciblés (43%, n=8) et peu d'approches ciblées seules (24%, n=5) (*Figure II.14*).

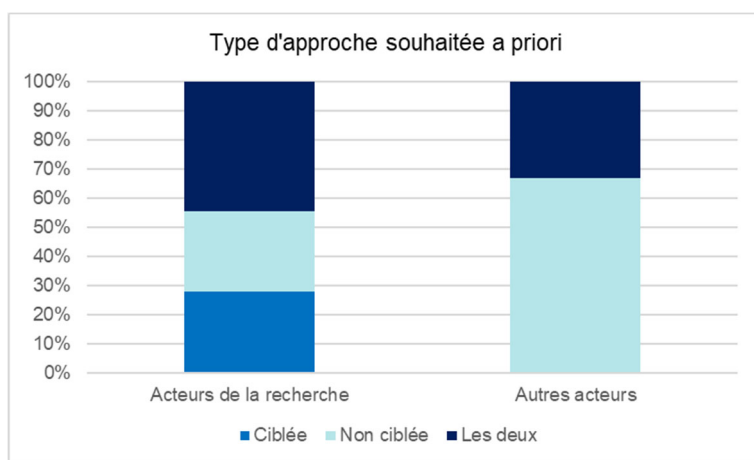


Figure II.14. Type d'approche souhaitée a priori par les répondants qui n'ont encore jamais utilisé d'ADNe/ADNa

Pour les 3 répondants non-académiques, aucun ne vise une approche ciblée, ce qui pourrait être mis en lien avec la nature de leurs travaux ciblant le plus souvent la communauté/l'écosystème dans son ensemble (par exemple dans le cadre d'études d'impacts ou d'inventaires de la biodiversité). Quelle que soit la catégorie d'acteurs, il semblerait que les bénéfices des approches ciblées pour détecter une espèce particulière (par exemple une espèce de la liste européenne) soient moins bien connus que les méthodes à large couverture taxonomique, telles que permises par le metabarcoding, et ce alors que ces deux approches sont très complémentaires, comme indiqué par les avantages soulignés par les auteurs des articles analysés dans le Volet I.

2.3.1 Verrous rencontrés

Les verrous/barrières rencontrés sont les mêmes et avec des importances relatives identiques pour des approches ciblées et non ciblées. Les réponses sont donc analysées en combinant les deux approches. Les répondants n'ayant pas mis en œuvre des approches ADNe/ADNa soulignent que les contraintes et limites majeures sont : **le manque de financements (38%), de savoir-faire et/ou d'équipements (21%) ainsi que le manque temps (18%)** (*Figure II.15*).

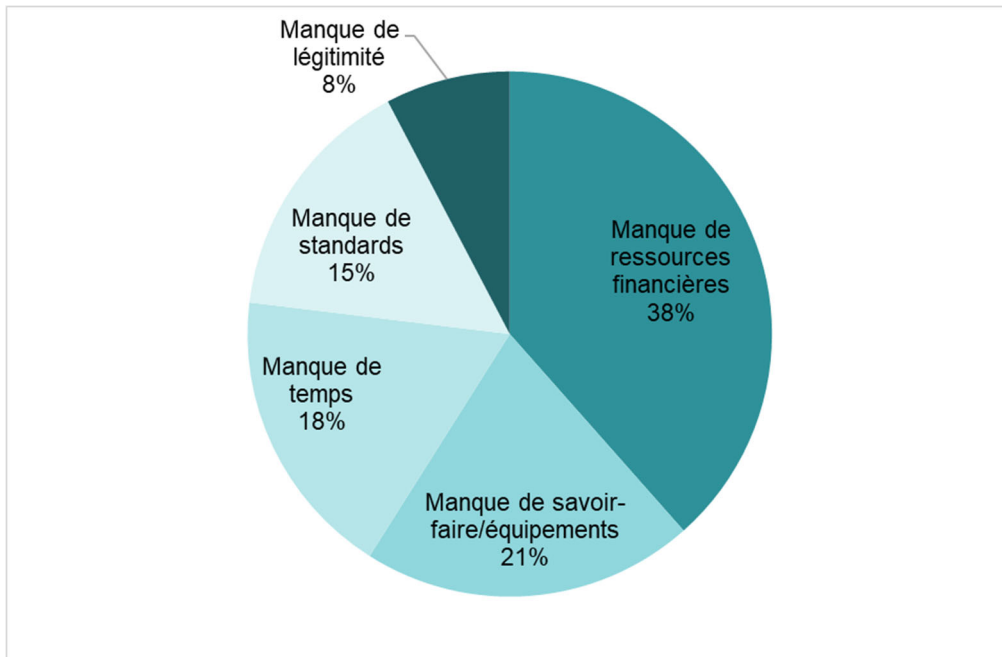


Figure II.15. Limites rencontrées par les répondants n'ayant pas mis en œuvre d'approches ADNé/ADNa

Ces résultats sont intéressants car ils semblent en contradiction avec certaines **conclusions de la littérature scientifique présentant l'utilisation des approches ADNé/ADNa comme relativement peu coûteuses**, y compris en termes de ressources humaines, en comparaison des techniques traditionnelles basées sur de l'expertise taxinomique qui demandent de nombreuses heures pour l'échantillonnage puis l'identification des spécimens échantillonnés. Cela dit, le questionnaire (déjà long) ne demandait pas aux répondants de préciser l'étape qui était un verrou financier, technique ou autre. Il serait intéressant d'aller plus en profondeur sur cette question pour déterminer si des formations ou des infrastructures dédiées pourraient lever ces verrous. Il est également surprenant d'observer le **peu de différences dans l'appréciation des limites entre l'approche ciblée et non ciblée**, en particulier pour ces questions de coûts. En effet, la méthodologie de l'approche ciblée nécessite de nombreux réplicas, faisant augmenter rapidement le prix de l'analyse d'un échantillon de terrain. Il pourrait ici y avoir une confusion entre le « coût des techniques » et le « coût par nombre d'espèces identifiées ». Il est aussi intéressant de noter la part non négligeable des raisons relatives au **manque de standards (15%)** qui est une des limites régulièrement pointée par la littérature ou lors de séminaires concernant l'utilisation d'approches ADNé/ADNa. Plus inattendu est le **manque de légitimité (8%)**. C'est un résultat intéressant puisqu'un levier est possible ici avec un meilleur accompagnement des acteurs par des spécialistes. Les leviers présentés dans la prochaine section répondent très bien aux barrières/verrous identifiés ici.

2.3.3. Les leviers possibles

Parmi les 25 répondants qui n'ont pas mis en œuvre l'approche ADNé/ADNa, 22 réponses ont pu être analysées. Ces réponses ouvertes ont été assignées à cinq catégories présentées en [Figure II.16](#). Pour une meilleure analyse, cette figure présente en parallèle des verrous/barrières évoquées par les répondants en les associant à chacun des leviers mentionnés pour souligner des convergences mais aussi des discordances.

Le levier qui apparaît en premier, en parfaite adéquation avec les barrières mentionnées, est la possibilité d'acquérir des financements supplémentaires (31%). Ce levier arrive au premier rang pour les deux types d'approches mais est particulièrement fort pour l'approche ciblée (36% des réponses) par rapport à l'approche non ciblée (27%), ce qui est ici une différence par rapport aux barrières, suggérant qu'en fait les acteurs ont bien intégré les coûts potentiellement importants si un grand nombre d'espèces doit être surveillées/suivies.

Un point tout à fait notable est que 25% des réponses concerne la nécessité de justifier du bien-fondé des approches ADNe/ADNa (intitulé « montrer la pertinence » dans la figure II.16) ; les répondants soulignent en particulier leur souhait de les mettre en œuvre si l'action est réalisée à travers un réseau national et avec des objectifs plus clairs. Ces répondants souhaiteraient utiliser des approches l'ADNe/ADNa non parce que c'est une approche nouvelle mais parce que cela serait justifié dans un cadre bien défini.

La question de maturité de ces approches (19%) est aussi prégnante avec un besoin de standards, de protocoles partagés et de bases de données existantes communes, et ce levier contraste avec les barrières identifiées. Dans le même esprit, le besoin de formations et de collaboration scientifique (16%) est également souligné, cette fois en accord avec les barrières mentionnées.

Enfin, bien que le manque de temps soit la troisième contrainte la plus mentionnée, il ne représentait ici que 9% des réponses ce qui est bien en deçà de la proportion évoquée pour les barrières.

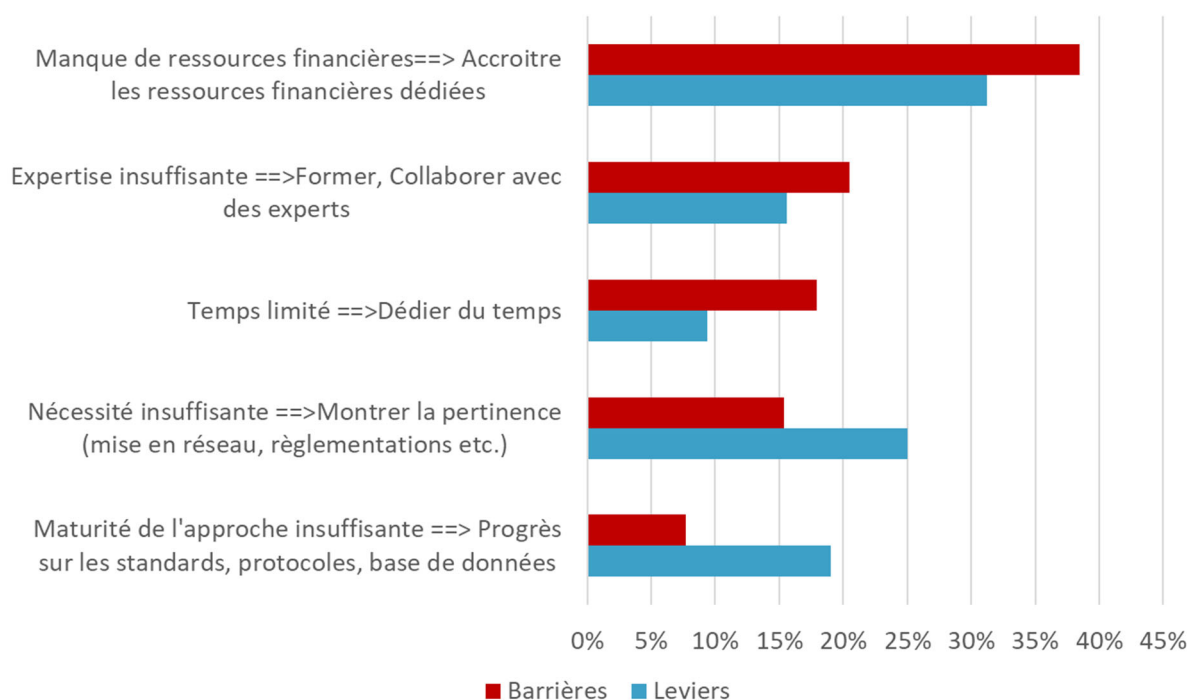


Figure II.16. Leviers (en bleu) qui pourrait faciliter la mise en œuvre d'une approche ADNe/ADNa par des non-utilisateurs. Ces résultats sont mis en regard de leur réponse concernant les barrières (en rouge) évoquées plus haut, réassignées aux catégories de leviers.

Ainsi, les réponses évoquent des pistes claires pour permettre le développement des approches ADNe/ADNa sur la thématique des ENI : il faudrait proposer un cadre formel avec la définition d'objectifs clairs, un partage des savoirs/savoir-faire et données et des financements d'accompagnements (i.e. **une mise en réseau opérationnelle**). Mais la volonté semble là telle que mesurée par le nombre de réponses d'acteurs n'ayant jamais utilisé ces approches.

2.4. Messages-clés issus de l'enquête

L'enquête a été menée pour mieux connaître ce qui est réalisé mais aussi comprendre les difficultés et les attentes des acteurs utilisant ou intéressés par l'utilisation d'approches ADNe/ADNa pour l'étude des ENI. Elle a obtenu des réponses de 50 personnes dont 5 affiliées à deux types de structure, représentant ainsi 55 grilles analysables. Les principaux points à retenir sont les suivants :

- Les réponses obtenues sont très déséquilibrées entre acteurs de la recherche (78%) et autres acteurs. **L'analyse est donc fragile en ce qui concerne les acteurs hors du monde académique.**
- Les réponses sont très équilibrées entre utilisateurs actuels de ces approches (51%) et ceux qui sont intéressés mais ne l'ont jamais mis en œuvre. Cela souligne que **le sujet intéresse une large communauté.**
- Les objectifs des répondants sont multiples et sur l'ensemble des 96 réponses obtenues (choix multiples proposés), **les objectifs de suivi (observation) et de recherche représentent la très grande majorité (82%), loin devant des objectifs de surveillance réglementaire**, ce qui s'explique par 1) le déséquilibre entre acteurs de la recherche et autres acteurs parmi les répondants, mais aussi probablement par 2) le manque d'injonction réglementaire au sujet de la surveillance des ENI.
- Pour les utilisateurs, **plus de la moitié (63%) utilisent des approches ciblées et non ciblées.**
- **Des biais concernant les milieux et les groupes biologiques** étudiés apparaissent clairement. Concernant les milieux, les milieux naturels et milieux portuaires sont bien représentés et de façon assez équilibrée mais les zones aquacoles souffrent d'un déficit d'études. Les Animalia dominent les études menées (47%).
- Concernant les protocoles, l'analyse n'a pas pu être aussi poussée que dans l'analyse bibliographique mais on constate que **l'eau est le substrat privilégié** dans les études menées (respectivement 48% et 57% des cas pour les approches non ciblées et ciblées) ; il est de plus généralement le seul type d'échantillons utilisé. De même concernant les marqueurs utilisés : **COI et 18S sont les plus étudiés**, en cohérence avec les groupes biologiques ciblés (Animalia). **Une part non négligeable des assignations taxonomiques est réalisée sur des bases de référence modifiées (27%)**, une différence notable avec ce qui est trouvé dans l'analyse bibliographique, peut être en lien avec une présence encore forte de taxonomistes, notamment de taxonomistes moléculaires sur le territoire national. **L'emploi de prestations de service, en particulier pour l'obtention des données moléculaires est très importante**, pour les deux types d'approches. Néanmoins, les utilisateurs sont partiellement satisfaits des prestations, soulignant par exemple le manque de transparence associé à ces services.
- **Dans l'ensemble les utilisateurs sont très satisfaits de la mise en œuvre de l'approche** (avec des notes moyenne de 6 à 7 sur 10). Ils évoquent néanmoins des contraintes dont en particulier le manque de ressources financières et le manque de guide de bonne pratique et de standards.
- **Les non-utilisateurs évoquent les contraintes financières en parallèle de questionnaire sur la maturité technologique de ces approches et soulignent un besoin de formation, de coordination et d'accompagnement.**

Volet 3. Synthèse et recommandations

Les trois volets constituant ce rapport ont pour vocation d'être lus indépendamment les uns des autres. Aussi dans ce dernier volet, les messages clés issus des deux précédents (Volet 1 – Analyse bibliographique, Volet 2 – Enquête) seront brièvement repris de façon à souligner les divergences et convergences entre eux, ainsi que les lacunes de connaissance. A l'issue de cette courte synthèse, quelques recommandations sont proposées pour alimenter une réflexion quant à la mise en place d'un programme de surveillance des ENI par approches ADNe/ADNa en appui du descripteur 2 de la DCSMM.

Synthèse issue des volets 1 et 2

La gestion des ENI, un enjeu au cœur des approches ADNe/ADNa

Les objectifs d'utilisation d'ADNe/ADNa appliquée aux ENI convergent entre les résultats de la revue systématique de la littérature (RSL) et les résultats de l'enquête : 85% des articles ont comme contexte d'étude un objectif de gestion des ENI (doublé d'objectifs de recherche dans la plupart des cas), ce qui fait écho aux résultats de l'enquête où les enjeux de recherche et gestion sont également très largement majoritaires (82%). Ainsi il semble y avoir **un consensus sur l'intérêt de l'approche pour répondre à cet objectif de gestion des ENI et de mise en place d'un programme de surveillance dédié**. Ceci est aussi souligné par le fait que les structures de recherche ayant répondu à l'enquête se positionnent sur une problématique de « recherche-action » plutôt que des recherches où les ENI sont utilisées comme des cas d'étude pour des recherches fondamentales, malgré leur valeur en tant que tel pour étudier des processus écologiques ou évolutifs. Il est par ailleurs tout à fait intéressant de constater que cette appétence n'est pas le seul fait des scientifiques ni des utilisateurs actuels de ces approches, comme en témoigne le retour à notre questionnaire constitué de façon très équilibrée de moitié de répondants non-utilisateurs mais intéressés par ces approches. Notons enfin, que même s'il existe des limites à l'utilisation de ces approches (cf. plus bas), **de nombreux articles de revue, parus récemment, en soulignent aussi l'intérêt et l'utilisation croissante à des fins de suivis/surveillance des ENI**. Par exemple, Duarte et al. (2021) (listé en *Annexe I*) montrent grâce à une revue systématique de la littérature (RSL) que le nombre d'études qui ont employé du metabarcoding pour cet objectif a augmenté de façon significative entre 2010 et 2020, avec un taux de +6,3 articles par an.

D'importants déséquilibres ou manques en termes de cibles des approches ADNe/ADNa

Un second constat mis en relief dans les deux volets sont les biais d'utilisation des approches ADNe/ADNa en termes d'habitats et de groupes biologiques. La RSL réalisée pour le Volet I met en avant un **manque de données ou de connaissances acquises dans les zones aquacoles (5% des études examinées par la RSL)** pourtant des points critiques d'entrée et d'établissement des ENI (notamment parce que les zones aquacoles se situent souvent à proximité d'autres points d'introduction, tels que les ports). Le constat est un peu moins élevé avec les résultats de l'enquête puisque **23% des répondants s'intéressent à ces milieux** mais le contraste est fort avec **les milieux naturels, étudiés par 96% des répondants**. A noter que les milieux naturels côtiers ressortent de façon très différente avec la RSL puisqu'ils ne représentent que **17% des réponses analysées** (alors que ports et bateaux en représentent 42%). **Enfin, les études s'intéressant simultanément aux points chauds d'introduction, et donc surtout aux ports, et aux milieux naturels côtiers sont peu représentées (10% des données analysées dans la RSL et 23 % pour les répondants de l'enquête)**. Compte-tenu de la sensibilité des résultats aux protocoles mis en œuvre et du manque de standardisation de ces protocoles, il est ainsi en l'état difficile de qualifier et encore moins de quantifier l'importance de l'échappement depuis les zones portuaires ou même d'avoir suffisamment de données pour alimenter D2C2 et D3C3, qui tous deux nécessitent de bien documenter la présence des ENI dans les milieux naturels.

Le biais taxonomique est encore plus prononcé, avec des résultats identiques venant de la RSL et de l'enquête : **le groupe Animalia est le premier embranchement étudié (68% pour la RSL et 45% pour l'enquête), loin devant les embranchements Plantae et Chromista (ne représentant ensemble que 8% dans la RSL et 16% dans l'enquête)**. D'un côté, cette attention exacerbée sur les animaux est cohérente avec la prédominance d'ENI dans cet embranchement au niveau international (84% ; calculé à partir des données supplémentaires de Bailey et al. (2020)), Européen (75% ; (Zenetos et al., 2022)) comme français (70% ; Massé et al. 2023). Mais cette prédominance des Animalia dans les listes d'ENI pourrait aussi refléter de plus grandes difficultés à les identifier au sein des Plantae et Chromista (par exemple, les algues rouges sont un groupe particulièrement complexe). Aussi, la nature holistique des approches ADNe/ADNa pourraient représenter une alternative ou un complément à ces méthodes traditionnelles.

Les méthodes sont loin d'être harmonisées

La majorité des études, qu'elles utilisent des approches ciblées ou non ciblées, utilisent l'eau comme substrat d'extraction des ADNe/ADNa : l'échantillonnage d'eau est cité dans 85% des réponses de la RSL comme de l'enquête. Le metabarcoding est l'approche privilégiée (70% des articles, 60% des répondants), presque exclusivement basée sur du séquençage haut-débit d'amplicons générés avec les marqueurs COI et 18S (auxquels s'ajoutent 12S pour les poissons et 16S pour les procaryotes), sur des plateformes Illumina et en utilisant des bases de données publiques (essentiellement Genbank) pour les assignations taxonomiques. **Au premier abord, il semble y avoir une certaine convergence de méthodes mais, dans le détail, c'est loin d'être le cas**, que ce soit pour les substrats, les amorces utilisées, les outils bio-informatiques (données non montrées) etc. Par exemple pour le prélèvement d'eau, selon les études il varie de quelques centilitres à une centaine de litres. De même, pour les approches ciblées, qui en plus reposent sur des techniques très différentes. Par ailleurs, les prestations souvent réalisées par les acteurs et auteurs de l'article peuvent rendre encore plus opaques (cf. manque de transparence souligné par certains répondants) ou plus hétérogènes (si chaque auteur/acteur souhaite ne pas changer de méthodes) les protocoles et résultats.

ADNe/ADNa – Avantages et limites

Auteurs comme répondants ont une appréciation positive de l'approche ADNe/ADNa. Les notes données par les répondants sont particulièrement parlantes avec des moyennes de 7 (une fois 6) pour les critères de fiabilité, facilité techniques et rapport coût-bénéfice. Dans les articles, l'avantage principal retenu par les auteurs est celui de la valeur ajoutée par rapport aux méthodes traditionnelles (29%), suivi pour les approches ciblées de de la sensibilité et de la spécificité de la méthode (25% des mentions) et pour les approches non ciblées de la possibilité de détecter un grand nombre d'espèces (20%) ou des espèces difficiles à détecter autrement (19%).

Ces techniques ne sont pas sans limites, et les 20 articles présentant les limites des approches ciblées soulignent dans la majorité des cas (53%) des problèmes relatifs à l'ADNe lui-même (vitesse de dégradation ou dispersion dans l'environnement). Les auteurs utilisant des approches ciblées ont de plus des questionnements quant au seuil de détection (26%) et ceux utilisant des approches non ciblées des problématiques liées aux bases de données (31%) ou à la résolution taxonomique (24%). Les répondants utilisateurs ont quant à eux également mis l'accent sur des contraintes financières (22%), l'accès à des ressources informatiques pour la standardisation des études (30%) et des problèmes liés aux prestations (14%). Ces avantages et limites sont cohérents avec les résultats de la RSL réalisée par Capurso et al. (2023), centrée sur l'analyse des pratiques d'utilisation de l'ADNe pour les suivis dans les milieux marins, ainsi qu'avec les résultats de la RSL menée par Duarte et al. (2021) dédiée au metabarcoding pour la surveillance des ENI, comme montré dans la figure II.17 (figure composée de deux illustrations issues de ces articles). Les réponses des répondants non-utilisateurs quant aux leviers qui leurs permettraient de devenir des utilisateurs sont également très informatives : de nouvelles ressources financières dédiées, ne pas travailler seul mais participer à un réseau avec un dispositif harmonisé (standardisation), être accompagné par des experts, avoir accès à des ressources (guides

de bonnes pratiques par exemple) et répondre à un besoin réel basée sur une demande (par exemple réglementaire).

Table 2
SWOT analysis through literature review of eDNA studies in marine environments (n = 70) as described by authors.

STRENGTHS:	WEAKNESSES:
<ul style="list-style-type: none"> • Taxonomic, temporal and spatial resolution • Species detection (invasive, unexpected, rare/elusive/cryptic, indicator) • Diversity assessment (alpha, functional, phylogenetic, multi-trophic) • Community assemblage assessment • Time-Cost efficiency • Little/no required expertise • Non-invasive 	<ul style="list-style-type: none"> • eDNA dispersion • False positive and/or negative • Abundance assessment • Demographic parameters estimation
OPPORTUNITIES:	THREATS:
<ul style="list-style-type: none"> • Standardization/automatization • Retrospective analysis of data • Complementary/simultaneous analysis • Inaccessible/less accessible regions 	<ul style="list-style-type: none"> • (A)biotic factors influence eDNA availability • Procedural biases/errors • Study design biases/errors • Incomplete/erroneous reference databases

DNA metabarcoding in NIS biosurveillance	
Strengths <ul style="list-style-type: none"> • Increased sensitivity • Species detection in all life stages • High-throughput • Fast response • Requires comparatively low training • Cost-effective for large sample numbers 	Weaknesses <ul style="list-style-type: none"> • Lack of standard protocols • Lack of universal primers • Incompleteness of reference libraries • Taxonomic incongruences in reference libraries • False negatives and false positives • Sequencing platforms constant update • Inability to generate absolute abundance data • Inability to differentiate life stages
Opportunities <ul style="list-style-type: none"> • Higher species differentiation ability • NIS early detection • Increased taxonomic breadth • High spatial and temporal resolution in biosurveillance programs • Use of non-destructive DNA extraction procedures • Possibility of portability and <i>in situ</i> analyses • Amenable to automation 	Threats <ul style="list-style-type: none"> • Comparison among studies hard to accomplish (due to lack of standardization) • Incomplete or erroneous taxonomic assignments • Overselling of benefits and outputs compared to other approaches • High cost of newly developed platforms • Risk of contamination and misleading results if not properly implemented • Difficulties with end-user confidence and legal implementation

Fig. 5. SWOT analysis of DNA metabarcoding in NIS surveillance in marine and coastal ecosystems.

Figure III.1. Analyse SWOT réalisée par Capurso et al. (2023) et Duarte et al (2021), à partir de RSL, soulignant les faiblesses, forces, opportunités et limites dans un contexte d'utilisation d'ADNe en milieu marin. Le tableau, à gauche, issu de l'article de Capurso et al. (2023) concerne l'utilisation de l'ADNe en milieu marin, et ce quel que soit l'objectif (non restreint aux ENI) ; elle a été réalisée à partir d'une analyse de 70 articles. Le tableau, à droite, issu de Duarte et al. (2021) concerne uniquement les approches de metabarcoding appliquées à la surveillance des ENI ; cette analyse compile les résultats obtenus de 42 articles (34 de la RSL et 8 additionnels).

Recommandations

Les conditions, et la plus importante peut-être, l'adhésion des acteurs, semblent réunies pour la mise en place d'un programme de surveillance des ENI. A partir des résultats de la RSL (Volet I) et de l'enquête (Volet II), plusieurs recommandations, dont des points de vigilance se dégagent.

Choisir la(les) méthode(s) adaptée(s) aux objectifs

Le vocable « ADNe » (ou ADN_a) est devenu un terme « parapluie », régulièrement utilisé même dans les articles scientifiques pour parler aussi bien de techniques de metabarcoding ayant l'objectif de fournir un panorama le plus exhaustif possible de la biodiversité que d'approches basées sur des techniques, telle que la PCR quantitative, ayant pour vocation de donner l'abondance relative d'une espèce donnée. La première étape, sera donc de **décliner avec précision les objectifs de l'utilisation d'ADNe/ADN_a**, qui vont conditionner la technique (et les prestations associées), les habitats et cibles, les verrous majeurs à lever et les leviers à mettre en place pour les lever. Ces objectifs, à court terme pourraient notamment être :

- Identification de nouvelles ENI non répertoriées à l'échelle Européenne dans des points chauds d'introduction – C1
- Identification de nouvelles ENI déjà répertoriées en Europe mais nouvelles pour le territoire français (ou ses sous-régions marines) – C1
- Identification de la distribution des ENI déjà connues, avec l'objectif de séries à long terme pour analyser les tendances (expansion, regression etc.) – C2, voire C3
- Identification et analyse de l'abondance relative d'espèces de la liste EEE Européenne

Pour chacun des objectifs, une technique adaptée devra être choisie et un protocole établi. Toutes les approches ne permettent pas en effet de répondre à tous ces objectifs avec des performances et robustesses identiques. Par exemple, le metabarcoding permet une pression d'observation d'un grand nombre d'espèces, sans commune mesure avec les autres approches, mais il n'est pas ou peu fiable

pour obtenir des données d'abondance. A l'inverse, la PCR quantitative est fiable pour acquérir des données d'abondance mais plus coûteuse (ressources financière, techniques et humaines) pour une application sur un très grand nombre d'espèce.

Ne pas avoir peur de la prestation mais être vigilant sur le cahier des charges

Afin de démocratiser l'approche, les barrières liées aux équipements, à l'accès aux ressources bio-informatiques, à l'expertise moléculaire doivent être levées. Dans de nombreux cas, il est peu probable que l'acteur puisse toutes les lever dans sa structure. De plus, certaines étapes bénéficient de prestations réalisées à l'extérieur, par exemple pour obtenir un séquençage de haut-débit répondant à des exigences élevées d'un nombre de *reads* minimum pour espérer détecter des espèces rares. Ainsi même si les utilisateurs peuvent être réservés sur l'utilisation de prestation, cela reste une bonne option pour un déploiement important d'un programme de surveillance. En revanche, **le cahier des charges doit être établi avec précision** afin que les différents participants, qui peuvent utiliser des prestations à différentes étapes selon leur qualification et leur structure, obtiennent des données comparables.

Ce cahier des charges (étroitement lié au protocole) doit être établi **pour toutes les étapes, du terrain à l'analyse des données (bioinformatique et biostatistique) en passant par les étapes d'acquisition des données moléculaires**, chacune ayant une influence sur le résultat final. Il doit être aussi établi en fonction des objectifs à atteindre et des recommandations dans les articles de référence (ex. complémentarité des marqueurs, complémentarité des substrats etc.). Un point de vigilance ici est une demande de transparence vis-à-vis du prestataire de service quant à la méthode (sur le terrain, moléculaire et bio-informatique) et aux données. En effet, les données brutes, et en particulier les séquences issues de l'étape de séquençage haut-débit doivent pouvoir être obtenues par les usagers. En effet, les bases de données de référence ne cessent d'évoluer et il est important que les données de séquençage puissent être ré-analysées au stade de l'assignation taxonomique.

S'attaquer de façon collégiale et collaborative aux angles morts et aux verrous majeurs

Deux angles morts ressortent des analyses effectuées concernant les habitats et les cibles biologiques. Il conviendra de les intégrer en fonction des objectifs, notamment **les zones aquacoles**, en particulier pour la détection de nouvelles ENI et **les habitats naturels** pour la distribution et la dispersion des ENI.

Concernant le metabarcoding, un des verrous majeurs est la disponibilité de base de données de référence robuste et appropriée aux objectifs. **La constitution de cette base est une priorité absolue**. Sur ce point, un point de vigilance est que l'acquisition d'une séquence sur un voucher bien identifié ne garantit en aucune façon que cette séquence soit une bonne référence de metabarcoding pour plusieurs raisons, dont le fait que : 1) les amorces utilisées par metabarcoding ne ciblent pas nécessairement la zone diagnostique de la séquence produite dans un objectif de barcoding (les fragments générés par metabarcoding peuvent être décalés ou trop courts), 2) d'autres espèces peuvent avoir des séquences identiques ou trop similaires (absence de « barcoding gap »). Fouille de données existantes et acquisition de nouvelles références sont nécessaires et doivent être réalisées simultanément.

Créer un centre de ressources dédié animé par un comité d'experts

Dans un objectif à la fois d'adhésion des parties prenantes mais aussi pour veiller à la bonne mise en œuvre des protocoles, **des ressources sont à mettre à disposition des acteurs**, notamment des guides de bonne pratique, des protocoles, des bases de données de référence fiables et validées etc. Ce centre de ressources permettrait aussi de mettre en accès les avancées technologiques (veille).

Permettre le dialogue entre experts et non experts, au sein et hors du monde académique

Avec l'objectif 1) de favoriser **l'accompagnement des acteurs** hors du monde académique, pour mettre en œuvre ou mobiliser les ressources nécessaires pour la mise en œuvre de ces approches, et 2) répondre de façon effective aux demandes opérationnelles, un dialogue et une concertation doivent être favorisés entre toutes les parties prenantes, du monde académique comme non académique. Le

centre de ressources pourrait en être un des moteurs à l’instar de ce qui est réalisé au sein du Centre de Ressources Espèces Exotiques Envahissantes.

Avoir une action coordonnée et incitative à une échelle nationale

De nombreux acteurs, et en particulier les non-utilisateurs intéressés par ces approches, ont souligné leur souhait d’inscrire leur démarche dans un réseau coordonné et où ces actions seraient reconnues pertinentes. **L’animation de ce programme de surveillance auprès de l’ensemble de ces acteurs est donc également un pilier majeur.**

En guise de conclusion, il est nécessaire d’insister sur la valeur ajoutée des approches ADNe/ADNa pour le suivi et la surveillance des ENI. Elles sont des approches complémentaires aux méthodes traditionnelles, ne détectant pas tout ce que ces dernières détectent mais permettant aussi de détecter beaucoup d’espèces indétectables autrement. Elles permettent une pression d’observation inégalée. Elles sont donc pertinentes pour le suivi/surveillance des ENI. La mise en place d’un programme de surveillance des ENI par ces approches dans le cadre de la DCSMM fait pleinement sens, et d’ailleurs de plus en plus de « remontées » d’observations sont réalisées chez nos partenaires Européens par ces approches (FV, obs. pers. au WGITMO du CIEM). Les technologies sur lesquelles elles sont basées sont encore en évolution ; le programme de surveillance devra être adaptatif. Mais les infrastructures et les ressources sont présentes sur le territoire national pour les rendre opérantes dès à présent, à court ou à moyen termes selon les objectifs, dans le cadre d’une action coordonnée. Ces approches sont mûres, leurs limites et les risques associés bien connus et leur consolidation est en cours dans de nombreux domaines relatifs à la connaissance et au suivi de la biodiversité. Les approches ADNe/ADNa répondent ainsi très bien aux principes proposés pour la surveillance DCSMM par le Joint Research Centre (Figure III.2), ici pour la surveillance des ENI.

Box 1

The principles of monitoring as defined by the Joint Research Centre to help Member States implementing the Marine Strategy Framework Directive [11].

1. “*Adequacy*”: the programme should provide the information required to determine if GES has been attained or maintained.
2. “*Coordination and coherence*”: Member States should establish agreed monitoring procedures, especially with reference to those part of the same sub-region or region. This would help increasing the coherence of extracted data and boosting collaboration among Member States.
3. “*Integration of existing monitoring*”: when possible, Member States should integrate new monitoring programmes and methods with the ones already in force to increase the efficiency and reduce the costs.
4. “*Data architecture and interoperability*”: the data should ideally be interoperable between Member States, especially if part of the same region, and shared in common datasets.
5. “*The concept of adaptive monitoring programs*”: monitoring programs should be designed and implemented with an adaptive approach, meaning that they should be adjusted depending on the emerging of new pressures on marine environments (e.g., the previously unknown consequences of climate change) and/or the elimination of others.
6. “*Linkage between monitoring and assessment needs, including the use of risk-based approach and, where appropriate, the precautionary principle*”: in order for the programmes to be efficient, Member States should monitor on the basis of the initial assessment and its results. “They do not have to monitor everything, everywhere and with the same frequency” [11].
7. “*Consideration of the differences in scientific understanding for each descriptor*”: Since the scientific knowledge might be less developed for some descriptors compared to others and since some descriptors are not addressed from any other instrument of the EU law, their monitoring might require more resources and interest.

Figure III.2. Illustration issue de l’article de revue de Capurso et al., (2023), intitulé « Transforming marine monitoring: Using eDNA metabarcoding to improve the monitoring of the Mediterranean Marine Protected Areas network » présentant les principes proposé pour la surveillance DCSMM par le Joint Research Centre.

Références bibliographiques citées dans le texte

- Ardura, A., Fernandez, S., Haguenaer, A., Planes, S., & Garcia-Vazquez, E. (2021). Ship-driven biopollution: How aliens transform the local ecosystem diversity in Pacific islands. *Mar Pollut Bull*, 166, 112251. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112251.
- Bailey, S. A., Brown, L., Campbell, M. L., Canning-Clode, J., Carlton, J. T., Castro, N., . . . Hussey, N. (2020). Trends in the detection of aquatic non-indigenous species across global marine, estuarine and freshwater ecosystems: A 50-year perspective. *Diversity and Distributions*, 26(12), 1780-1797. doi:10.1111/ddi.13167.
- Blackman, R., Couton, M., Keck, F., Kirschner, D., Carraro, L., Cereghetti, E., . . . Altermatt, F. (2024). Environmental DNA: The next chapter. *Molecular Ecology*, e17355. doi:10.1111/mec.17355.
- 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. doi:10.1016/j.marpol.2023.105807.
- Cartier, S., Rey, A., Delesalle, M., & Thiriet, P. (2022). *Webinaire ADNe – 25 novembre 2021. Synthèse de la journée de réflexion sur le potentiel des méthodes basées sur l'ADN environnemental pour la surveillance et l'évaluation de la biodiversité marine dans le cadre des politiques publiques.*
- Couton, M., Lévêque, L., Daguin-Thiébaud, C., Comtet, T., & Viard, F. (2022). Water eDNA metabarcoding is effective in detecting non-native species in marinas, but detection errors still hinder its use for passive monitoring. *Biofouling*, 38(4), 367-383. doi:10.1080/08927014.2022.2075739.
- Duarte, S., Vieira, P. E., Lavrador, A. S., & Costa, F. O. (2021). Status and prospects of marine NIS detection and monitoring through (e)DNA metabarcoding. *Science of the Total Environment*, 751, 141729. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141729>.
- Fonseca, V. G., Carvalho, G. R., Sung, W., Johnson, H. F., Power, D. M., Neill, S. P., . . . Creer, S. (2010). Second-generation environmental sequencing unmasks marine metazoan biodiversity. *Nat Commun*, 1, 98. doi:http://www.nature.com/ncomms/journal/v1/n7/supinfo/ncomms1095_S1.html.
- IPBES. (2019). *Summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services.* (J. S. S. Díaz, E. S. Brondizio E.S., H. T. Ngo, M. Guèze, J. Agard, A. Arneth, P. Balvanera, K. A. Brauman, S. H. M. Butchart, K. M. A. Chan, L. A. Garibaldi, K. Ichii, J. Liu, S. M. Subramanian, G. F. Midgley, P. Miloslavich, Z. Molnár, D. Obura, A. Pfaff, S. Polasky, A. Purvis, J. Razzaque, B. Reyers, R. Roy Chowdhury, Y. J. Shin, I. J. Visseren-Hamakers, K. J. Willis, and C. N. Zayas Ed.). Bonn, Germany: IPBES secretariat.
- Jarman, S., Ackermann, F., Marnane, M., Berry, O., Bunce, M., Dawkins, K., . . . Harvey, E. (2024). Research horizons for invasive marine species detection with eDNA/eRNA. *Biological Invasions*, 26(11), 3715-3731. doi:10.1007/s10530-024-03406-2.
- Lacoeuilhe, A., Hérard, K., Poncet, L., & Touroult, J. (2024). *Intérêts et enjeux de l'utilisation de l'ADN environnemental pour l'inventaire, le suivi et la surveillance de la biodiversité des milieux dulcicoles, marins et terrestres.*
- Lavrador, A. S., Amaral, F. G., Moutinho, J., Vieira, P. E., Costa, F. O., & Duarte, S. (2024). Comprehensive DNA metabarcoding-based detection of non-indigenous invertebrates in recreational marinas through a multi-substrate approach. *Mar Environ Res*, 200, 106660. doi:10.1016/j.marenvres.2024.106660.
- Leray, M., Knowlton, N., & Machida, R. J. (2022). MIDORI2: A collection of quality controlled, preformatted, and regularly updated reference databases for taxonomic assignment of eukaryotic mitochondrial sequences. *Environmental DNA*, 4(4), 894-907. doi:10.1002/edn3.303.
- Leray, M., Yang, J. Y., Meyer, C. P., Mills, S. C., Agudelo, N., Ranwez, V., . . . Machida, R. J. (2013). A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity: application for characterizing coral reef fish gut contents. *Frontiers in Zoology*, 10(1), 1-14. doi:10.1186/1742-9994-10-34.
- Maiello, G., Talarico, L., Brodie, C., Carpentieri, P., Sbrana, A., Shum, P., . . . Russo, T. (2023). Net gain: Low-cost, trawl-associated eDNA samplers upscale ecological assessment of marine demersal communities. *Environmental DNA*, 6(1). doi:10.1002/edn3.389.
- Massé, C., Viard, F., Humbert, S., Antajan, E., Auby, I., Bachelet, G., . . . Curd, A. (2023). An Overview of Marine Non-Indigenous Species Found in Three Contrasting Biogeographic Metropolitan

- French Regions: Insights on Distribution, Origins and Pathways of Introduction. *Diversity*, 15(2). doi:10.3390/d15020161.
- Mineur, F., Cook, E. J., Minchin, D., Bohn, K., MacLeod, A., & Maggs, C. A. (2012). Changing coasts: marine aliens and artificial structures. In R. N. Gibson, R. J. A. Atkinson, J. D. M. Gordon, & R. N. Hughes (Eds.), *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review, Vol 50* (Vol. 50, pp. 189-233).
- Pitz, K., Closek, C., Djurhuus, A., Michisaki, R., Walz, K., Boehm, A., . . . Chavez, F. (2017). Rewards and Challenges of eDNA Sequencing with Multiple Genetic Markers for Marine Observation Programs. *Proceedings of TDWG*, 1. doi:10.3897/tdwgproceedings.1.20548.
- Porter, T. M., & Hajibabaei, M. (2018). Over 2.5 million COI sequences in GenBank and growing. *PLoS ONE*, 13(9), e0200177. doi:10.1371/journal.pone.0200177.
- Rey, A., Basurko, O. C., & Rodriguez-Ezpeleta, N. (2020). Considerations for metabarcoding-based port biological baseline surveys aimed at marine nonindigenous species monitoring and risk assessments. *Ecology and Evolution*, 10(5), 2452-2465. doi:10.1002/ece3.6071.
- Rey, A., Carney, K. J., Quinones, L. E., Pagenkopp Lohan, K. M., Ruiz, G. M., Basurko, O. C., & Rodriguez-Ezpeleta, N. (2019). Environmental DNA Metabarcoding: A Promising Tool for Ballast Water Monitoring. *Environ Sci Technol*, 53(20), 11849-11859. doi:10.1021/acs.est.9b01855.
- Sato, Y., Miya, M., Fukunaga, T., Sado, T., & Iwasaki, W. (2018). MitoFish and MiFish Pipeline: A Mitochondrial Genome Database of Fish with an Analysis Pipeline for Environmental DNA Metabarcoding. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1553-1555. doi:10.1093/molbev/msy074.
- Tagliabue, A., Matterson, K. O., Ponti, M., Turicchia, E., Abbiati, M., & Costantini, F. (2023). Sediment and bottom water eDNA metabarcoding to support coastal management. *Ocean & Coastal Management*, 244. doi:10.1016/j.ocecoaman.2023.106785.
- Viard, F., Roby, C., Turon, X., Bouchemousse, S., & Bishop, J. (2019). Cryptic diversity and database errors challenge non-indigenous species surveys: An illustration with *Botrylloides* spp. in the English Channel and Mediterranean Sea. *Frontiers in Marine Science*, 6(615). doi:10.3389/fmars.2019.00615.
- Zenetos, A., Tsiamis, K., Galanidi, M., Carvalho, N., Bartilotti, C., Canning-Clode, J., . . . Outinen, O. (2022). Status and trends in the rate of introduction of marine non-indigenous species in European seas. *Diversity*, 14(12), 1077-1126. doi:10.3390/d14121077.
- Zhan, A. B., Hulak, M., Sylvester, F., Huang, X., Adebayo, A. A., Abbott, C. L., . . . MacIsaac, H. J. (2013). High sensitivity of 454 pyrosequencing for detection of rare species in aquatic communities. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(6), 558-565. doi:10.1111/2041-210x.12037.

Annexes

Annexe 1. Liste des 106 articles retenus par la recherche bibliographique : 81 articles codés pour les analyses, 3 articles non codés (texte complet non accessible) et 22 articles de synthèse, revues, perspectives

Ces articles sont tous issus de la revue systématique de la littérature décrite dans le texte principal sauf 7 articles indiqués en italique qui ont été ajoutés ensuite du fait de leur citation dans les articles codés pour la RSL.

Articles codés

- Agersnap, S., Sigsgaard, E. E., Jensen, M. R., Avila, M. D. P., Carl, H., Møller, P. R., . . . Thomsen, P. F. (2022). A National Scale “BioBlitz” Using Citizen Science and eDNA Metabarcoding for Monitoring Coastal Marine Fish. *Frontiers in Marine Science*, 9. doi:10.3389/fmars.2022.824100.
- Aglieri, G., Quattrocchi, F., Mariani, S., Baillie, C., Spatafora, D., Di Franco, A., . . . Milazzo, M. (2023). Fish eDNA detections in ports mirror fishing fleet activities and highlight the spread of non-indigenous species in the Mediterranean Sea. *Mar Pollut Bull*, 189, 114792. doi:10.1016/j.marpolbul.2023.114792.
- Andres, J., Czechowski, P., Grey, E., Saebi, M., Andres, K., Brown, C., . . . Lodge, D. M. (2023). Environment and shipping drive environmental DNA beta-diversity among commercial ports. *Mol Ecol*, 32(23), 6696-6709. doi:10.1111/mec.16888.
- Ardura, A. (2019). Species-specific markers for early detection of marine invertebrate invaders through eDNA methods: Gaps and priorities in GenBank as database example. *Journal for Nature Conservation*, 47, 51-57. doi:10.1016/j.jnc.2018.11.005.
- Ardura, A., Borrell, Y., Fernández, S., González Arenales, M., Martínez, J., & Garcia-Vazquez, E. (2020). Nuisance Algae in Ballast Water Facing International Conventions. Insights from DNA Metabarcoding in Ships Arriving in Bay of Biscay. *Water*, 12(8). doi:10.3390/w12082168.
- Ardura, A., Fernandez, S., Haguenaer, A., Planes, S., & Garcia-Vazquez, E. (2021). Ship-driven biopollution: How aliens transform the local ecosystem diversity in Pacific islands. *Mar Pollut Bull*, 166, 112251. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112251.
- Ardura, A., Fernandez, S., Planes, S., & Garcia-Vazquez, E. (2024). Environmental DNA for the surveillance of biosecurity threats in Mediterranean lagoons. *Mar Environ Res*, 199, 106601. doi:10.1016/j.marenvres.2024.106601.
- Atalah, J., Floerl, O., Pochon, X., Townsend, M., Tait, L., & Lohrer, A. M. (2019). The Introduced Fanworm, *Sabella spallanzanii*, Alters Soft Sediment Macrofauna and Bacterial Communities. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7. doi:10.3389/fevo.2019.00481.
- Azevedo, J., Antunes, J. T., Machado, A. M., Vasconcelos, V., Leao, P. N., & Froufe, E. (2020). Monitoring of biofouling communities in a Portuguese port using a combined morphological and metabarcoding approach. *Sci Rep*, 10(1), 13461. doi:10.1038/s41598-020-70307-4.
- Bae, S., Kim, P., Kim, H. J., & Choi, K.-H. (2023). Quantitative comparison between environmental DNA and surface coverage of *Ciona robusta* and *Didemnum vexillum*. *Marine Biology*, 170(4). doi:10.1007/s00227-023-04193-5.
- Bae, S., Kim, P., & Yi, C. H. (2023). Biodiversity and spatial distribution of ascidian using environmental DNA metabarcoding. *Mar Environ Res*, 185, 105893. doi:10.1016/j.marenvres.2023.105893.
- Bani, A., De Brauwere, M., Creer, S., Dumbrell, A. J., Limmon, G., Jompa, J., . . . Beger, M. (2020). Informing marine spatial planning decisions with environmental DNA *Tropical Ecosystems in the 21st Century* (pp. 375-407).
- Berry, T. E., Coghlan, M. L., Saunders, B. J., Richardson, A. J., Power, M., Harvey, E., . . . Bunce, M. (2023). A 3-year plankton DNA metabarcoding survey reveals marine biodiversity patterns in Australian coastal waters. *Diversity and Distributions*, 29(7), 862-878. doi:10.1111/ddi.13699.

- Bombin, S., Wysor, B., & Lopez-Bautista, J. M. (2021). Assessment of littoral algal diversity from the northern Gulf of Mexico using environmental DNA metabarcoding. *J Phycol*, *57*(1), 269-278. doi:10.1111/jpy.13087.
- Brand, S. C., Jeffs, A. G., von Ammon, U., & Zaiko, A. (2022). Assessing the presence, settlement and growth of the invasive Mediterranean fanworm, *Sabella spallanzanii*, on mussel farms. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *554*. doi:10.1016/j.jembe.2022.151767.
- Cananzi, G., Gregori, I., Martino, F., Li, T., Boscari, E., Camatti, E., . . . Zane, L. (2022). Environmental DNA metabarcoding reveals spatial and seasonal patterns in the fish community in the Venice Lagoon. *Frontiers in Marine Science*, *9*. doi:10.3389/fmars.2022.1009490.
- Castro-Cubillos, M. L., Taylor, J. D., Mastretta-Yanes, A., Benitez-Villalobos, F., & Islas-Villanueva, V. (2022). Monitoring of benthic eukaryotic communities in two tropical coastal lagoons through eDNA metabarcoding: a spatial and temporal approximation. *Sci Rep*, *12*(1), 10089. doi:10.1038/s41598-022-13653-9.
- Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. *Journal of Ocean University of China*, *20*(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
- Chiquillo, K. L., Wong, J. M., & Eirin-Lopez, J. M. (2024). Ecological forensic testing: Using multiple primers for eDNA detection of marine vertebrates in an estuarine lagoon subject to anthropogenic influences. *Gene*, *928*, 148720. doi:10.1016/j.gene.2024.148720.
- Couton, M., Comtet, T., Le Cam, S., Corre, E., & Viard, F. (2019). Metabarcoding on planktonic larval stages: an efficient approach for detecting and investigating life cycle dynamics of benthic aliens. *Management of Biological Invasions*, *10*(4), 657-689. doi:10.3391/mbi.2019.10.4.06.
- Couton, M., Leveque, L., Daguin-Thiebaut, C., Comtet, T., & Viard, F. (2022). Water eDNA metabarcoding is effective in detecting non-native species in marinas, but detection errors still hinder its use for passive monitoring. *Biofouling*, *38*(4), 367-383. doi:10.1080/08927014.2022.2075739.
- Crane, L. C., Goldstein, J. S., Thomas, D. W., Rexroth, K. S., & Watts, A. W. (2021). Effects of life stage on eDNA detection of the invasive European green crab (*Carcinus maenas*) in estuarine systems. *Ecological Indicators*, *124*. doi:10.1016/j.ecolind.2021.107412.
- Créach, V., Derveaux, S., Owen, K. R., Pitois, S., & Antajan, E. (2021). Use of environmental DNA in early detection of *Mnemiopsis leidyi* in UK coastal waters. *Biological Invasions*, *24*(2), 415-424. doi:10.1007/s10530-021-02650-0.
- Darling, J. A., Martinson, J., Pagenkopp Lohan, K. M., Carney, K. J., Pilgrim, E., Banerji, A., . . . Ruiz, G. M. (2020). Metabarcoding quantifies differences in accumulation of ballast water borne biodiversity among three port systems in the United States. *Sci Total Environ*, *749*, 141456. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.141456.
- Di Capua, I., Piredda, R., Mazzocchi, M. G., Zingone, A., & Fields, D. (2021). Metazoan diversity and seasonality through eDNA metabarcoding at a Mediterranean long-term ecological research site. *ICES Journal of Marine Science*, *78*(9), 3303-3316. doi:10.1093/icesjms/fsab059.
- Duarte, S., Vieira, P. E., & Costa, F. O. (2020). Assessment of species gaps in DNA barcode libraries of non-indigenous species (NIS) occurring in European coastal regions. *Metabarcoding and Metagenomics*, *4*. doi:10.3897/mbmg.4.55162. *Supplementaire*.
- Duprey, J., Gallego, R., Klinger, T., & Kelly, R. P. (2023). Environmental DNA reveals patterns of biological invasion in an inland sea. *PLoS One*, *18*(12), e0281525. doi:10.1371/journal.pone.0281525.
- Ellis, M. R., Clark, Z. S. R., Trembl, E. A., Brown, M. S., Matthews, T. G., Pocklington, J. B., . . . Sherman, C. D. H. (2022). Detecting marine pests using environmental DNA and biophysical models. *Sci Total Environ*, *816*, 151666. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.151666.
- Fernandez, S., Ardura, A., Georges, O., Martinez, J. L., Suarez-Menendez, M., Planes, S., & Garcia-Vazquez, E. (2022). Non-native species in the north Gulf of Aqaba (Red Sea) revealed from environmental DNA. *Frontiers in Marine Science*, *9*. doi:10.3389/fmars.2022.940889.
- Fernandez, S., Miller, D. L., Holman, L. E., Gittenberger, A., Ardura, A., Rius, M., & Mirimin, L. (2021). Environmental DNA sampling protocols for the surveillance of marine non-indigenous species in Irish coastal waters. *Mar Pollut Bull*, *172*, 112893. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112893.
- Fouet, M. P. A., Schweizer, M., Singer, D., Richirt, J., Quinchard, S., & Jorissen, F. J. (2024). Unravelling the distribution of three *Ammonia* species (Foraminifera, Rhizaria) in French Atlantic Coast estuaries using morphological and metabarcoding approaches. *Marine Micropaleontology*, *188*. doi:10.1016/j.marmicro.2024.102353.
- Gargan, L. M., Brooks, P. R., Vye, S. R., Ironside, J. E., Jenkins, S. R., Crowe, T. P., & Carlsson, J. (2021). The use of environmental DNA metabarcoding and quantitative PCR for molecular

- detection of marine invasive non-native species associated with artificial structures. *Biological Invasions*, 24(3), 635-648. doi:10.1007/s10530-021-02672-8.
- Gibson, T. I., Baillie, C., Collins, R. A., Wangensteen, O. S., Corrigan, L., Ellison, A., . . . Mariani, S. (2024). Environmental DNA reveals ecologically relevant spatial and temporal variation in fish assemblages between estuaries and seasons. *Ecological Indicators*, 165. doi:10.1016/j.ecolind.2024.112215.
- Gold, Z., Wall, A. R., Schweizer, T. M., Pentcheff, N. D., Curd, E. E., Barber, P. H., . . . Wetzer, R. (2022). A manager's guide to using eDNA metabarcoding in marine ecosystems. *PeerJ*, 10, e14071. doi:10.7717/peerj.14071.
- Hall, S., Stewart-Clark, S., & Kupriyanova, E. (2022). Spatial and temporal monitoring of invasive *Hydroides dianthus* (Verrill, 1873) (Annelida, Serpulidae) in Eel Lake, Argyle, Nova Scotia using a species-specific molecular assay. *Management of Biological Invasions*, 13(2), 326-343. doi:10.3391/mbi.2022.13.2.05.
- Hariz, D. Z. A., & Noor Adelyna, M. A. (2020). Environmental DNA (eDNA) Metabarcoding as a Sustainable Tool of Coastal Biodiversity Assessment *Universities as Living Labs for Sustainable Development* (pp. 211-225).
- Hartle-Mougiou, K., Gubili, C., Xanthopoulou, P., Kasapidis, P., Valiadi, M., & Gizeli, E. (2024). Development of a quantitative colorimetric LAMP assay for fast and targeted molecular detection of the invasive lionfish *Pterois miles* from environmental DNA. *Frontiers in Marine Science*, 11. doi:10.3389/fmars.2024.1358793.
- 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. *Sci Rep*, 9(1), 11559. doi:10.1038/s41598-019-47899-7.
- Holman, L. E., Parker-Nance, S., de Bruyn, M., Creer, S., Carvalho, G., & Rius, M. (2022). Managing human-mediated range shifts: understanding spatial, temporal and genetic variation in marine non-native species. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 377(1846), 20210025. doi:10.1098/rstb.2021.0025.
- Huhn, M., Madduppa, H. H., Khair, M., Sabrian, A., Irawati, Y., Anggraini, N. P., . . . Dias, P. J. (2019). Keeping up with introduced marine species at a remote biodiversity hotspot: awareness, training and collaboration across different sectors is key. *Biological Invasions*, 22(2), 749-771. doi:10.1007/s10530-019-02126-2.
- Ibabe, A., Menendez-Telena, D., Soto-Lopez, V., Ardura, A., Arias, A., Bartolome, M., . . . Garcia-Vazquez, E. (2024). New dockside eDNA based protocol to detect the seaweed *Asparagopsis armata* evaluated by stakeholders. *Mar Pollut Bull*, 201, 116259. doi:10.1016/j.marpolbul.2024.116259.
- Ibabe, A., Miralles, L., Carleos, C. E., Soto-Lopez, V., Menendez-Telena, D., Bartolome, M., . . . Borrell, Y. J. (2021). Building on gAMBI in ports for a challenging biological invasions scenario: Blue-gNIS as a proof of concept. *Mar Environ Res*, 169, 105340. doi:10.1016/j.marenvres.2021.105340.
- Ibabe, A., Rayon, F., Martinez, J. L., & Garcia-Vazquez, E. (2020). Environmental DNA from plastic and textile marine litter detects exotic and nuisance species nearby ports. *PLoS One*, 15(6), e0228811. doi:10.1371/journal.pone.0228811.
- Ip, Y. C. A., Tay, Y. C., Chang, J. J. M., Ang, H. P., Tun, K. P. P., Chou, L. M., . . . Meier, R. (2020). Seeking life in sedimented waters: Environmental DNA from diverse habitat types reveals ecologically significant species in a tropical marine environment. *Environmental DNA*, 3(3), 654-668. doi:10.1002/edn3.162. *Supplementaire*.
- Kim, P., Yoon, T. J., & Shin, S. (2020). Environmental DNA and Specific Primers for Detecting the Invasive Species *Ectopleura crocea* (Hydrozoa: Anthoathecata) in Seawater Samples. *Sustainability*, 12(6). doi:10.3390/su12062360.
- Kim, P., Yoon, T. J., & Shin, S. (2021). Monthly eDNA Monitoring of an Invasive Bryozoan, *Bugulina californica*, in Seawater Using Species-Specific Markers. *Animals (Basel)*, 11(7). doi:10.3390/ani11071966.
- Knudsen, S. W., Hesselsoe, M., Thaulow, J., Agersnap, S., Hansen, B. K., Jacobsen, M. W., . . . Andersen, J. H. (2022). Monitoring of environmental DNA from nonindigenous species of algae, dinoflagellates and animals in the North East Atlantic. *Sci Total Environ*, 821, 153093. doi:10.1016/j.scitotenv.2022.153093.
- Kume, M., Lavergne, E., Ahn, H., Terashima, Y., Kadowaki, K., Ye, F., . . . Kasai, A. (2021). Factors structuring estuarine and coastal fish communities across Japan using environmental DNA metabarcoding. *Ecological Indicators*, 121. doi:10.1016/j.ecolind.2020.107216.

- Lavrador, A. S., Amaral, F. G., Moutinho, J., Vieira, P. E., Costa, F. O., & Duarte, S. (2024). Comprehensive DNA metabarcoding-based detection of non-indigenous invertebrates in recreational marinas through a multi-substrate approach. *Mar Environ Res*, *200*, 106660. doi:10.1016/j.marenvres.2024.106660.
- LeBlanc, F., Belliveau, V., Watson, E., Coomber, C., Simard, N., DiBacco, C., . . . Gagné, N. (2020). Environmental DNA (eDNA) detection of marine aquatic invasive species (AIS) in Eastern Canada using a targeted species-specific qPCR approach. *Management of Biological Invasions*, *11*(2), 201-217. doi:10.3391/mbi.2020.11.2.03.
- Leite, B. R., Vieira, P. E., Teixeira, M. A. L., Lobo-Arteaga, J., Hollatz, C., Borges, L. M. S., . . . Costa, F. O. (2020). Gap-analysis and annotated reference library for supporting macroinvertebrate metabarcoding in Atlantic Iberia. *Regional Studies in Marine Science*, *36*. doi:10.1016/j.rsma.2020.101307. *Supplementaire*.
- Liu, Y., Wikfors, G. H., Rose, J. M., McBride, R. S., Milke, L. M., & Mercaldo-Allen, R. (2019). Application of Environmental DNA Metabarcoding to Spatiotemporal Finfish Community Assessment in a Temperate Embayment. *Frontiers in Marine Science*, *6*. doi:10.3389/fmars.2019.00674.
- Maggio, T., Cattapan, F., Falautano, M., Julian, D., Malinverni, R., Poloni, E., . . . Castriota, L. (2023). eDNA Metabarcoding Analysis as Tool to Assess the Presence of Non-Indigenous Species (NIS): A Case Study in the Bilge Water. *Diversity*, *15*(11). doi:10.3390/d15111117.
- Marques, V., Milhau, T., Albouy, C., Dejean, T., Manel, S., Mouillot, D., . . . Dutta, T. (2021). GAPeDNA: Assessing and mapping global species gaps in genetic databases for eDNA metabarcoding. *Diversity and Distributions*, *27*(10), 1880-1892. doi:10.1111/ddi.13142.
- Matejusova, I., Graham, J., Bland, F., Lacaze, J.-P., Herman, G., Brown, L., . . . Douglas, A. (2021). Environmental DNA Based Surveillance for the Highly Invasive Carpet Sea Squirt *Didemnum vexillum*: A Targeted Single-Species Approach. *Frontiers in Marine Science*, *8*. doi:10.3389/fmars.2021.728456.
- Miralles, L., Parrondo, M., Hernandez de Rojas, A., Garcia-Vazquez, E., & Borrell, Y. J. (2019). Development and validation of eDNA markers for the detection of *Crepidula fornicata* in environmental samples. *Mar Pollut Bull*, *146*, 827-830. doi:10.1016/j.marpolbul.2019.07.050.
- Mohammed-Geba, K., Sheir, S. K., El-Aziz Hamed, E. A., & Galal-Khallaf, A. (2020). Molecular and morphological signatures for extreme environmental adaptability of the invasive mussel *Brachidontes pharaonis* (Fischer, 1870). *Mol Cell Probes*, *53*, 101594. doi:10.1016/j.mcp.2020.101594.
- Muha, T. P., Skukan, R., Borrell, Y. J., Rico, J. M., Garcia de Leaniz, C., Garcia-Vazquez, E., & Consuegra, S. (2019). Contrasting seasonal and spatial distribution of native and invasive *Codium* seaweed revealed by targeting species-specific eDNA. *Ecol Evol*, *9*(15), 8567-8579. doi:10.1002/ece3.5379.
- Nardi, C. F., Fernández, D. A., Vanella, F. A., & Chalde, T. (2019). The expansion of exotic Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in the extreme south of Patagonia: an environmental DNA approach. *Biological Invasions*, *21*(4), 1415-1425. doi:10.1007/s10530-018-1908-8. *Supplementaire*.
- Naro-Maciel, E., Ingala, M. R., Werner, I. E., Reid, B. N., & Fitzgerald, A. M. (2022). COI amplicon sequence data of environmental DNA collected from the Bronx River Estuary, New York City. *Metabarcoding and Metagenomics*, *6*. doi:10.3897/mbmg.6.80139.
- Pagenkopp Lohan, K. (2019). Intact vs. homogenized subsampling: testing impacts of pre-extraction processing of multi-species samples on invasive species detection. *Management of Biological Invasions*, *10*(2), 324-341. doi:10.3391/mbi.2019.10.2.08. *Supplementaire*.
- Rey, A., Basurko, O. C., & Rodriguez-Ezpeleta, N. (2020). Considerations for metabarcoding-based port biological baseline surveys aimed at marine nonindigenous species monitoring and risk assessments. *Ecol Evol*, *10*(5), 2452-2465. doi:10.1002/ece3.6071.
- Rey, A., Carney, K. J., Quinones, L. E., Pagenkopp Lohan, K. M., Ruiz, G. M., Basurko, O. C., & Rodriguez-Ezpeleta, N. (2019). Environmental DNA Metabarcoding: A Promising Tool for Ballast Water Monitoring. *Environ Sci Technol*, *53*(20), 11849-11859. doi:10.1021/acs.est.9b01855.
- Scriver, M., von Ammon, U., Youngbull, C., Pochon, X., Stanton, J. L., Gemmell, N. J., & Zaiko, A. (2024). Drop it all: extraction-free detection of targeted marine species through optimized direct droplet digital PCR. *PeerJ*, *12*, e16969. doi:10.7717/peerj.16969.
- Simpson, T. J., Wellington, C. M., Lukehurst, S. S., Huerlimann, R., Veilleux, H., Snow, M., . . . McDonald, J. I. (2023). Development of a real-time PCR (qPCR) method for the identification of the invasive paddle crab *Charybdis japonica* (Crustacea, Portunidae). *PeerJ*, *11*, e15522. doi:10.7717/peerj.15522.

- Suarez-Menendez, M., Planes, S., Garcia-Vazquez, E., & Ardura, A. (2020). Early Alert of Biological Risk in a Coastal Lagoon Through eDNA Metabarcoding. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8. doi:10.3389/fevo.2020.00009.
- Tagliabue, A., Matterson, K. O., Ponti, M., Turicchia, E., Abbiati, M., & Costantini, F. (2023). Sediment and bottom water eDNA metabarcoding to support coastal management. *Ocean & Coastal Management*, 244. doi:10.1016/j.ocecoaman.2023.106785.
- van den Heuvel-Greve, M. J., van den Brink, A. M., Glorius, S. T., de Groot, G. A., Laros, I., Renaud, P. E., . . . Murk, A. J. (2021). Early detection of marine non-indigenous species on Svalbard by DNA metabarcoding of sediment. *Polar Biology*, 44(4), 653-665. doi:10.1007/s00300-021-02822-7.
- Vieira, P. E., Lavrador, A. S., Parente, M. I., Parretti, P., Costa, A. C., Costa, F. O., . . . Seymour, M. (2021). Gaps in DNA sequence libraries for Macaronesian marine macroinvertebrates imply decades till completion and robust monitoring. *Diversity and Distributions*, 27(10), 2003-2015. doi:10.1111/ddi.13305.
- von Ammon, U., Casanovas, P., Pochon, X., Zirngibl, M., Leonard, K., Smith, A., . . . Zaiko, A. (2023). Harnessing environmental DNA to reveal biogeographical patterns of non-indigenous species for improved co-governance of the marine environment in Aotearoa New Zealand. *Sci Rep*, 13(1), 17061. doi:10.1038/s41598-023-44258-5.
- von Ammon, U., Wood, S. A., Laroche, O., Zaiko, A., Lavery, S. D., Inglis, G. J., & Pochon, X. (2019). Linking Environmental DNA and RNA for Improved Detection of the Marine Invasive Fanworm *Sabella spallanzanii*. *Frontiers in Marine Science*, 6. doi:10.3389/fmars.2019.00621.
- Wang, X., Zhang, H., Lu, G., & Gao, T. (2022). Detection of an invasive species through an environmental DNA approach: The example of the red drum *Sciaenops ocellatus* in the East China Sea. *Sci Total Environ*, 815, 152865. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.152865.
- Weigand, H., Beermann, A. J., Ciampor, F., Costa, F. O., Csabai, Z., Duarte, S., . . . Ekrem, T. (2019). DNA barcode reference libraries for the monitoring of aquatic biota in Europe: Gap-analysis and recommendations for future work. *Sci Total Environ*, 678, 499-524. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.04.247. Supplementaire.
- Wesselmann, M., Geraldi, N. R., Marbà, N., Hendriks, I. E., Díaz-Rúa, R., & Duarte, C. M. (2022). eDNA Reveals the Associated Metazoan Diversity of Mediterranean Seagrass Sediments. *Diversity*, 14(7). doi:10.3390/d14070549.
- Westfall, K. M., Therriault, T. W., & Abbott, C. L. (2020). A new approach to molecular biosurveillance of invasive species using DNA metabarcoding. *Glob Chang Biol*, 26(2), 1012-1022. doi:10.1111/gcb.14886.
- Whitaker, J. M., Brower, A. L., & Janosik, A. M. (2021). Invasive lionfish detected in estuaries in the northern Gulf of Mexico using environmental DNA. *Environmental Biology of Fishes*, 104(11), 1475-1485. doi:10.1007/s10641-021-01177-6.
- Wong, M. K., Nakao, M., & Hyodo, S. (2020). Field application of an improved protocol for environmental DNA extraction, purification, and measurement using Sterivex filter. *Sci Rep*, 10(1), 21531. doi:10.1038/s41598-020-77304-7.
- Wood, S. A., Pochon, X., Laroche, O., von Ammon, U., Adamson, J., & Zaiko, A. (2019). A comparison of droplet digital polymerase chain reaction (PCR), quantitative PCR and metabarcoding for species-specific detection in environmental DNA. *Mol Ecol Resour*, 19(6), 1407-1419. doi:10.1111/1755-0998.13055.
- Yip, Z. T., Lim, C. S., Tay, Y. C., Tan, Y., Beng, S., Tun, K., . . . Huang, D. (2021). Environmental DNA detection of the invasive mussel *Mytella strigata* as a surveillance tool. *Management of Biological Invasions*, 12(3), 578-598. doi:10.3391/mbi.2021.12.3.05.
- Zaiko, A., Scheel, M., Schattschneider, J., von Ammon, U., Scriver, M., Pochon, X., & Pearman, J. K. (2023). Pest Alert Tool-a web-based application for flagging species of concern in metabarcoding datasets. *Nucleic Acids Res*, 51(W1), W438-W442. doi:10.1093/nar/gkad364.
- Zangaro, F., Saccomanno, B., Tzafesta, E., Bozzeda, F., Specchia, V., & Pinna, M. (2021). Current limitations and future prospects of detection and biomonitoring of NIS in the Mediterranean Sea through environmental DNA. *NeoBiota*, 70, 151-165. doi:10.3897/neobiota.70.71862.
- Zarceró, J., Antich, A., Rius, M., Wangensteen, O. S., & Turon, X. (2024). A new sampling device for metabarcoding surveillance of port communities and detection of non-indigenous species. *iScience*, 27(1), 108588. doi:10.1016/j.isci.2023.108588.
- Zirngibl, M., von Ammon, U., Pochon, X., & Zaiko, A. (2022). A Rapid Molecular Assay for Detecting the Mediterranean Fanworm *Sabella spallanzanii* Tried by Non-Scientist Users. *Frontiers in Marine Science*, 9. doi:10.3389/fmars.2022.861657.

Articles non codés (par manque de disponibilité du texte complet)

- Xu, C., Cai, J., Zhuang, Z., Ma, C., Liu, Y., Xie, S., & Shen, C. (2024). Investigation of fish diversity in the Xiamen Sea in spring using environmental DNA technology. *Marine Biodiversity*, 54. doi:10.1007/s12526-024-01447-3.
- Yang, C., Du, Y., Zeng, X., & Ni, G. (2024). Development and Testing of Species-Specific Primers for Detecting the Presence of the Northern Pacific Sea Star (*Asterias amurensis*) from Environmental DNA. *Mar Biotechnol (NY)*, 26(2), 215-222. doi:10.1007/s10126-024-10292-1.
- Yip, Z. T., Quek, Z. B. R., & Huang, D. (2023). Complementary broad-range mitochondrial markers improve eDNA characterization of marine metazoan diversity. *Marine Biodiversity*, 53(6), 76. doi:10.1007/s12526-023-01385-6.

Articles de revues, perspectives, opinions

- Bartolo, A. G., Zammit, G., Peters, A. F., & Küpper, F. C. (2020). The current state of DNA barcoding of macroalgae in the Mediterranean Sea: presently lacking but urgently required. *Botanica Marina*, 63(3), 253-272. doi:10.1515/bot-2019-0041.
- Chiesa, S., Azzurro, E., & Bernardi, G. (2019). The genetics and genomics of marine fish invasions: a global review. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 29(4), 837-859. doi:10.1007/s11160-019-09586-8.
- Clarke, L., Shaw, J., Suter, L., Atalah, J., Bergstrom, D., Biersma, E., . . . MacDonald, A. (2023). An expert-driven framework for applying eDNA tools to improve biosecurity in the Antarctic. *Management of Biological Invasions*, 14(3), 379-402. doi:10.3391/mbi.2023.14.3.01.
- Duarte, S., Simoes, L., & Costa, F. O. (2023). Current status and topical issues on the use of eDNA-based targeted detection of rare animal species. *Sci Total Environ*, 904, 166675. doi:10.1016/j.scitotenv.2023.166675.
- Duarte, S., Vieira, P. E., Lavrador, A. S., & Costa, F. O. (2021). Status and prospects of marine NIS detection and monitoring through (e)DNA metabarcoding. *Sci Total Environ*, 751, 141729. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.141729.
- Eble, J. A., Daly-Engel, T. S., DiBattista, J. D., Koziol, A., & Gaither, M. R. (2020). Marine environmental DNA: Approaches, applications, and opportunities. *Adv Mar Biol*, 86(1), 141-169. doi:10.1016/bs.amb.2020.01.001.
- Elías-Gutiérrez, M., Hubert, N., Collins, R. A., & Andrade-Sossa, C. (2021). Aquatic Organisms Research with DNA Barcodes. *Diversity*, 13(7). doi:10.3390/d13070306.
- Feio, M. J., Garcia-Reventós, A., Ardura, A., Calapez, A. R., Pujante, A. M., Mortágua, A., . . . Filipe, A. F. (2020). Advances in the use of molecular tools in ecological and biodiversity assessment of aquatic ecosystems. *Limnetica*, 39(1), 419-440. doi:10.23818/limn.39.27.
- Garlapati, D., Charankumar, B., Ramu, K., Madeswaran, P., & Ramana Murthy, M. V. (2019). A review on the applications and recent advances in environmental DNA (eDNA) metagenomics. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 18(3), 389-411. doi:10.1007/s11157-019-09501-4.
- Gilbey, J., Carvalho, G., Castilho, R., Coscia, I., Coulson, M. W., Dahle, G., . . . Volckaert, F. A. M. (2021). *Life in a drop: Sampling environmental DNA for marine fishery management and ecosystem monitoring*. *Marine Policy*, 124. doi:10.1016/j.marpol.2020.104331.
- Jarman, S., Ackermann, F., Marnane, M., Berry, O., Bunce, M., Dawkins, K., . . . Harvey, E. (2024). Research horizons for invasive marine species detection with eDNA/eRNA. *Biological Invasions*, 26(11), 3715-3731. doi:10.1007/s10530-024-03406-2.
- Joydas, T. V., Manokaran, S., Gopi, J., Rajakumar, J. P., Yu-Jia, L., Heinle, M., . . . Abuzaid, N. S. (2024). Advancing ecological assessment of the Arabian Gulf through eDNA metabarcoding: opportunities, prospects, and challenges. *Frontiers in Marine Science*, 11. doi:10.3389/fmars.2024.1276956.
- Kraus, R. (2023). Ballast Water Management in Ports: Monitoring, Early Warning and Response Measures to Prevent Biodiversity Loss and Risks to Human Health. *Journal of Marine Science and Engineering*, 11(11). doi:10.3390/jmse11112144. Review.
- Nagarajan, R. P., Bedwell, M., Holmes, A. E., Sanches, T., Acuña, S., Baerwald, M., . . . Schreier, A. (2022). Environmental DNA Methods for Ecological Monitoring and Biodiversity Assessment in Estuaries. *Estuaries and Coasts*, 45(7), 2254-2273. doi:10.1007/s12237-022-01080-y.

- Petit-Marty, N., Casas, L., & Saborido-Rey, F. (2023). State-of-the-art of data analyses in environmental DNA approaches towards its applicability to sustainable fisheries management. *Frontiers in Marine Science*, 10. doi:10.3389/fmars.2023.1061530.
- Ramey, A. M., McKeeman, C. M., Petrou, E. L., Menning, D. M., Russ, O. L., & López, J. A. (2024). Environmental DNA as a Tool for Better Understanding the Distribution, Abundance, And Health of Atlantic Salmon and Pacific Salmon. *Fisheries*, 49(4), 169-180. doi:10.1002/fsh.11038.
- Sahu, A., Kumar, N., Pal Singh, C., & Singh, M. (2023). Environmental DNA (eDNA): Powerful technique for biodiversity conservation. *Journal for Nature Conservation*, 71. doi:10.1016/j.jnc.2022.126325.
- Stranga, Y., & Katsanevakis, S. (2021). Eight years of BioInvasions Records: patterns and trends in alien and cryptogenic species records. *Management of Biological Invasions*, 12(2), 221-239. doi:10.3391/mbi.2021.12.2.01.
- Wee, A. K. S., Salmo Iii, S. G., Sivakumar, K., Then, A. Y. H., Basyuni, M., Fall, J., . . . Kajita, T. (2023). Prospects and challenges of environmental DNA (eDNA) metabarcoding in mangrove restoration in Southeast Asia. *Frontiers in Marine Science*, 10. doi:10.3389/fmars.2023.1033258.
- Zhang, M., Zou, Y., Xiao, S., & Hou, J. (2023). Environmental DNA metabarcoding serves as a promising method for aquatic species monitoring and management: A review focused on its workflow, applications, challenges and prospects. *Mar Pollut Bull*, 194(Pt A), 115430. doi:10.1016/j.marpolbul.2023.115430.

Annexe 2. Feuille de codage

Le tableau ci-dessous indique les domaines (champs thématiques), variables et leurs labels utilisés pour le codage des articles présentant des données primaires.

Domaines	Variable	Label
Contexte/Objectifs	Ambition générale	Recherche pure Associé à des questionnaires Suivi en lien avec les réglementations Objectif de gestions
	Typologie de recherche <i>Check eligibilité critère "données primaire"</i>	Acquisition de données Revue de littérature ou méta-analyse
	Objectifs de l'étude	Opinion et revue non systématique Revue systématique de littérature & Meta-analyse Protocoles d'échantillonnage/extraction Protocoles (mise au point, optimisation) d'obtention de données moléculaires Traitement bio-informatique Estimation des coûts Comparaison aux méthodes "traditionnelles" Extrapolation d'une étude ADNe précédente Évaluation de la biodiversité Recherche d'une espèce (à priori) Evaluation des ENI présentes Etudier les conséquences de la présence d'ENI (modif de communautés) Objectifs éducatifs ou de sensibilisation Objectifs de changement en terme de gestion ou réglementations Autre
Régions, milieux, échelle d'étude	Localisation <i>Zone d'étude</i>	France - Méditerranée France - Manche Ouest France - Manche Est-Mer du Nord France - Golfe de Gascogne Territoire Outre Mer Pacifique Territoire Outre Mer Atlantique Territoire Outre Mer Indien Etranger - Atlantique Etranger - Méditerranée Etranger - Pacifique Etranger - Océan Indien Etranger - Austral Etranger - Arctique Autre (non exclusivement marin) Général NA
	Echelle spatiale	micro (ex. une baie) meso (ex. un linéaire côtier) macro (à l'échelle d'une mer ou d'un océan) global (Earth)
	Echelle temporelle	Ponctuel <1 an (ex. effet saisonnier) >1 an <5 ans (ex. suivi sur 5 ans, repet d'expérience) > 5 ans NA
	Habitat	Naturel (in situ) Artificiel (in situ) Mesocosme sensu lato Autre ex-situ
	Naturel <i>si naturel dans la question précédente</i>	Estuaire, lagune, delta, étangs (eaux saumâtres) Zone intertidale Côtier Hauturier Lentique NA
	Artificiel <i>si artificiel dans la question précédente</i>	Zone portuaire (digues, pontons, bouées, cordes, échelles, ect.) Bateau (fouling, eau de ballaste, bilge water, mooring) Zone aquacole (on- off-shore) Off-shore - secteur énergie (éoliens, pétrolier, cables, forage, etc.) Récifs artificiels Autre

	NA	
Méthode: Echantillonnage & Biologie moléculaire	Localisation pour acquisition ADN ou données	in-situ (ADN) in-situ (ADN & détection) ex-situ (post-échantillonnage)
	Approche	Ciblée Non ciblée
	Méthode	PCR ex-situ qPCR/ real-time PCR dPCR/ddPCR ex-situ dPCR/ddPCR in-situ PCR/real-timePCR in-situ Autre (comment à faire) NA Autre (comment à faire) Metabarcoding (extraction ADN) Metabarcoding (extraction ARN) NA Autre (comment à faire)
	Groupe biologique	Algues Plantes Animaux - vertébrés (poissons, mammif marin...) Animaux - invertébrés NA (ex. revue généraliste)
	Phylum (Class)	
	Espèce(s) ciblée(s)	
	Type d'ADN environnemental	ADNe ADNa NA
	Substrat échantillonné <i>Type d'échantillonnage utilisé dans l'étude.</i>	Eau Bulk - Grattage Bulk - Filet Sédiments Organismes Autres NA
	Outil de prélèvement	Filtration Filet plancton Filet chalut Carotte/benne Échantillonnage direct Collecteurs passifs (panels) / pièges Grattage Autre NA
	Volume d'eau filtré <i>Si eau dans réponse précédente</i>	en L NA
	Volume ou poids du substrat échantillonné <i>Si sédiments ou massal dans réponse précédent</i>	en g NA
	Nombre de replicats techniques	
	Conservation post-échantillonnage	Congélation Réfrigération Éthanol Silice STE Longmire CTAB

	Autre NA
	Temps entre échantillonnage et extraction
	Méthode d'extraction Méthode maison (phénol) Méthode maison (CTAB) Kit Commerciaux NA
	Kit commercial utilisé <i>si kit commercial dans la question précédente</i>
	Gène ciblé 12S rRNA Mitochondrial 16S rRNA Mitochondrial 18S rRNA Nucléaire Cytochrome c Oxidase I (COI) Internal Transcribed Spacer (ITS) Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase large subunit (rbcl) Autre NA
	18S (région)
	Nom Amorces
	References Amorces
	Plateforme de séquençage Illumina MinION - nanopore Ion Torrent PacBio Autre NA
Bio informatique	Pipeline utilisée OBITOOLS SAMBA FROGS Non mentionnée Autre NA
	Denoising/clustering Denoising Clustering NA
	Niveau identification molec ASVs OTUs Taxons NA
	Assignation taxonomique NCBI/GENBANK ENA BOLD SILVA MIDORI PR2 Mitofish Privée - de novo "Custom" - public curated &/or additional seq Commerciale Inconnue Autre NA
	Validation des résultats Contrôle terrain/morpho Contrôle positif Contrôle négatif Réplication

Prestation	Prestation	Echantillonnage Extraction ADN Première PCR ou premières étapes BM avant séquençage/génotypage Intégralité BM post ADN et avant séquençage Séquençage ou génotypage Traitement bio-informatique Analyses statistique Aucune
Bilan	Succès d'identification d'ENI (ciblée ou metab	Oui Non NA
	Nombre d'ENI détectées (metabar) <i>Si oui dans question précédente</i>	
	Faux positifs identifiés	Oui Non non précisé NA
	Faux négatifs identifiés	Oui Non
		non précisé NA
	Classe des ENI identifiés	
	Limites de la méthode discutées	Oui Non NA
	Limites identifiées	Résolution taxonomique Lacunes base de données Problèmes de biologie moléculaire (e.g. inhibition, primer dimers) Problématiques liées à l'ADNe (dégradation, dispersion, etc) Sélectivité des espèces identifiées par rapport au substrat échantillonné Pas intéressant par rapport aux méthodes traditionnelles Données qualitatives mais pas quantitatives (abondance) Coût Quantité/diversité des espèces limitées à cause d'un seul gène ciblé Autre
	Points positifs de la méthode discutés	Oui Non NA
Points positifs identifiés	Identification d'espèces cryptiques/rares/larvaires Identification d'espèces non observées Déteçtabilité d'espèces élevée Potentiel d'analyse in-situ Spécificité et sensibilité Coût Répétabilité Résolution taxonomique Bonne valeur ajoutée par rapport aux méthodes traditionnelles Facilité	

Annexe 3. Liste des espèces citées dans les études présentées dans les 81 articles analysés

Espece ciblée a priori	Nombre d'article	Nombre d'article utilisant une approche ciblée	Nombre d'article utilisant une approche non ciblée
<i>Ammonia confertitesta</i>	1	0	1
<i>Ascidiella aspersa</i>	1	1	0
<i>Asparagopsis armata</i>	1	1	0
<i>Asterias amurensis</i>	1	1	0
<i>Bonnemaisonia hamifera</i>	1	1	0
<i>Botrylloides violaceus</i>	1	1	0
<i>Botryllus schlosseri</i>	1	1	0
<i>Brachidontes pharaonis</i>	1	1	0
<i>Bugula neritina</i>	1	1	0
<i>Bugulina californica</i>	1	1	0
<i>Caprella mutica</i>	1	1	0
<i>Carcinus maenas</i> ⁽¹⁾	1	1	1
<i>Charybdis (Charybdis) japonica</i>	1	1	0
<i>Ciona intestinalis</i>	1	1	0
<i>Ciona robusta</i>	2	1	1
<i>Clavelina lepadiformis</i>	1	0	1
<i>Codium fragile</i>	1	1	0
<i>Colpomenia peregrina</i>	1	1	0
<i>Crepidula fornicata</i>	1	1	0
<i>Didemnum vexillum</i> ⁽¹⁾	4	4	1
<i>Diplosoma listerianum</i>	1	1	0
<i>Ectopleura crocea</i>	1	1	0
<i>Eriocheir sinensis</i>	1	1	0
<i>Halophila stipulacea</i>	1	0	1
<i>Hydroides dianthus</i>	1	1	0
<i>Karenia mikimotoi</i>	1	1	0
<i>Magallana gigas</i>	1	1	0
<i>Membranipora membranacea</i>	1	1	0
<i>Microcosmus squamiger</i>	1	0	1
<i>Mnemiopsis leidyi</i>	2	2	0
<i>Mya arenaria</i>	1	1	0
<i>Mytella strigata</i>	1	1	0
<i>Neogobius melanostomus</i>	1	1	0
<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	1	1	0
<i>Oncorhynchus keta</i>	1	1	0
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	1	1	0
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	1	1	0
<i>Prorocentrum cordatum</i>	1	1	0
<i>Pseudochattonella farcimen</i>	1	1	0
<i>Pseudochattonella verruculosa</i>	1	1	0

<i>Pterois miles</i>	1	1	0
<i>Pterois spp.</i>	1	1	0
<i>Rhithropanopeus harrisii</i>	1	1	0
<i>Ruditapes philippinarum</i> ⁽¹⁾	1	1	1
<i>Sabella spallanzanii</i> ⁽²⁾	5	5	2
<i>Sciaenops ocellatus</i>	1	1	0
<i>Styela clava</i>	2	2	0
<i>Styela plicata</i>	1	0	0
<i>Undaria pinnatifida</i>	1	1	0

(1) espèce cible étudiée dans un article par les deux approches (somme sur les deux approches supérieure au nombre d'études)

(2) espèce cible étudiée dans 2 articles par les deux approches (somme sur les deux approches supérieure au nombre d'études)

Annexe 4. Liste d'ENI, identifiées par metabarcoding, dont la présence a été validée par une analyse morphologique et/ou une approche ciblée

Ces ENI étaient déjà connues dans la région d'étude mais pas dans le lieu d'étude

Classe de l'ENI	Espèce	Déjà connue sur la zone d'étude	1 ^{ère} identification sur la zone d'étude	Pays	Source
Ascidacea	<i>Ascidella aspersa</i>	Oui	-	Canada	LeBlanc, F., Belliveau, V., Watson, E., Coomber, C., Simard, N., DiBacco, C., . . . Gagné, N. (2020). Environmental DNA (eDNA) detection of marine aquatic invasive species (AIS) in Eastern Canada using a targeted species-specific qPCR approach. <i>Management of Biological Invasions</i> , 11(2), 201-217. doi:10.3391/mbi.2020.11.2.03.
Ascidacea	<i>Asterocarpa humilis</i>	Oui	-	France	Couton, M., Comtet, T., Le Cam, S., Corre, E., & Viard, F. (2019). Metabarcoding on planktonic larval stages: an efficient approach for detecting and investigating life cycle dynamics of benthic aliens. <i>Management of Biological Invasions</i> , 10(4), 657-689. doi:10.3391/mbi.2019.10.4.06.
Ascidacea	<i>Asterocarpa humilis</i>	Oui	-	France	Couton, M., Leveque, L., Daguin-Thiebaut, C., Comtet, T., & Viard, F. (2022). Water eDNA metabarcoding is effective in detecting non-native species in marinas, but detection errors still hinder its use for passive monitoring. <i>Biofouling</i> , 38(4), 367-383. doi:10.1080/08927014.2022.2075739.
Ascidacea	<i>Botrylloides diegensis</i>	Oui	-	Corée du Sud	Bae, S., Kim, P., & Yi, C. H. (2023). Biodiversity and spatial distribution of ascidian using environmental DNA metabarcoding. <i>Mar Environ Res</i> , 185, 105893. doi:10.1016/j.marenvres.2023.105893.
Ascidacea	<i>Botrylloides diegensis</i>	Oui	-	France	Couton, M., Comtet, T., Le Cam, S., Corre, E., & Viard, F. (2019). Metabarcoding on planktonic larval stages: an efficient approach for detecting and investigating life cycle dynamics of benthic aliens. <i>Management of Biological Invasions</i> , 10(4), 657-689. doi:10.3391/mbi.2019.10.4.06.
Ascidacea	<i>Botrylloides diegensis</i>	Oui	-	France	Couton, M., Leveque, L., Daguin-Thiebaut, C., Comtet, T., & Viard, F. (2022). Water eDNA metabarcoding is effective in detecting non-native species in marinas, but detection errors still hinder its use for passive monitoring. <i>Biofouling</i> , 38(4), 367-383. doi:10.1080/08927014.2022.2075739.
Ascidacea	<i>Botrylloides violaceus</i>	Oui	-	France	Couton, M., Comtet, T., Le Cam, S., Corre, E., & Viard, F. (2019). Metabarcoding on planktonic larval stages: an efficient approach for detecting and investigating life cycle dynamics of benthic aliens. <i>Management of Biological Invasions</i> , 10(4), 657-689. doi:10.3391/mbi.2019.10.4.06.

Ascidiacea	<i>Botrylloides violaceus</i>	Oui	-	Royaume-Uni	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. <i>Sci Rep</i> , 9(1), 11559. doi:10.1038/s41598-019-47899-7.
Ascidiacea	<i>Botrylloides violaceus</i>	Oui	-	Canada	LeBlanc, F., Belliveau, V., Watson, E., Coomber, C., Simard, N., DiBacco, C., . . . Gagné, N. (2020). Environmental DNA (eDNA) detection of marine aquatic invasive species (AIS) in Eastern Canada using a targeted species-specific qPCR approach. <i>Management of Biological Invasions</i> , 11(2), 201-217. doi:10.3391/mbi.2020.11.2.03.
Ascidiacea	<i>Botryllus schlosseri</i>	Oui	-	Canada	LeBlanc, F., Belliveau, V., Watson, E., Coomber, C., Simard, N., DiBacco, C., . . . Gagné, N. (2020). Environmental DNA (eDNA) detection of marine aquatic invasive species (AIS) in Eastern Canada using a targeted species-specific qPCR approach. <i>Management of Biological Invasions</i> , 11(2), 201-217. doi:10.3391/mbi.2020.11.2.03
Ascidiacea	<i>Ciona intestinalis</i>	Oui	-	Canada	LeBlanc, F., Belliveau, V., Watson, E., Coomber, C., Simard, N., DiBacco, C., . . . Gagné, N. (2020). Environmental DNA (eDNA) detection of marine aquatic invasive species (AIS) in Eastern Canada using a targeted species-specific qPCR approach. <i>Management of Biological Invasions</i> , 11(2), 201-217. doi:10.3391/mbi.2020.11.2.03.
Ascidiacea	<i>Ciona robusta</i>	Oui	-	Corée du Sud	Bae, S., Kim, P., Kim, H. J., & Choi, K.-H. (2023). Quantitative comparison between environmental DNA and surface coverage of <i>Ciona robusta</i> and <i>Didemnum vexillum</i> . <i>Marine Biology</i> , 170(4). doi:10.1007/s00227-023-04193-5.
Ascidiacea	<i>Ciona robusta</i>	Oui	-	France	Couton, M., Leveque, L., Daguin-Thiebaut, C., Comtet, T., & Viard, F. (2022). Water eDNA metabarcoding is effective in detecting non-native species in marinas, but detection errors still hinder its use for passive monitoring. <i>Biofouling</i> , 38(4), 367-383. doi:10.1080/08927014.2022.2075739.
Ascidiacea	<i>Ciona robusta</i>	Oui	-	Afrique du Sud	Holman, L. E., Parker-Nance, S., de Bruyn, M., Creer, S., Carvalho, G., & Rius, M. (2022). Managing human-mediated range shifts: understanding spatial, temporal and genetic variation in marine non-native species. <i>Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci</i> , 377(1846), 20210025. doi:10.1098/rstb.2021.0025.
Ascidiacea	<i>Clavelina lepadiformis</i>	-	Oui	Afrique du Sud	Holman, L. E., Parker-Nance, S., de Bruyn, M., Creer, S., Carvalho, G., & Rius, M. (2022). Managing human-mediated range shifts: understanding spatial, temporal and genetic variation in marine non-native species. <i>Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci</i> , 377(1846), 20210025. doi:10.1098/rstb.2021.0025.
Ascidiacea	<i>Corella eumyota</i>	Oui	-	France	Couton, M., Comtet, T., Le Cam, S., Corre, E., & Viard, F. (2019). Metabarcoding on planktonic larval stages: an efficient approach for detecting and investigating life

					cycle dynamics of benthic aliens. <i>Management of Biological Invasions</i> , 10(4), 657-689. doi:10.3391/mbi.2019.10.4.06.
Ascidacea	<i>Corella eumyota</i>	Oui	-	France	Couton, M., Leveque, L., Daguin-Thiebaut, C., Comtet, T., & Viard, F. (2022). Water eDNA metabarcoding is effective in detecting non-native species in marinas, but detection errors still hinder its use for passive monitoring. <i>Biofouling</i> , 38(4), 367-383. doi:10.1080/08927014.2022.2075739.
Ascidacea	<i>Didemnum vexillum</i>	Oui	-	Corée du Sud	Bae, S., Kim, P., Kim, H. J., & Choi, K.-H. (2023). Quantitative comparison between environmental DNA and surface coverage of <i>Ciona robusta</i> and <i>Didemnum vexillum</i> . <i>Marine Biology</i> , 170(4). doi:10.1007/s00227-023-04193-5.
Ascidacea	<i>Didemnum vexillum</i>	Oui	-	France	Couton, M., Leveque, L., Daguin-Thiebaut, C., Comtet, T., & Viard, F. (2022). Water eDNA metabarcoding is effective in detecting non-native species in marinas, but detection errors still hinder its use for passive monitoring. <i>Biofouling</i> , 38(4), 367-383. doi:10.1080/08927014.2022.2075739.
Ascidacea	<i>Didemnum vexillum</i>	Oui	-	Royaume-Uni	Gargan, L. M., Brooks, P. R., Vye, S. R., Ironside, J. E., Jenkins, S. R., Crowe, T. P., & Carlsson, J. (2021). The use of environmental DNA metabarcoding and quantitative PCR for molecular detection of marine invasive non-native species associated with artificial structures. <i>Biological Invasions</i> , 24(3), 635-648. doi:10.1007/s10530-021-02672-8.
Ascidacea	<i>Didemnum vexillum</i>	Oui	-	Écosse	Matejusova, I., Graham, J., Bland, F., Lacaze, J.-P., Herman, G., Brown, L., . . . Douglas, A. (2021). Environmental DNA Based Surveillance for the Highly Invasive Carpet Sea Squirt <i>Didemnum vexillum</i> : A Targeted Single-Species Approach. <i>Frontiers in Marine Science</i> , 8. doi:10.3389/fmars.2021.728456.
Ascidacea	<i>Diplosoma listerianum</i>	Oui	-	Canada	LeBlanc, F., Belliveau, V., Watson, E., Coomber, C., Simard, N., DiBacco, C., . . . Gagné, N. (2020). Environmental DNA (eDNA) detection of marine aquatic invasive species (AIS) in Eastern Canada using a targeted species-specific qPCR approach. <i>Management of Biological Invasions</i> , 11(2), 201-217. doi:10.3391/mbi.2020.11.2.03.
Ascidacea	<i>Microcosmus squamiger</i>	Oui	-	Afrique du Sud	Holman, L. E., Parker-Nance, S., de Bruyn, M., Creer, S., Carvalho, G., & Rius, M. (2022). Managing human-mediated range shifts: understanding spatial, temporal and genetic variation in marine non-native species. <i>Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci</i> , 377(1846), 20210025. doi:10.1098/rstb.2021.0025.
Ascidacea	<i>Perophora japonica</i>	Oui	-	France	Couton, M., Leveque, L., Daguin-Thiebaut, C., Comtet, T., & Viard, F. (2022). Water eDNA metabarcoding is effective in detecting non-native species in marinas, but detection errors still hinder its use for passive monitoring. <i>Biofouling</i> , 38(4), 367-383. doi:10.1080/08927014.2022.2075739.
Ascidacea	<i>Styela clava</i>	Oui	-	France	Couton, M., Leveque, L., Daguin-Thiebaut, C., Comtet, T., & Viard, F. (2022). Water eDNA metabarcoding is effective in detecting non-native species in marinas, but

						detection errors still hinder its use for passive monitoring. <i>Biofouling</i> , 38(4), 367-383. doi:10.1080/08927014.2022.2075739.
Ascidacea	<i>Styela clava</i>	Oui	-	Canada		LeBlanc, F., Belliveau, V., Watson, E., Coomber, C., Simard, N., DiBacco, C., . . . Gagné, N. (2020). Environmental DNA (eDNA) detection of marine aquatic invasive species (AIS) in Eastern Canada using a targeted species-specific qPCR approach. <i>Management of Biological Invasions</i> , 11(2), 201-217. doi:10.3391/mbi.2020.11.2.03.
Ascidacea	<i>Styela clava</i>	Oui	-	Nouvelle-Zélande		Scriver, M., von Ammon, U., Youngbull, C., Pochon, X., Stanton, J. L., Gemmell, N. J., & Zaiko, A. (2024). Drop it all: extraction-free detection of targeted marine species through optimized direct droplet digital PCR. <i>PeerJ</i> , 12, e16969. doi:10.7717/peerj.16969.
Ascidacea	<i>Styela plicata</i>	Oui	-	Afrique du Sud		Holman, L. E., Parker-Nance, S., de Bruyn, M., Creer, S., Carvalho, G., & Rius, M. (2022). Managing human-mediated range shifts: understanding spatial, temporal and genetic variation in marine non-native species. <i>Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci</i> , 377(1846), 20210025. doi:10.1098/rstb.2021.0025.
Ascidacea	<i>Styela plicata</i>	Oui	-	Italie		Tagliabue, A., Matterson, K. O., Ponti, M., Turicchia, E., Abbiati, M., & Costantini, F. (2023). Sediment and bottom water eDNA metabarcoding to support coastal management. <i>Ocean & Coastal Management</i> , 244. doi:10.1016/j.ocecoaman.2023.106785.
Asteroidea	<i>Asterias amurensis</i>	-	Oui	Australie		Ellis, M. R., Clark, Z. S. R., Trembl, E. A., Brown, M. S., Matthews, T. G., Pocklington, J. B., . . . Sherman, C. D. H. (2022). Detecting marine pests using environmental DNA and biophysical models. <i>Sci Total Environ</i> , 816, 151666. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.151666.
Bivalvia	<i>Arcuatula senhousia</i>	Oui	-	Royaume-Uni		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. <i>Sci Rep</i> , 9(1), 11559. doi:10.1038/s41598-019-47899-7.
Bivalvia	<i>Brachidontes mutabilis</i>	Oui	-	France (Polynésie Française)		Ardura, A., Fernandez, S., Haguenaer, A., Planes, S., & Garcia-Vazquez, E. (2021). Ship-driven biopollution: How aliens transform the local ecosystem diversity in Pacific islands. <i>Mar Pollut Bull</i> , 166, 112251. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112251
Bivalvia	<i>Brachidontes pharaonis</i>	Oui	-	Égypte		Mohammed-Geba, K., Sheir, S. K., El-Aziz Hamed, E. A., & Galal-Khallaf, A. (2020). Molecular and morphological signatures for extreme environmental adaptability of the invasive mussel <i>Brachidontes pharaonis</i> (Fischer, 1870). <i>Mol Cell Probes</i> , 53, 101594. doi:10.1016/j.mcp.2020.101594.
Bivalvia	<i>Crassostrea gigas</i>	Oui	-	France		Couton, M., Comtet, T., Le Cam, S., Corre, E., & Viard, F. (2019). Metabarcoding on planktonic larval stages: an efficient approach for detecting and investigating life

					cycle dynamics of benthic aliens. <i>Management of Biological Invasions</i> , 10(4), 657-689. doi:10.3391/mbi.2019.10.4.06.
Bivalvia	<i>Crassostrea gigas</i>	Oui	-	Nouvelle-Zélande	von Ammon, U., Casanovas, P., Pochon, X., Zirngibl, M., Leonard, K., Smith, A., . . . Zaiko, A. (2023). Harnessing environmental DNA to reveal biogeographical patterns of non-indigenous species for improved co-governance of the marine environment in Aotearoa New Zealand. <i>Sci Rep</i> , 13(1), 17061. doi:10.1038/s41598-023-44258-5.
Bivalvia	<i>Ischadium recurvum</i>	Oui	-	France (Polynésie Française)	Ardura, A., Fernandez, S., Haguenaue, A., Planes, S., & Garcia-Vazquez, E. (2021). Ship-driven biopollution: How aliens transform the local ecosystem diversity in Pacific islands. <i>Mar Pollut Bull</i> , 166, 112251. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112251.
Bivalvia	<i>Magallana gigas</i>	Oui	-	Italie	Tagliabue, A., Matterson, K. O., Ponti, M., Turicchia, E., Abbiati, M., & Costantini, F. (2023). Sediment and bottom water eDNA metabarcoding to support coastal management. <i>Ocean & Coastal Management</i> , 244. doi:10.1016/j.ocecoaman.2023.106785.
Bivalvia	<i>Mya arenaria</i>	Oui	-	France	Couton, M., Comtet, T., Le Cam, S., Corre, E., & Viard, F. (2019). Metabarcoding on planktonic larval stages: an efficient approach for detecting and investigating life cycle dynamics of benthic aliens. <i>Management of Biological Invasions</i> , 10(4), 657-689. doi:10.3391/mbi.2019.10.4.06.
Bivalvia	<i>Mya arenaria</i>	Oui	-	France	Couton, M., Leveque, L., Daguin-Thiebaut, C., Comtet, T., & Viard, F. (2022). Water eDNA metabarcoding is effective in detecting non-native species in marinas, but detection errors still hinder its use for passive monitoring. <i>Biofouling</i> , 38(4), 367-383. doi:10.1080/08927014.2022.2075739.
Bivalvia	<i>Mytella strigata</i>	-	Oui	Singapour	Ip, Y. C. A., Tay, Y. C., Chang, J. J. M., Ang, H. P., Tun, K. P. P., Chou, L. M., . . . Meier, R. (2020). Seeking life in sedimented waters: Environmental DNA from diverse habitat types reveals ecologically significant species in a tropical marine environment. <i>Environmental DNA</i> , 3(3), 654-668. doi:10.1002/edn3.162.
Bivalvia	<i>Mytella strigata</i>	Oui	-	Singapour	Yip, Z. T., Lim, C. S., Tay, Y. C., Tan, Y., Beng, S., Tun, K., . . . Huang, D. (2021). Environmental DNA detection of the invasive mussel <i>Mytella strigata</i> as a surveillance tool. <i>Management of Biological Invasions</i> , 12(3), 578-598. doi:10.3391/mbi.2021.12.3.05.
Bivalvia	<i>Ruditapes philippinarum</i>	-	Oui	France	Couton, M., Comtet, T., Le Cam, S., Corre, E., & Viard, F. (2019). Metabarcoding on planktonic larval stages: an efficient approach for detecting and investigating life cycle dynamics of benthic aliens. <i>Management of Biological Invasions</i> , 10(4), 657-689. doi:10.3391/mbi.2019.10.4.06.
Bivalvia	<i>Ruditapes philippinarum</i>	Oui	-	France	Couton, M., Leveque, L., Daguin-Thiebaut, C., Comtet, T., & Viard, F. (2022). Water eDNA metabarcoding is effective in detecting non-native species in marinas, but

detection errors still hinder its use for passive monitoring. *Biofouling*, 38(4), 367-383. doi:10.1080/08927014.2022.2075739

Cephalopoda	<i>Paroctopus mercatoris</i>	Oui	-	France (Polynésie Française)	Ardura, A., Fernandez, S., Haguenaer, A., Planes, S., & Garcia-Vazquez, E. (2021). Ship-driven biopollution: How aliens transform the local ecosystem diversity in Pacific islands. <i>Mar Pollut Bull</i> , 166, 112251. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112251.
Dictyochophyceae	<i>Pseudochattonella verruculosa</i>	Oui	-	Danemark	Knudsen, S. W., Hesselsoe, M., Thaulow, J., Agersnap, S., Hansen, B. K., Jacobsen, M. W., . . . Andersen, J. H. (2022). Monitoring of environmental DNA from nonindigenous species of algae, dinoflagellates and animals in the North East Atlantic. <i>Sci Total Environ</i> , 821, 153093. doi:10.1016/j.scitotenv.2022.153093.
Elasmobranchii	<i>Carcharhinus melanopterus</i>	Non précisé		Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Elasmobranchii	<i>Dasyatis akajei</i>	Non précisé		Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Elasmobranchii	<i>Dasyatis bennettii</i>	Non précisé		Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Elasmobranchii	<i>Himantura uarnak</i>	Non précisé		Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Elasmobranchii	<i>Pristis microdon</i>	Non précisé		Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Elasmobranchii	<i>Rhinoptera javanica</i>	Non précisé		Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Elasmobranchii	<i>Stegostoma fasciatum</i>	Non précisé		Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.

Elasmobranchii	<i>Taeniurops meyeri</i>	Non précisé		Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Elasmobranchii	<i>Triaenodon obesus</i>	Non précisé		Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Florideophyceae	<i>Asparagopsis armata</i>	Oui	-	Espagne	Ibabe, A., Menendez-Telena, D., Soto-Lopez, V., Ardura, A., Arias, A., Bartolome, M., . . . Garcia-Vazquez, E. (2024). New dockside eDNA based protocol to detect the seaweed <i>Asparagopsis armata</i> evaluated by stakeholders. <i>Mar Pollut Bull</i> , 201, 116259. doi:10.1016/j.marpolbul.2024.116259.
Florideophyceae	<i>Leptosiphonia brodiei</i>	Oui	-	Portugal	Azevedo, J., Antunes, J. T., Machado, A. M., Vasconcelos, V., Leao, P. N., & Froufe, E. (2020). Monitoring of biofouling communities in a Portuguese port using a combined morphological and metabarcoding approach. <i>Sci Rep</i> , 10(1), 13461. doi:10.1038/s41598-020-70307-4.
Florideophyceae	<i>Solieria filiformis</i>	Oui	-	France (Polynésie Française)	Ardura, A., Fernandez, S., Haguenaer, A., Planes, S., & Garcia-Vazquez, E. (2021). Ship-driven biopollution: How aliens transform the local ecosystem diversity in Pacific islands. <i>Mar Pollut Bull</i> , 166, 112251. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112251.
Gastropoda	<i>Crepidula fornicata</i>	Oui	-	France	Couton, M., Comtet, T., Le Cam, S., Corre, E., & Viard, F. (2019). Metabarcoding on planktonic larval stages: an efficient approach for detecting and investigating life cycle dynamics of benthic aliens. <i>Management of Biological Invasions</i> , 10(4), 657-689. doi:10.3391/mbi.2019.10.4.06.
Gastropoda	<i>Crepidula fornicata</i>	Oui	-	France	Couton, M., Leveque, L., Daguin-Thiebaut, C., Comtet, T., & Viard, F. (2022). Water eDNA metabarcoding is effective in detecting non-native species in marinas, but detection errors still hinder its use for passive monitoring. <i>Biofouling</i> , 38(4), 367-383. doi:10.1080/08927014.2022.2075739.
Gastropoda	<i>Crepidula fornicata</i>	Oui	-	Royaume-Uni	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. <i>Sci Rep</i> , 9(1), 11559. doi:10.1038/s41598-019-47899-7.
Gastropoda	<i>Crepidula fornicata</i>	Oui	-	France, Espagne	Miralles, L., Parrondo, M., Hernandez de Rojas, A., Garcia-Vazquez, E., & Borrell, Y. J. (2019). Development and validation of eDNA markers for the detection of <i>Crepidula fornicata</i> in environmental samples. <i>Mar Pollut Bull</i> , 146, 827-830. doi:10.1016/j.marpolbul.2019.07.050.

Gastropoda	<i>Discodoris confusa</i>	Oui	-	France (Polynésie Française)	Ardura, A., Fernandez, S., Haguenaer, A., Planes, S., & Garcia-Vazquez, E. (2021). Ship-driven biopollution: How aliens transform the local ecosystem diversity in Pacific islands. <i>Mar Pollut Bull</i> , 166, 112251. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112251.
Gastropoda	<i>Monoplex comptus</i>	Oui	-	France (Polynésie Française)	Ardura, A., Fernandez, S., Haguenaer, A., Planes, S., & Garcia-Vazquez, E. (2021). Ship-driven biopollution: How aliens transform the local ecosystem diversity in Pacific islands. <i>Mar Pollut Bull</i> , 166, 112251. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112251.
Globothalamea	<i>Ammonia confertitesta</i>	Oui	-	France	Fouet, M. P. A., Schweizer, M., Singer, D., Richirt, J., Quinchard, S., & Jorissen, F. J. (2024). Unravelling the distribution of three Ammonia species (Foraminifera, Rhizaria) in French Atlantic Coast estuaries using morphological and metabarcoding approaches. <i>Marine Micropaleontology</i> , 188. doi:10.1016/j.marmicro.2024.102353.
Gymnolaemata	<i>Bugula neritina</i>	Oui	-	France	Couton, M., Comtet, T., Le Cam, S., Corre, E., & Viard, F. (2019). Metabarcoding on planktonic larval stages: an efficient approach for detecting and investigating life cycle dynamics of benthic aliens. <i>Management of Biological Invasions</i> , 10(4), 657-689. doi:10.3391/mbi.2019.10.4.06.
Gymnolaemata	<i>Bugula neritina</i>	Oui	-	France	Couton, M., Leveque, L., Daguin-Thiebaut, C., Comtet, T., & Viard, F. (2022). Water eDNA metabarcoding is effective in detecting non-native species in marinas, but detection errors still hinder its use for passive monitoring. <i>Biofouling</i> , 38(4), 367-383. doi:10.1080/08927014.2022.2075739.
Gymnolaemata	<i>Bugula neritina</i>	Oui	-	Royaume-Uni	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. <i>Sci Rep</i> , 9(1), 11559. doi:10.1038/s41598-019-47899-7.
Gymnolaemata	<i>Bugula neritina</i>	Oui	-	Nouvelle-Zélande	Scriver, M., von Ammon, U., Youngbull, C., Pochon, X., Stanton, J. L., Gemmell, N. J., & Zaiko, A. (2024). Drop it all: extraction-free detection of targeted marine species through optimized direct droplet digital PCR. <i>PeerJ</i> , 12, e16969. doi:10.7717/peerj.16969.
Gymnolaemata	<i>Bugulina californica</i>	Oui	-	Corée du Sud	Kim, P., Yoon, T. J., & Shin, S. (2021). Monthly eDNA Monitoring of an Invasive Bryozoan, <i>Bugulina californica</i> , in Seawater Using Species-Specific Markers. <i>Animals (Basel)</i> , 11(7). doi:10.3390/ani11071966.
Gymnolaemata	<i>Membranipora membranacea</i>	Oui	-	Canada	LeBlanc, F., Belliveau, V., Watson, E., Coomber, C., Simard, N., DiBacco, C., . . . Gagné, N. (2020). Environmental DNA (eDNA) detection of marine aquatic invasive species (AIS) in Eastern Canada using a targeted species-specific qPCR approach. <i>Management of Biological Invasions</i> , 11(2), 201-217. doi:10.3391/mbi.2020.11.2.03.
Gymnolaemata	<i>Watersipora subatra</i>	Oui	-	France	Couton, M., Comtet, T., Le Cam, S., Corre, E., & Viard, F. (2019). Metabarcoding on planktonic larval stages: an efficient approach for detecting and investigating life

					cycle dynamics of benthic aliens. <i>Management of Biological Invasions</i> , 10(4), 657-689. doi:10.3391/mbi.2019.10.4.06.
Gymnolaemata	<i>Watersipora subatra</i>	Oui	-	France	Couton, M., Leveque, L., Daguin-Thiebaut, C., Comtet, T., & Viard, F. (2022). Water eDNA metabarcoding is effective in detecting non-native species in marinas, but detection errors still hinder its use for passive monitoring. <i>Biofouling</i> , 38(4), 367-383. doi:10.1080/08927014.2022.2075739.
Gymnolaemata	<i>Watersipora subatra</i>	Oui	-	Royaume-Uni	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. <i>Sci Rep</i> , 9(1), 11559. doi:10.1038/s41598-019-47899-7.
Gymnolaemata	<i>Watersipora subtorquata</i>	Oui	-	Portugal	Azevedo, J., Antunes, J. T., Machado, A. M., Vasconcelos, V., Leao, P. N., & Froufe, E. (2020). Monitoring of biofouling communities in a Portuguese port using a combined morphological and metabarcoding approach. <i>Sci Rep</i> , 10(1), 13461. doi:10.1038/s41598-020-70307-4.
Hydrozoa	<i>Ectopleura crocea</i>	Oui	-	Corée du Sud	Kim, P., Yoon, T. J., & Shin, S. (2020). Environmental DNA and Specific Primers for Detecting the Invasive Species <i>Ectopleura crocea</i> (Hydrozoa: Anthoathecata) in Seawater Samples. <i>Sustainability</i> , 12(6). doi:10.3390/su12062360.
Malacostraca	<i>Caprella mutica</i>	Oui	-	Canada	LeBlanc, F., Belliveau, V., Watson, E., Coomber, C., Simard, N., DiBacco, C., . . . Gagné, N. (2020). Environmental DNA (eDNA) detection of marine aquatic invasive species (AIS) in Eastern Canada using a targeted species-specific qPCR approach. <i>Management of Biological Invasions</i> , 11(2), 201-217. doi:10.3391/mbi.2020.11.2.03.
Malacostraca	<i>Carcinus maenas</i>	Oui	-	États-Unis	Crane, L. C., Goldstein, J. S., Thomas, D. W., Rexroth, K. S., & Watts, A. W. (2021). Effects of life stage on eDNA detection of the invasive European green crab (<i>Carcinus maenas</i>) in estuarine systems. <i>Ecological Indicators</i> , 124. doi:10.1016/j.ecolind.2021.107412.
Malacostraca	<i>Planes minutus</i>	Oui	-	France (Polynésie Française)	Ardura, A., Fernandez, S., Haguenaer, A., Planes, S., & Garcia-Vazquez, E. (2021). Ship-driven biopollution: How aliens transform the local ecosystem diversity in Pacific islands. <i>Mar Pollut Bull</i> , 166, 112251. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112251.1
Malacostraca	<i>Synalpheus africanus</i>	Oui	-	France (Polynésie Française)	Ardura, A., Fernandez, S., Haguenaer, A., Planes, S., & Garcia-Vazquez, E. (2021). Ship-driven biopollution: How aliens transform the local ecosystem diversity in Pacific islands. <i>Mar Pollut Bull</i> , 166, 112251. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112251.
Phaeophyceae	<i>Undaria pinnatifida</i>	-	Oui	Australie	Ellis, M. R., Clark, Z. S. R., Treml, E. A., Brown, M. S., Matthews, T. G., Pocklington, J. B., . . . Sherman, C. D. H. (2022). Detecting marine pests using environmental DNA and biophysical models. <i>Sci Total Environ</i> , 816, 151666. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.151666.

Polychaeta	<i>Ficopomatus enigmaticus</i>	Oui	-	Royaume-Uni	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. <i>Sci Rep</i> , 9(1), 11559. doi:10.1038/s41598-019-47899-7.
Polychaeta	<i>Hydroides dianthus</i>	Oui	-	Canada	Hall, S., Stewart-Clark, S., & Kupriyanova, E. (2022). Spatial and temporal monitoring of invasive <i>Hydroides dianthus</i> (Verrill, 1873) (Annelida, Serpulidae) in Eel Lake, Argyle, Nova Scotia using a species-specific molecular assay. <i>Management of Biological Invasions</i> , 13(2), 326-343. doi:10.3391/mbi.2022.13.2.05.
Polychaeta	<i>Hydroides elegans</i>	Oui	-	Italie	Di Capua, I., Piredda, R., Mazzocchi, M. G., Zingone, A., & Fields, D. (2021). Metazoan diversity and seasonality through eDNA metabarcoding at a Mediterranean long-term ecological research site. <i>ICES Journal of Marine Science</i> , 78(9), 3303-3316. doi:10.1093/icesjms/fsab059.
Polychaeta	<i>Hydroides ezoensis</i>	Oui	-	Royaume-Uni	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. <i>Sci Rep</i> , 9(1), 11559. doi:10.1038/s41598-019-47899-7.
Polychaeta	<i>Perinereis anderssoni</i>	Oui	-	France (Polynésie Française)	Ardura, A., Fernandez, S., Haguenaer, A., Planes, S., & Garcia-Vazquez, E. (2021). Ship-driven biopollution: How aliens transform the local ecosystem diversity in Pacific islands. <i>Mar Pollut Bull</i> , 166, 112251. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112251.
Polychaeta	<i>Polydora cornuta</i>	Oui	-	Nouvelle-Zélande	von Ammon, U., Casanovas, P., Pochon, X., Zirngibl, M., Leonard, K., Smith, A., . . . Zaiko, A. (2023). Harnessing environmental DNA to reveal biogeographical patterns of non-indigenous species for improved co-governance of the marine environment in Aotearoa New Zealand. <i>Sci Rep</i> , 13(1), 17061. doi:10.1038/s41598-023-44258-5.
Polychaeta	<i>Pseudopolydora paucibranchiata</i>	Oui	-	Nouvelle-Zélande	von Ammon, U., Casanovas, P., Pochon, X., Zirngibl, M., Leonard, K., Smith, A., . . . Zaiko, A. (2023). Harnessing environmental DNA to reveal biogeographical patterns of non-indigenous species for improved co-governance of the marine environment in Aotearoa New Zealand. <i>Sci Rep</i> , 13(1), 17061. doi:10.1038/s41598-023-44258-5.
Polychaeta	<i>Sabella spallanzanii</i>	Oui	-	Nouvelle-Zélande	Atalah, J., Floerl, O., Pochon, X., Townsend, M., Tait, L., & Lohrer, A. M. (2019). The Introduced Fanworm, <i>Sabella spallanzanii</i> , Alters Soft Sediment Macrofauna and Bacterial Communities. <i>Frontiers in Ecology and Evolution</i> , 7. doi:10.3389/fevo.2019.00481.
Polychaeta	<i>Sabella spallanzanii</i>	Oui	-	Nouvelle-Zélande	Brand, S. C., Jeffs, A. G., von Ammon, U., & Zaiko, A. (2022). Assessing the presence, settlement and growth of the invasive Mediterranean fanworm, <i>Sabella spallanzanii</i> , on mussel farms. <i>Journal of Experimental Marine Biology and Ecology</i> , 554. doi:10.1016/j.jembe.2022.151767.

Polychaeta	<i>Sabella spallanzanii</i>	Oui	-	Nouvelle-Zélande	Scriver, M., von Ammon, U., Youngbull, C., Pochon, X., Stanton, J. L., Gemmell, N. J., & Zaiko, A. (2024). Drop it all: extraction-free detection of targeted marine species through optimized direct droplet digital PCR. <i>PeerJ</i> , 12, e16969. doi:10.7717/peerj.16969.
Polychaeta	<i>Sabella spallanzanii</i>	Oui	-	Nouvelle-Zélande	Wood, S. A., Pochon, X., Laroche, O., von Ammon, U., Adamson, J., & Zaiko, A. (2019). A comparison of droplet digital polymerase chain reaction (PCR), quantitative PCR and metabarcoding for species-specific detection in environmental DNA. <i>Mol Ecol Resour</i> , 19(6), 1407-1419. doi:10.1111/1755-0998.13055.
Polychaeta	<i>Sabella spallanzanii</i>	Oui	-	Nouvelle-Zélande	Zirngibl, M., von Ammon, U., Pochon, X., & Zaiko, A. (2022). A Rapid Molecular Assay for Detecting the Mediterranean Fanworm <i>Sabella spallanzanii</i> Tried by Non-Scientist Users. <i>Frontiers in Marine Science</i> , 9. doi:10.3389/fmars.2022.861657.
Polychaeta	<i>Syllis amica</i>	Oui	-	France (Polynésie Française)	Ardura, A., Fernandez, S., Haguenaer, A., Planes, S., & Garcia-Vazquez, E. (2021). Ship-driven biopollution: How aliens transform the local ecosystem diversity in Pacific islands. <i>Mar Pollut Bull</i> , 166, 112251. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112251.
Pycnogonida	<i>Ammothea hilgendorfi</i>	Oui	-	Royaume-Uni	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. <i>Sci Rep</i> , 9(1), 11559. doi:10.1038/s41598-019-47899-7.
Teleostei	<i>Epinephelus lanceolatus</i>	Indeterminé	Indeterminé	Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Teleostei	<i>Gnathanodon speciosus</i>	Indeterminé	Indeterminé	Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Teleostei	<i>Lutjanus argentimaculatus</i>	Indeterminé	Indeterminé	Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Teleostei	<i>Lutjanus erythropterus</i>	Indeterminé	Indeterminé	Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Teleostei	<i>Lutjanus gibbus</i>	Indeterminé	Indeterminé	Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental

					DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Teleostei	<i>Lutjanus russellii</i>	Indeterminé	Indeterminé	Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Teleostei	<i>Lutjanus sebae</i>	Indeterminé	Indeterminé	Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Teleostei	<i>Lutjanus stellatus</i>	Indeterminé	Indeterminé	Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Teleostei	<i>Oncorhynchus keta</i>	Oui	-	Japon	Wong, M. K., Nakao, M., & Hyodo, S. (2020). Field application of an improved protocol for environmental DNA extraction, purification, and measurement using Sterivex filter. <i>Sci Rep</i> , 10(1), 21531. doi:10.1038/s41598-020-77304-7.
Teleostei	<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	-	Oui	Argentine	Nardi, C. F., Fernández, D. A., Vanella, F. A., & Chalde, T. (2019). The expansion of exotic Chinook salmon (<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>) in the extreme south of Patagonia: an environmental DNA approach. <i>Biological Invasions</i> , 21(4), 1415-1425. doi:10.1007/s10530-018-1908-8.
Teleostei	<i>Platax orbicularis</i>	Indeterminé	Indeterminé	Chine	Chen, J., Chen, Z., Liu, S., Guo, W., Li, D., Minamoto, T., & Gao, T. (2021). Revealing an Invasion Risk of Fish Species in Qingdao Underwater World by Environmental DNA Metabarcoding. <i>Journal of Ocean University of China</i> , 20(1), 124-136. doi:10.1007/s11802-021-4448-2.
Teleostei	<i>Pterois miles</i>	Oui	-	Grèce	Hartle-Mougiou, K., Gubili, C., Xanthopoulou, P., Kasapidis, P., Valiadi, M., & Gizeli, E. (2024). Development of a quantitative colorimetric LAMP assay for fast and targeted molecular detection of the invasive lionfish <i>Pterois miles</i> from environmental DNA. <i>Frontiers in Marine Science</i> , 11. doi:10.3389/fmars.2024.1358793.
Teleostei	<i>Pterois spp (les espèces Pterois miles et Pterois volitans sont considérées dans les résultats)</i>	Oui	-	États-Unis	Whitaker, J. M., Brower, A. L., & Janosik, A. M. (2021). Invasive lionfish detected in estuaries in the northern Gulf of Mexico using environmental DNA. <i>Environmental Biology of Fishes</i> , 104(11), 1475-1485. doi:10.1007/s10641-021-01177-6.
Teleostei	<i>Sciaenops ocellatus</i>	Oui	-	Chine	Wang, X., Zhang, H., Lu, G., & Gao, T. (2022). Detection of an invasive species through an environmental DNA approach: The example of the red drum <i>Sciaenops ocellatus</i>

					in the East China Sea. <i>Sci Total Environ</i> , 815, 152865. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.152865.
Tentaculata	<i>Mnemiopsis leidyi</i>	Oui	-	Danemark	Knudsen, S. W., Hesselsoe, M., Thaulow, J., Agersnap, S., Hansen, B. K., Jacobsen, M. W., . . . Andersen, J. H. (2022). Monitoring of environmental DNA from nonindigenous species of algae, dinoflagellates and animals in the North East Atlantic. <i>Sci Total Environ</i> , 821, 153093. doi:10.1016/j.scitotenv.2022.153093.
Thecostraca	<i>Austrominius modestus</i>	Oui	-	Royaume-Uni	Gargan, L. M., Brooks, P. R., Vye, S. R., Ironside, J. E., Jenkins, S. R., Crowe, T. P., & Carlsson, J. (2021). The use of environmental DNA metabarcoding and quantitative PCR for molecular detection of marine invasive non-native species associated with artificial structures. <i>Biological Invasions</i> , 24(3), 635-648. doi:10.1007/s10530-021-02672-8.
Thecostraca	<i>Austrominius modestus</i>	Oui	-	Royaume-Uni	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. <i>Sci Rep</i> , 9(1), 11559. doi:10.1038/s41598-019-47899-7.
Thecostraca	<i>Balanus trigonus</i>	Oui	-	Italie	Tagliabue, A., Matterson, K. O., Ponti, M., Turicchia, E., Abbiati, M., & Costantini, F. (2023). Sediment and bottom water eDNA metabarcoding to support coastal management. <i>Ocean & Coastal Management</i> , 244. doi:10.1016/j.ocecoaman.2023.106785.
Thecostraca	<i>Chthamalus proteus</i>	Oui	-	France (Polynésie Française)	Ardura, A., Fernandez, S., Haguenaer, A., Planes, S., & Garcia-Vazquez, E. (2021). Ship-driven biopollution: How aliens transform the local ecosystem diversity in Pacific islands. <i>Mar Pollut Bull</i> , 166, 112251. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112251.
Thecostraca	<i>Lepas anserifera</i>	Oui	-	France (Polynésie Française)	Ardura, A., Fernandez, S., Haguenaer, A., Planes, S., & Garcia-Vazquez, E. (2021). Ship-driven biopollution: How aliens transform the local ecosystem diversity in Pacific islands. <i>Mar Pollut Bull</i> , 166, 112251. doi:10.1016/j.marpolbul.2021.112251.
Ulvophyceae	<i>Codium fragile</i>	Oui	-	Espagne	Muha, T. P., Skukan, R., Borrell, Y. J., Rico, J. M., Garcia de Leaniz, C., Garcia-Vazquez, E., & Consuegra, S. (2019). Contrasting seasonal and spatial distribution of native and invasive <i>Codium</i> seaweed revealed by targeting species-specific eDNA. <i>Ecol Evol</i> , 9(15), 8567-8579. doi:10.1002/ece3.5379.

Annexe 5. Formulaire tel que visible en ligne

Le formulaire comprend 72 questions adaptées à différents profils.

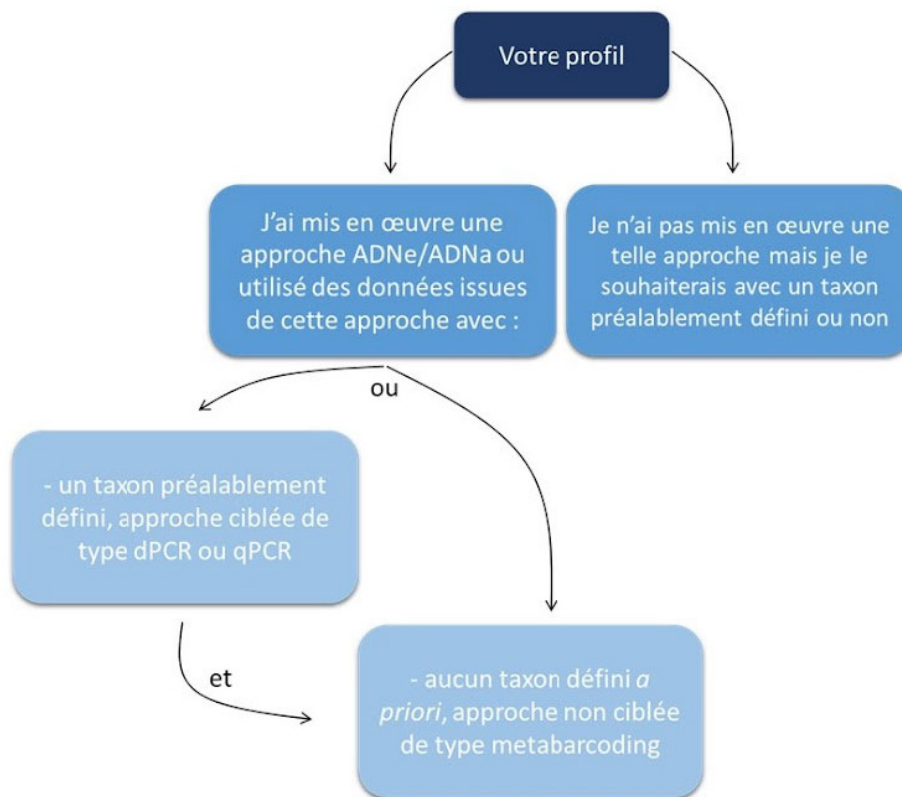
ADNe/ADNa et surveillance des espèces non indigènes

Avec ce questionnaire anonyme, le centre d'expertise et de données Patrinat en charge du déploiement du programme de surveillance du descripteur « D2 » (Espèces Non-Indigènes) de la Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin (DCSMM) cherche à mieux connaître les actions en cours, mais aussi les difficultés et besoins, concernant la mise en œuvre et/ou l'utilisation de données issues de l'analyse d'ADN environnemental (ADNe, ex. sédiments, eau) et autres ADN issus d'assemblages d'espèces (ADNa ; ex. scrapping d'organismes, filets à plancton etc.) pour des détections, suivis ou surveillance d'espèces non-indigènes marines (ENI).

Ce questionnaire s'adresse aux acteurs des secteurs publics et privés ayant déjà mis en œuvre de telles approches ou utilisé des données issues de ces approches (i.e., même sans avoir généré les données), ainsi qu'à ceux qui l'ont envisagé mais ne l'ont pas réalisé. L'enchaînement des questions sera fonction de votre profil et expérience (cf figure ci-dessous).

Les résultats de cette enquête seront restitués via un rapport public et une présentation lors de l'atelier national "Espèces non-indigènes".

Protection des données individuelles: Conformément au Règlement Général sur la Protection des Données (RGPD), cette enquête garantit l'anonymat des répondants. En particulier, aucune adresse email n'est collectée.



Votre profil

1. Sélectionner le type de structure dans laquelle vous travaillez

Plusieurs réponses possibles.

- Bureau d'étude en environnement
- Société privée spécialisée en analyses moléculaires
- Laboratoire de recherche académique (ex. UMR)
- Structure d'appui à la recherche (ex. UAR ou FR)
- Structure d'appui aux politiques publiques (ex. centres d'expertise)
- Structure chargée de la gestion d'espaces naturels (ex. Aires marines protégées, Conservatoires d'espaces naturels)
- Autre : _____

2. Quel est votre statut ?

Plusieurs réponses possibles.

- Responsable de projet
- En charge de l'implémentation d'un projet
- Autre : _____

3. Sur quelle(s) façade(s) maritime(s) travaillez-vous sur les ENI ?

Plusieurs réponses possibles.

- Manche Est-Mer du Nord
- Manche Ouest
- Golfe de Gascogne
- Mer Méditerranée
- Territoires d'Outre-Mer

4. Si territoire d'Outre-Mer, merci de préciser

5. Quelle place occupent les ENI marines dans vos travaux ?

Plusieurs réponses possibles.

- Cibles principales
- Cibles secondaires

6. Avec l'objectif d'étudier des ENI, avez-vous déjà mis en œuvre une approche ADNe/ADNa ou utilisé des données issues de ces approches ?

En fonction de votre réponse, un questionnaire différent vous sera proposé

Une seule réponse possible.

- Oui (obtention et/ou analyse de données)
 Non (pas d'obtention ni d'utilisation de données de ce type)

Passer à la question 65

Approche mise en œuvre

7. Selon vous, quel est votre niveau d'expérience ?

Plusieurs réponses possibles.

- Débutant
 Intermédiaire
 Expert

8. Dans quel contexte avez-vous produit/utilisé des données ADNe/ADNa ?

Plusieurs réponses possibles, toujours dans le cadre de l'étude des ENI

Plusieurs réponses possibles.

- Recherche
 Suivi/Observation (labellisée ou pas)
 Surveillance réglementaire
 Médiation scientifique

9. Commentaires éventuels

10. Avec quel objectif ?

Plusieurs réponses possibles

Plusieurs réponses possibles.

- Détecter la présence d'une seule ou quelques ENI
- Déterminer l'abondance d'une ou quelques ENI
- Décrire et/ou analyser une communauté/assemblages d'espèces
- Mise au point et/ou optimisation de méthodes de détections ou quantification d'ENI
- Autre : _____

11. Quelle approche méthodologique avez-vous utilisé ?

En fonction de votre réponse, vous serez renvoyé vers des questions relatives au type de méthode utilisée.

Une seule réponse possible.

- Ciblée (l'ENI cible est connue ; la méthode est de type dPCR ou qPCR)
Passer à la question 12
- Non ciblée (l'ENI cible n'est pas définie a priori ; la méthode est du metabarcoding) *Passer à la question 37*
- Les deux

Cette partie ne concerne QUE les APPROCHES CIBLEES : méthodes de type dPCR ou qPCR, le taxon est préalablement défini

12. Combien de fois (ordre de grandeur) avez-vous déjà mis en œuvre ce type d'approche ?

Plusieurs réponses possibles.

- Moins de 5
- Entre 5 et 15
- Plus de 15

13. Milieu d'étude

Réponses multiples possibles

Plusieurs réponses possibles.

- Milieu marin - Habitats naturels
- Milieu marin - Habitats artificiels hors zones aquacoles (ex. éoliennes, ports, récifs artificiels)
- Milieu marin - Zones aquacoles
- Lagunes et/ou estuaires
- Autre : _____

14. Quel règne avez-vous ciblé ?

Réponses multiples possibles

Plusieurs réponses possibles.

- Archaea
- Animalia
- Bacteria
- Chromista
- Fungi
- Plantae
- Protozoa
- Viruses

15. Si vous le souhaitez, pouvez-vous indiquer la ou les ENI ciblée(s) ?

16. Quels types d'échantillons avez-vous utilisé pour obtenir l'ADNe/ADNa des ENI ciblées ?

Réponses multiples possibles

Plusieurs réponses possibles.

- Eau
- Sédiment
- Grattage de substrats durs (ex. naturels ou artificiels de type coque de bateaux, infrastructures aquacoles)
- Utilisation de collecteurs (ex. ARMS, panels, pièges)
- Filets (pour échantillonnage larvaire ou des communautés de la colonne d'eau)
- Bennes ou chaluts
- Autre : _____

17. Si vous le souhaitez, pouvez-vous expliquer en quelques mots les raisons pour le choix de ce type d'échantillon (ex. facilité d'échantillonnage, type de taxon ciblé, type d'habitat ciblé) ?

18. Quelle est la région génomique utilisée ?

Ex. mitochondrial COI, nucléaire 18S rRNA

19. Les amorces ou sondes utilisées sont-elles issues de la littérature ou développées dans le cadre de l'étude ?

Plusieurs réponses possibles.

- Littérature
 Développement spécifique

20. Pour les sondes et/ou amorces publiées, merci de préciser la référence

21. Avez-vous fait appel à une prestation externe pour au moins une de vos études ?

Une seule réponse possible.

- Oui, à chaque fois
 Oui, pour certaines
 Non

22. Si oui, pour quelles étapes ?

Plusieurs réponses possibles.

- Echantillonnage
 Extraction de l'ADN ou de l'ARN
 Analyses moléculaires (réalisation des PCR, dPCR, qPCR, etc.)
 Traitement des données / conseil d'interprétation

23. Si tel est le cas, pourquoi avez-vous fait appel à une prestation ?

Plusieurs réponses possibles.

- Manque de compétences techniques
- Manque d'infrastructures ou d'équipements adaptés
- Par nécessité de standardisation avec d'autres études/suivis
- Trop d'échantillons à traiter / manque de temps
- Autre : _____

24. En cas de prestation externe, êtes-vous satisfaits d'avoir choisi cette option ?

Une seule réponse possible.

- Oui
- Non
- En partie

25. Commentaires libres

Si vous souhaitez préciser les points positifs (ex. fiabilité technique) et négatifs (ex. manque d'information sur les conditions de réalisation)

26. Globalement, êtes vous satisfaits des résultats obtenus en fonction de vos objectifs initiaux ?

Pour ceux d'entre vous ayant réalisé plusieurs études combinant différents types d'échantillons, méthodes etc., merci de donner une appréciation moyenne

Une seule réponse possible.

- Oui
 En partie
 Non

27. Comment noteriez-vous l'ensemble du processus du point de vue de sa mise en œuvre technique et analytique ?

Pour ceux d'entre vous ayant réalisé plusieurs études combinant différents types d'échantillons, méthodes etc., merci de donner une note moyenne et d'apporter des précisions en commentaire sur les combinaisons les plus vs. les moins satisfaisantes

Une seule réponse possible.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Très	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Facile

28. Commentaires libres pour expliquer votre notation

29. Comment noteriez-vous l'ensemble du processus en termes de "coût-bénéfice" ?

Pour ceux d'entre vous ayant réalisé plusieurs études combinant différents types d'échantillons, méthodes etc., merci de donner une note moyenne et d'apporter des précisions en commentaire sur les combinaisons les plus vs. les moins satisfaisantes

Une seule réponse possible.

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Troq Résultats à la hauteur du prix

30. Commentaires libres pour expliquer votre notation

31. Comment noteriez-vous la fiabilité de l'approche ?

Une seule réponse possible.

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Pas : Très fiable

32. Commentaires libres pour expliquer votre notation

33. Si vous deviez recommencer, que changeriez-vous ?

Plusieurs réponses possibles.

- Rien
- Changer de stratégie: abandonner l'approche ciblée et adopter une approche de type metabarcoding
- Compléter l'approche ciblée par une approche de type metabarcoding
- Changer de stratégie d'échantillonnage
- Changer le protocole moléculaire (ex. autres amorces/autres sondes, autre technologie)
- Changer de prestataire externe
- Autre : _____

34. Selon vous, quelles sont les contraintes ou barrières majeures à lever pour la mise en oeuvre et/ou l'utilisation des données issues de l'analyse d'ADNe/ADNa pour vos études ciblées d'ENI ?

Réponses multiples possibles

Plusieurs réponses possibles.

- Ressources financières
- Adéquation de la prestation de service au résultat recherché
- Manque d'une liste de prestataires labellisés
- Manque de guides de bonnes pratiques (de l'échantillonnage à l'interprétation)
- Disponibilité de données de référence pour la définition des sondes/amorces
- Manque de standardisation pour comparer avec d'autres études

35. Précisions éventuelles et besoins de recherche et/ou développement qui vous semblent prioritaires

36. J'ai également suivi une approche non ciblée

Une seule réponse possible.

Oui

Non

Cette partie ne concerne QUE les **APPROCHES NON CIBLEES** de type metabarcoding, le taxon est non défini a priori

37. Combien d'études de ce type avez-vous déjà mené ?

Plusieurs réponses possibles.

Moins de 5

Entre 5 et 15

Plus de 15

38. Milieu d'étude

Réponses multiples possibles

Plusieurs réponses possibles.

Milieu marin - Habitats naturels

Milieu marin - Habitats artificiels hors zones aquacoles (ex. éoliennes, ports, récifs artificiels)

Milieu marin - Zones aquacoles

Lagunes et/ou estuaires

Autre : _____

39. Quel règne avez-vous ciblé ?

Réponses multiples possibles

Plusieurs réponses possibles.

- Archaea
- Animalia
- Bacteria
- Chromista
- Fungi
- Plantae
- Protozoa
- Viruses

40. Quels types d'échantillons avez-vous utilisé pour obtenir l'ADNe/ADNa ?

Réponses multiples possibles

Plusieurs réponses possibles.

- Eau
- Sédiment
- Grattage de substrats durs (ex. naturels ou artificiels de type coque de bateaux, infrastructures aquacoles)
- Utilisation de collecteurs (ex. ARMS, panels, pièges)
- Filets (pour échantillonnage des communautés planctoniques)
- Bennes ou chaluts
- Autre : _____

41. Si vous le souhaitez, pouvez-vous expliquer en quelques mots les raisons pour le choix de ce type d'échantillon (ex. facilité d'échantillonnage, règne ciblé, type d'habitat ciblé) ?

42. Quelle est la région génomique utilisée ?

Ex. mitochondrial COI, nucléaire 18SrRNA

43. Les amorces ou sondes utilisées sont-elles issues de la littérature ou développées dans le cadre de l'étude ?

Plusieurs réponses possibles.

- Littérature
 Développement spécifique

44. Pour les sondes et/ou amorces publiées, merci de préciser la référence

45. Quelle est la technologie de séquençage utilisée ?

Plusieurs réponses possibles.

- Illumina
 Nanopore
 Autre : _____

46. Si les analyses bioinformatiques n'ont pas été réalisées dans le cadre d'une prestation externe, avez-vous utilisé un pipeline d'analyses bioinformatiques déjà existant et public (clé en main)?

Plusieurs réponses possibles.

- Oui
 Non
 Sans objet (prestation)

47. Si oui à la question précédente, merci de préciser le pipeline "clé en main" utilisé (par exemple SAMBA, FROGS, OBITOOLS,...); sinon merci d'indiquer les principaux outils que vous avez utilisés (par exemple, DADA2, SWARM)

48. Pour les assignations taxonomiques des ASVs/OTUs, quelle base de référence utilisez-vous ?

Plusieurs réponses possibles.

- Base de référence ouverte et publique (ex. MIDORI, NCBI-Genbank, SILVA)
 Base de référence ouverte et publique mais postérieurement à une étape de curation (validation, filtrage des séquences)
 Base de référence "maison" avec intégration de références disponibles dans les bases publiques, additionnée de séquences de références produites localement
 Je ne sais pas, assignations réalisées par un prestataire qui ne m'a pas précisé quelle base était utilisée
 Autre : _____

49. En cas d'utilisation de base(s) de références publique(s), merci de préciser laquelle/lesquelles

50. Avez-vous fait appel à une prestation externe pour au moins une de vos études ?

Une seule réponse possible.

- Oui, à chaque fois
- Oui, pour certaines
- Non

51. Si oui, pour quelles étapes du processus ?

Plusieurs réponses possibles.

- Echantillonnage
- Extraction de l'ADN ou de l'ARN
- Production des amplicons (PCR)
- Séquençage (incluant ou pas la construction de bibliothèques)
- Bioinformatique sans production de la liste de taxons
- Bioinformatique incluant la remise d'une liste de taxons

52. Pourquoi avez-vous fait appel à une prestation externe ?

Plusieurs réponses possibles.

- Manque de compétences techniques
- Manque d'infrastructures ou d'équipements adaptés
- Par nécessité de standardisation avec d'autres suivis/études
- Trop d'échantillons à traiter / manque de temps
- Autre : _____

53. En cas de prestation externe, êtes vous satisfaits d'avoir choisi cette option ?

Une seule réponse possible.

- Oui
- Non
- En partie

54. Commentaires libres

Si vous souhaitez préciser les points positifs (ex. fiabilité technique) et négatifs (ex. manque d'information sur les conditions de réalisation)

55. Globalement, êtes vous satisfaits des résultats obtenus en fonction de vos objectifs initiaux ?

Pour ceux d'entre vous ayant réalisé plusieurs études combinant différents types d'échantillons, méthodes etc., merci de donner une appréciation moyenne

Une seule réponse possible.

- Oui
 En partie
 Non

56. Comment noteriez-vous l'ensemble du processus du point de vue de sa mise en œuvre technique et analytique ?

Pour ceux d'entre vous ayant réalisé plusieurs études combinant différents types d'échantillons, méthodes etc., merci de donner une note moyenne et d'apporter des précisions en commentaire sur les combinaisons les plus vs. les moins satisfaisantes

Une seule réponse possible.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Très	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Facile

57. Commentaires libres pour expliquer votre notation

58. Comment noteriez-vous l'ensemble du processus en termes de "coût-bénéfice" ?

Pour ceux d'entre vous ayant réalisé plusieurs études combinant différents types d'échantillons, méthodes etc., merci de donner une note moyenne et d'apporter des précisions en commentaire sur les combinaisons les plus vs. les moins satisfaisantes

Une seule réponse possible.

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Troq Résultats à la hauteur du prix

59. Commentaires libres pour expliquer votre notation

60. Comment noteriez-vous la fiabilité de l'approche ?

Une seule réponse possible.

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Pas : Très fiable

61. Commentaires libres pour expliquer votre notation

62. Si vous deviez recommencer, que changeriez-vous ?

Plusieurs réponses possibles.

- Rien
- Changer de stratégie: abandonner le metabarcoding et adopter une approche ciblée (de type dPCR, qPCR etc.)
- Compléter le metabarcoding par une approche ciblée (de type dPCR, qPCR etc.)
- Changer de stratégie d'échantillonnage
- Changer le protocole moléculaire (ex. autres marqueurs, autre type de séquençage)
- Changer les procédures bioinformatiques (ex. utiliser d'autres outils ou pipelines)
- Utiliser une autre base de référence
- Produire de nouvelles séquences de référence
- Changer de prestataire externe
- Autre : _____

63. Selon vous, quelles sont les contraintes ou barrières majeures à lever pour la mise en œuvre et/ou l'utilisation de données issues de l'analyse d'ADNa/ADNe pour vos études non ciblées d'ENI ?

Plusieurs réponses possibles.

- Ressources financières
- Adéquation de la prestation de service au résultat recherché
- manque d'une liste de prestataires labellisés
- Manque de guides de bonnes pratiques (de l'échantillonnage à l'interprétation)
- Manque d'interfaces faciles à utiliser pour la réalisation des analyses bioinformatiques
- Difficulté d'accès à des infrastructures de stockage des données et de calcul
- Manque de séquences de référence pour l'assignation taxonomique
- Manque de standardisation pour comparer avec d'autres études

64. Commentaire libre

Vous pouvez indiquer d'éventuelles autres barrières ainsi que des besoins de recherche et/ou de développement qui vous semblent prioritaires

Approche non mise en œuvre

65. Dans quel contexte d'étude des ENI souhaiteriez-vous produire et/ou utiliser des données ADNe/ADNa ?

Plusieurs réponses possibles.

- Recherche
- Suivi/observation (labellisée ou pas)
- Surveillance réglementaire
- Médiation scientifique

66. Commentaires éventuels

67. Avec quel(s) objectif(s) ?

Plusieurs réponses possibles.

- Détecter la présence d'une seule ou quelques ENI
- Déterminer l'abondance d'une seule ou quelques ENI
- Détecter la présence de nombreuses ENI simultanément
- Décrire et/ou analyser une communauté/un assemblage d'espèces
- Mise au point et/ou optimisation de méthodes de détection ou quantification d'ENI
- Autre : _____

68. Quel est votre milieu d'étude ?

Plusieurs réponses possibles.

- Milieu marin - Habitats naturels
- Milieu marin - Habitats artificiels hors zones aquacoles (éoliennes, ports, récifs artificiels)
- Milieu marin - Zones aquacoles
- Lagunes / estuaires
- Autre : _____

69. Sur quel règne travaillez-vous ?

Une seule réponse possible.

- Archaea
- Animalia
- Bacteria
- Chromista
- Fungi
- Plantae
- Protozoa
- Virus

70. Quelle approche méthodologique souhaiteriez-vous a priori réaliser ?

Plusieurs réponses possibles.

- Ciblée (l'ENI cible est connue ; la méthode est de type dPCR ou qPCR)
- Non ciblée (l'ENI cible n'est pas définie a priori ; la méthode est du metabarcoding)
- Je ne sais pas

71. Quelles sont les raisons qui vous ont empêché de mettre en œuvre cette approche ?

Une seule réponse possible.

- Pas de compétences techniques/scientifique, y compris dans ma structure pour m'accompagner
- Pas de connaissance des structures académiques ou privées (liste de prestataires) qui pourraient m'accompagner
- Manque de protocoles standardisés
- Manque de guides de bonnes pratiques (de l'échantillonnage à l'interprétation des résultats/données)
- Manque ou accès limité à des infrastructures/équipements et prestation non souhaitée
- Ressources financières limitées
- Manque de confiance dans l'approche d'un point de vue technique/scientifique
- Mauvais rapport coût/bénéfice par rapport à d'autres méthodes
- Mise en œuvre trop complexe par rapport aux objectifs ciblés
- Pas de possibilité de changer de protocole (ex. suivi à long termes, protocole labellisé)
- Autre : _____

72. Qu'est ce qui vous inciterait à mettre en œuvre l'approche ?
