



NATIONS
UNIES

EP

UNEP/MED WG.548/10



PNUE



PROGRAMME DES NATIONS UNIES
POUR L'ENVIRONNEMENT
PLAN D'ACTION POUR LA MÉDITERRANÉE

28 avril 2023
Français
Original : Anglais

Seizième Réunion des Points Focaux ASP/DB

Malte, 22-24 mai 2023

Point 5 de l'ordre du jour : Conservation des Espèces et des Habitats

5.6. Projet de Programme de restauration de *Pinna nobilis*

Projet de Programme de restauration de *Pinna nobilis*

Note :

Les appellations employées dans ce document et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part du Centre d'Activités Régionales pour les Aires Spécialement Protégées (SPA/RAC) et du Programme des Nations Unies pour l'environnement aucune prise de position quant au statut juridique des États, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites.

© 2023 Programme des Nations Unies pour l'environnement / Plan d'action pour la Méditerranée (PNUE/PAM)
Centre d'Activités Régionales pour les Aires Spécialement Protégées (SPA/RAC)
Boulevard du Leader Yasser Arafat
B.P. 337 – 1080 Tunis Cedex – Tunisie
E-mail : car-asp@spa-rac.org

AVANT-PROPOS

1. L'élaboration et la mise en œuvre de plans d'action pour la conservation d'une espèce ou d'un groupe d'espèces ou d'un programme de restauration constitue un moyen efficace d'orienter, de coordonner et de renforcer les efforts déployés par les pays méditerranéens afin de sauvegarder le patrimoine naturel de la région et de remplir leurs obligations dans le cadre du nouveau protocole de la Convention de Barcelone de 1995 relatif aux aires spécialement protégées et à la diversité biologique en Méditerranée (protocole ASP/DB).

2. *Pinna nobilis* est une espèce endémique méditerranéenne longévive, considérée comme l'un des plus grands mollusques bivalves de Méditerranée. Elle est largement répandue dans les zones côtières et elle est présente essentiellement dans les herbiers marins, mais également dans d'autres habitats, notamment les fonds rocheux, sable grossier ou les couches à rhodolithes.

3. Un événement de mortalité massive affectant les populations de *Pinna nobilis* a été détecté pour la première fois en 2016 le long de la côte espagnole. Il s'est avéré que cette épidémie mortelle toujours en cours a été occasionnée par un agent pathogène, qui s'est rapidement propagé dans toute la Méditerranée, provoquant des taux de mortalité de 80 à 100 % dans de nombreuses régions.

4. Une première réunion en ligne de 33 chercheurs et représentants des administrations publiques de 13 pays méditerranéens a eu lieu en vue de coordonner une réponse à la crise de *Pinna nobilis*, facilitée par l'UICN-Med, afin de présenter les dernières données sur la mortalité et les progrès accomplis pour rétablir les populations en danger critique d'extinction (CR) de *Pinna nobilis*, maintenant inscrites dans la Liste rouge de l'UICN des espèces menacées. Le rôle des populations non affectées pour un rétablissement potentiel, mis en place avec un réseau de stations de collecte de larves pour améliorer la dispersion des larves à partir de sites non affectés et le repeuplement potentiel par le recrutement de juvéniles résistants, a également été discuté.

5. Dans ce contexte, le Centre d'Activités Régionales pour les Aires Spécialement Protégées (SPA/RAC) du Programme des Nations Unies pour l'Environnement/Action pour la Méditerranée (PNUE/PAM) de la Convention de Barcelone, a mis en œuvre un projet financé par le Programme pour les Mers Régionales du PNUE – 2021, avec une allocation de l'Agence Suédoise de Coopération Internationale pour le Développement (SIDA) dans le sous-bassin méditerranéen, en vue de contribuer à la restauration de *Pinna nobilis*, une espèce de la "Liste des espèces en danger ou menacées" de l'Annexe II du Protocole relatif aux Aires Spécialement Protégées et à la diversité biologique en Méditerranée de la Convention de Barcelone.

6. Ce projet comporte deux actions majeures. La première est liée à l'élaboration d'un projet de programme de restauration de *Pinna nobilis* et à sa discussion et validation lors d'un atelier régional de deux jours (Tunisie, 20-21 juin 2022). La seconde action est liée à l'organisation d'une formation pratique régionale sur la collecte de juvéniles dans les sites identifiés et leur transfert dans des sites d'élevage (îles Kerkennah, Tunisie, 28-30 juin 2022).

7. Dans la mise en œuvre de son projet, le SPA/RAC, en partenariat avec le consortium du projet Life Pinna "Conservation et repeuplement de *Pinna nobilis* en Méditerranée occidentale et en mer Adriatique", coordonné par l'agence régionale pour la protection de l'environnement de la Ligurie (Italie) et soutenu par le programme Life de l'Union européenne (UE), a rédigé une présente proposition de programme de restauration de *Pinna nobilis*, qui a été discutée lors de l'atelier régional tenue à Tunis, Tunisie, du 20 au 21 juin 2022.

8. Au cours de l'atelier régional de deux jours, les participants ont fait un aperçu de la situation de *Pinna nobilis* dans leurs pays respectifs et ont partagé des informations sur certaines activités de restauration mises en œuvre dans quelques pays, confirmant la situation régionale alarmante et la nécessité et l'urgence d'agir pour le suivi, l'étude et la restauration de l'espèce dès que possible de manière coordonnée avec une approche scientifique éprouvée.

9.L'atelier a préconisé la création du groupe de travail Pan-méditerranéen chargé de mettre en œuvre, de proposer et d'évaluer la translocation d'individus potentiellement résistants et toute autre question relative à la restauration de *Pinna nobilis*.

10.En raison de la situation alarmante de *Pinna nobilis*, les participants recommandent que le SPA/RAC, les Parties contractantes et les partenaires concernés tels que l'UICN, les instituts de recherche et les ONG contribuent à la mise en œuvre du projet de programme de restauration, le cas échéant

11.Les participants appellent également les donateurs concernés et les organismes de financement nationaux et internationaux à soutenir le programme de restauration de *Pinna nobilis* en raison de l'urgence de sa situation.

12.Les participants ont discuté en profondeur du projet de programme de restauration de *Pinna nobilis*, Les principaux objectifs, les actions prioritaires nationales et régionales ainsi que le calendrier de mise en œuvre. Une version finale a été validée et les participants ont accepté/recommandé de soumettre la version amendée aux Parties contractantes à la Convention de Barcelone pour considération.

Table des matières

INTRODUCTION.....	1
PROGRAMME DE RESTAURATION	1
Objectifs :	2
Priorités et actions requises en vue de réaliser l'objectif du programme de restauration :	3
PROGRAMME DE TRAVAIL ET CALENDRIER POUR 2023-2028	9
BIBLIOGRAPHIE	11
ANNEXE 1 – ETUDE DE CAS ET ETAT DES LIEUX.....	12
ANNEXE 2 – Le Protocole RESTORFAN.....	21
ANNEXE 3 – Bref guide d'orientation de l'UICN pour la construction, l'installation et le retrait des collecteurs de larves de <i>Pinna nobilis</i>	26

INTRODUCTION

1. La grande nacre *Pinna nobilis* (Linnaeus, 1758) est le plus grand bivalve endémique de la mer Méditerranée. *P. nobilis* est présente dans les habitats à fond meuble des écosystèmes d'eaux de transition et dans les zones côtières marines, à des profondeurs comprises entre 0,5 et 60 m, essentiellement dans les herbiers marins de *Posidonia oceanica* ou de *Cymodocea nodosa* (Zavodnik et al. 1991, Richardson et al. 1999, García March et al. 2007, Orfanidis et al. 2007, Coppa et al. 2010 ; 2013, Prado et al. 2014), mais également dans les fonds sablonneux nus (Katsanevakis 2005). Cette espèce est un important organisme filtreur benthique contribuant à la clarté de l'eau, et une "espèce de conservation", jouant les rôles d'espèce phare, clé et parapluie.
2. En raison de sa pertinence écologique, *P. nobilis* a récemment été suggérée comme étant un bioindicateur fiable des écosystèmes benthiques côtiers selon les Descripteurs 1 "Diversité biologique" et 4 "Etat des composants structurels uniques des écosystèmes" de la Directive-cadre 'Stratégie pour le milieu marin' de l'UE (MSFD 2008/56/EC). Elle pourrait également être utilisée dans la mise en œuvre du programme de surveillance et d'évaluation intégrées de la mer et des côtes méditerranéennes et des critères d'évaluation connexes (IMAP).
3. Le faciès à *Pinna nobilis*, qui pourrait caractériser les sables infralittoraux ou les sables vaseux, fait partie de la liste de référence des espèces et habitats à surveiller dans le cadre du Programme de surveillance et d'évaluation intégrées de la mer et des côtes méditerranéennes et des critères d'évaluation connexes de la Convention de Barcelone (Décision IG.22/7).
4. En outre, la Grande nacre représente l'hôte de deux symbiontes de crustacés (i.e., *Pontonia pinnophylax* et *Nepinnotheres pinnotheres*) (Rabaoui et al. 2008) et elle est également la proie d'autres espèces, comme par exemple *Octopus vulgaris*, jouant un rôle clé dans le réseau trophique.
5. Au cours des années 80, les populations de *P. nobilis* ont fortement diminué en raison de plusieurs activités humaines (notamment, la pêche, la récolte ornementale, l'ancrage et les chaluts). En conséquence, *P. nobilis* est aujourd'hui une espèce protégée par l'Annexe II "Liste des espèces en danger ou menacées" du Protocole relatif aux Aires Spécialement Protégées et à la Diversité Biologique en Méditerranée de la Convention de Barcelone et par l'Annexe IV de la Directive Habitats de l'UE 92/43/CEE (EEC 1992).
6. En quelques décennies, cette protection complète de régime a conduit à un rétablissement complet de l'espèce dans toute la Méditerranée, comme cela a également été mis en évidence par des analyses moléculaires (Sanna et al. 2013 ; 2014). Malheureusement, au début de l'automne 2016, un événement de mortalité massive (EMM) a impacté les populations de *P. nobilis* dans le sud-ouest de la Méditerranée (Vázquez-Luis et al. 2017). Depuis, la situation s'est aggravée, touchant progressivement les côtes espagnoles, françaises, italiennes, tunisiennes et peut-être turques. En Italie par exemple, de la Sardaigne à la Sicile, des Pouilles à la Toscane, les grandes nacres sont en train de mourir. Le protozoaire *Haplosporidium pinnae*, un micro-organisme pathogène qui affecte le système digestif du mollusque, réduisant progressivement l'alimentation de l'animal et provoquant sa mort, a été initialement imputé comme la cause principale de cette mortalité massive (Catanese et al. 2018, Panarese et al. 2019). Toutefois, récemment, plusieurs espèces de bactéries ont également été invoquées comme agents pathogènes impliqués dans la mortalité massive de cette espèce (Carella et al. 2019, Prado et al. 2020, Scarpa & Sanna et al., soumis), ce qui suggère que les causes réelles de la mortalité ne sont pas entièrement comprises et qu'une maladie multifactorielle pourrait être le facteur responsable le plus probable.

PROGRAMME DE RESTAURATION

7. Le programme de restauration a pour objectif d'établir les principales étapes à suivre afin d'entamer un processus de rétablissement de la grande nacre. Les difficultés à opérer avec des distances trop importantes pour des actions telles que le transport d'individus exige que le programme dispose de points focaux en mesure de réaliser les principales actions dans chacune des régions où il est prévu d'opérer. L'expertise

technico-scientifique, également requise pour certaines des analyses proposées, pousse à l'identification d'une ou plusieurs structures compétentes pouvant assurer cette tâche au profit des localités périphériques et suppléer au manque des compétences. Pour toutes les actions également, il sera nécessaire d'initier une formation, peut-être disponible en ligne sur une plateforme partagée d'apprentissage en ligne, afin de former le personnel qui sera dédié aux opérations telles que la mise en place des collecteurs, leur placement et le tri du matériel collecté, ainsi que la collecte et la translocation des individus de manière pratique et sûre qui pourraient répondre aux critères requis pour l'obtention d'une autorisation en vertu de la mise en œuvre par chaque État de la directive 92/43/CEE.

8. Compte tenu de l'analyse de tous les projets (voir annexe I: études de cas et état de la technique) et des résultats préliminaires de certaines des recherches les plus récentes, il n'est pas possible d'indiquer une solution unique pour faciliter la restauration de *Pinna nobilis*. Les essais expérimentaux menés jusqu'à présent, ainsi que l'évolution des connaissances sur les causes de la mortalité de masse, nous mettent en garde contre les solutions illusoire et nous suggèrent d'adopter progressivement une approche de précaution dans le cadre d'un suivi et d'une évaluation continus.

9. Les actions mises en œuvre par les différents projets ont des points communs qui méritent d'être considérés comme prioritaires dans le programme de restauration de *Pinna nobilis* ; en particulier, il s'agit d'actions concernant la mise en place de collecteurs pour la collecte des larves, les évaluations environnementales des conditions sanitaires des sites avec des Pavillon vivants, le suivi des juvéniles implantés (lorsque la replantation du projet est envisagée), la mise à jour continue de toutes les méthodologies utilisées, la croissance des juvéniles dans les aquariums et/ou dans les installations également en mer, le transport des individus vers des sites « sûrs » et les actions de surveillance étendues également par le biais de la science citoyenne. Sur certaines mesures à prendre, en revanche, il ne semble pas y avoir d'accord total; Cependant, il s'agit de choix déterminés par le fait d'avoir ou non prévu le déplacement des individus entre différents sites : en effet, là où il a été décidé de ne mettre en œuvre que des pratiques de collecte par collecteur, la replantation a été favorisée dans des endroits comme les lagunes où les individus, pas nécessairement résistants, semblent néanmoins survivre en raison de conditions défavorables aux agents pathogènes. Dans ces endroits, il ne serait pas logique de mettre en œuvre des techniques de surveillance avec des sentinelles environnementales comme cela est envisagé lorsque des individus doivent être transférés entre des sites même très éloignés dont l'adéquation doit être évaluée à l'avance pour éviter de gaspiller un temps précieux et des ressources biologiques.

10. Le programme proposé s'appuie sur ce qui a été élaboré dans le cadre du projet LIFE Pinna et complété par le support de la documentation collectée auprès des autres projets existants.

Objectifs :

11. Les principaux objectifs visés par le présent programme de restauration visent à réduire les menaces et à promouvoir la conservation et la restauration des populations de *Pinna nobilis*, notamment en:

- Réduire les menaces qui pèsent sur cette espèce grâce à la mise en œuvre de pratiques de pêche durables, réduire la pollution et protéger son habitat
- La conservation des herbiers marins et d'autres assemblages végétaux importants pour le milieu marin, en tant qu'habitats marins essentiels à la survie de nombreuses espèces méditerranéennes et en particulier de *Pinna nobilis*, et leur maintien dans un état de conservation favorable ;
- Améliorer les connaissances sur le statut de *Pinna nobilis*
- Assurer la conservation de la diversité génétique des populations méditerranéennes de *Pinna nobilis*, première source de résilience de l'espèce
- La restauration de *Pinna nobilis* en fonction de leurs spécificités et des meilleures données scientifiques disponibles et en s'attaquant aux menaces identifiées
- Le repeuplement comme solution possible en assurant un bon état environnemental préférable des sites récepteurs et des individus réintroduits génétiquement diversifiés. Il s'agit notamment de veiller à ce que l'habitat et les processus écologiques nécessaires à la survie de l'espèce soient présents et fonctionnent correctement, ainsi que de réduire au minimum ou d'éliminer les menaces.

Priorités et actions requises en vue de réaliser l'objectif du programme de restauration :

12. A l'échelle nationale :

- Cartographie et suivi continu de la situation afin de déterminer l'état de la population et si un éventuel recrutement a lieu même après mortalité.
- Cartographie précise des populations résistantes, mise en place d'un suivi systématique avec des campagnes d'échantillonnage pour des études génétiques, campagnes de marquage systématique des grandes nacres dans les zones peu profondes et mise en place de cages de protection autour des individus les plus exposés.
- Établir des cartes/catalogues des points chauds et des sites présentant des conditions environnementales favorables au repeuplement et évaluer leur durabilité
- Promouvoir la translocation localisée d'individus de sites à faible probabilité de survie vers des sites plus protégés, conformément aux procédures les plus récentes et approuvées.
- Identification et atténuation des pressions anthropiques subies par les populations existantes.
- Etablissement d'aires marines protégées ou expansion des aires existantes pour aider à la préservation des nouveaux individus de *Pinna nobilis* qui semblent être résistants à l'impact du parasite lorsque certaines mesures de protection sont appliquées.
- Mettre à jour le plan de gestion des AMP existantes où *Pinna nobilis* est présent en tenant compte des mesures de gestion spécifiques pour l'espèce
- Etablissement de systèmes d'amarrage écologiques dans les zones fréquentées par les plaisanciers afin de limiter l'impact des ancrs sur les populations de nacres et les herbiers marins, où s'établissent les juvéniles et les subadultes ;
- Elaboration et mise en œuvre d'une législation appropriée
- Elaboration d'actions de sensibilisation du public et des professionnels sur le statut de l'espèce et promouvoir la science citoyenne
- Établir un réseau national de tous les acteurs concernés, y compris un groupe de travail national doté d'une expertise juridique afin d'établir une procédure pour l'élevage en captivité et d'autres activités de restauration.
- Création d'un répertoire des institutions travaillant dans le domaine de l'élevage en captivité afin de promouvoir la mise en œuvre du projet.
- Création d'une banque nationale d'ADN et d'une base de données

13. A l'échelle régionale :

- Mettre en place un groupe de travail pan-méditerranéen coordonné par le CAR/ASP pour mettre en œuvre le présent programme de restauration (point focal pour *Pinna nobilis*/par thème qui établira le réseau national, proposera et évaluera la translocation des individus résistants)
- S'assurer que l'information à jour sur l'état des populations circule bien en temps réel
- Élaborer des lignes directrices, des recommandations et un protocole standardisé pour surveiller, étudier les populations, pour la translocation et / ou le sauvetage ex-situ et l'élevage en captivité.
- la constitution de stocks de géniteurs pour l'élevage en captivité et l'enregistrement des données génétiques (empreintes ADN)
- Favoriser l'installation de collecteurs larvaires à des endroits stratégiques
- Organiser une formation régionale/nationale et des visites d'échange le cas échéant
- Renforcement de la coopération et de l'échange de coopération entre les Parties contractantes, les acteurs concernés et le projet
- Établir un nouveau type de protection pan-méditerranéen appelé « zone importante pour *Pinna nobilis* » et créer un réseau coordonné de ces sanctuaires pour l'espèce
- Inviter les pays à inclure *Pinna nobilis* dans la mise en œuvre du programme national de surveillance de la composante habitat de leur programme national de surveillance intégrée et d'évaluation

- Aider les pays méditerranéens à établir une banque / base de données ADN nationale et promouvoir le partage d'informations.
- Établir un répertoire régional des experts/institutions travaillant sur *Pinna nobilis* pour promouvoir le réseautage

14. A l'échelle de la population :

- Le programme envisage un développement par phases et a deux cibles principales d'action : Les individus adultes et les juvéniles de *Pinna nobilis* obtenus par des collecteurs ou par des actions de recherche dans des lieux tels que les marinas ou les zones d'eaux de transition où la possibilité de les trouver semble plus grande. Pour chacune des actions à mener, il est jugé opportun d'évaluer soigneusement et systématiquement s'il est préférable de laisser les individus sur place ou de les déplacer en s'appuyant toujours sur une analyse scientifique qui justifie le déplacement pour des raisons de sécurité (le lieu par exemple peut être soumis à des dangers tels que des menaces mécaniques dues à l'ancrage) ou pour l'amélioration de l'état de santé de l'individu : l'individu se trouve dans un lieu qui présente encore une forte présence d'agents pathogènes et bénéficierait donc d'un déplacement vers un lieu exempt d'agents pathogènes. Ce type d'action doit être mené avec beaucoup de précautions car il peut introduire accidentellement le parasite dans des zones saines et favoriser sa propagation. D'autant plus qu'il n'est pas possible de de décontaminer une zone ou d'assurer avec certitude l'absence du parasite dans l'environnement
- Une priorité devrait être donnée à l'étude des agents pathogènes responsables de la mortalité de masse, de leurs cycles de vie, de leur propagation et des traitements possibles pour les maladies.
- Etude en profondeur de la résistance des individus aux pathogènes Promouvoir la création d'une base de données sur la diversité génétique des individus résistants

Objectif UN – Les juvéniles

La stratégie et les efforts principaux du programme de restauration doivent être consacrés à l'identification de sites exempts des agents pathogènes identifiés jusqu'à présent comme causes de la mortalité massive et à la collecte d'individus juvéniles et de larves, afin d'augmenter les chances de restauration.

Les actions à entreprendre, après avoir vérifié que vous suivez les protocoles les plus récents, sont les suivantes :

1. Recherche de juvéniles

- Action importante de recherche de juvéniles ; il s'agit d'initier, également à l'aide de la science citoyenne, une recherche efficace et intensive d'individus juvéniles susceptibles d'être présents dans les zones d'estuaires mais également dans des lieux tels que les marinas et les ports où les conditions de mer calme semblent favorables au peuplement.

2. Collecteurs

- Recrutement et collecte de juvéniles de nacres à l'aide de dispositifs artificiels conformément aux méthodologies de Kersting & Hendriks (2019) ou de nouveaux protocoles publiés.
- Après la collecte des juvéniles, il y a deux façons d'avancer, la première est le transport et l'élevage si des installations sont disponibles et la seconde est la mise directement à l'eau après évaluation des conditions des juvéniles avec l'utilisation de cages d'exclusion des prédateurs et de dommages mécaniques

3. Transport et élevage si nécessaire et quand des installations sont disponibles

- Une fois les individus juvéniles collectés, ils doivent être immédiatement placés dans une boîte remplie d'eau de mer afin d'être conduits, de la manière la plus sûre, vers le lieu préparé pour leur

culture et leur élevage. Avant de déplacer les juvéniles dans des réservoirs, les opérateurs vérifieront l'intégrité de la coquille et du byssus, si le byssus peut repousser, si de gros dégâts sur la coquille affecteront la capacité de *P. nobilis* à se fermer. Ceci est important dans les phases suivantes, où les spécimens de nacres devront être transférés vers d'autres sites et où ils devront fermer leurs valves afin d'éviter le stress et la perte d'eau interne. Les individus vérifiés de *P. nobilis* seront placés dans des aquariums, où ils passeront la période initiale de croissance. En raison de l'état de stress dans lequel les individus peuvent se trouver, ils seront gardés sous observation pendant une première période (environ 1 mois). Ceci est nécessaire pour rétablir les conditions optimales de l'organisme et pour reconstruire le byssus. Il est nécessaire de procéder très soigneusement lors de l'insertion des spécimens juvéniles dans l'aquarium, en faisant attention aux conditions physiques et chimiques de l'eau dans laquelle les spécimens seront placés (phase d'acclimatation). Selon la dimension et les conditions, les individus peuvent être placés directement sur des supports sans sédiments dans le fond meuble ou dans de petits supports tels que des boîtes de Pétri remplies de sédiments grossiers ou sur de petits sacs de jute ouverts. Une fois prêts, les organismes peuvent être placés dans des paniers attachés à la palangre de la ferme mytilicole et resteront ainsi en suspension dans le milieu aquatique pendant une période nécessaire à la croissance et à l'élevage des spécimens de nacres. Les opérateurs effectueront un suivi périodique (deux fois par mois) pour vérifier l'état de santé des individus. Ils vérifieront également l'emplacement correct des filets lanternes, car certains phénomènes marins extrêmes pourraient affecter la bonne fixation du panier à la corde de la palangre. Enfin, les spécimens de *P. nobilis* seront transportés vers les sites de repeuplement, après avoir atteint la taille d'échappement (6, 12 et 18 mois).

4. Identification des sites récepteurs

- Pour la réception, les sites qui sont naturellement sains en raison de conditions environnementales défavorables au parasite [température et salinité] doivent être priorités.
- Les sites récepteurs seront identifiés après une analyse minutieuse des caractéristiques environnementales des zones réceptrices qui présentent des conditions environnementales appropriées pour la survie des individus reconstitués et où le régime de pression (tant naturelle qu'induite par l'homme) est aussi faible que possible. Les sites pilotes récepteurs doivent être sélectionnés, dans la mesure du possible, dans l'habitat des herbiers marins de *Posidonia oceanica* ou des herbiers de *Cymodocea nodosa/Zostera spp.* Une action préalable de surveillance de la présence d'agents pathogènes devra également être menée au moyen de l'une des analyses les plus récentes et scientifiquement prouvées pour vérifier la présence de parasites dans les sites donneur et récepteur. Des caractérisations génétiques doivent être effectuées dans chaque site donneur et récepteur afin d'éviter/d'exclure l'érosion génétique. Comme il n'y a probablement plus d'individus dans le site d'accueil, l'évaluation devrait se fonder sur la population géographique la plus proche et/ou sur l'échantillonnage antérieur, extrait des banques d'ADN et de la base de données. Pour évaluer les meilleurs sites où les nacres peuvent être reconstituées dans les herbiers marins ou sur les fonds de sable grossier, Les activités sur le terrain par le biais de la plongée sous-marine doivent être effectuées par des plongeurs scientifiques. Les meilleures zones des herbiers ou des fonds sablonneux, qui seront susceptibles de supporter une restauration réussie, seront choisies en fonction de la présence d'un substrat de matre ou d'un substrat approprié, selon l'état écologique de l'herbier, qui doit présenter une qualité écologique élevée (évaluée par l'adoption d'indices écologiques tel qu'exigé par le Décret législatif 152/2006 transféré de la Directive européenne 2000/60/CE), une couverture élevée du fond et une densité élevée de pousses. Selon les résultats de MERCES, la présence d'herbiers marins et la densité de spécimens de *Pinna nobilis* coopéreront pour les meilleurs résultats. Les sites doivent répondre aux caractéristiques de sécurité contre les dommages physiques (ancrage, conditions météorologiques extrêmes etc.) et d'absence d'agents pathogènes. Par conséquent, les sites tels que les zones protégées qui garantissent par leurs interdictions le plus haut degré de sécurité, du moins pour les risques mécaniques, seront privilégiés.

5. Transplantation des juvéniles

- A leur arrivée dans les sites de destination, les spécimens de *P. nobilis* seront placés dans le milieu marin. La phase la plus critique, après le transport, est la transplantation dans le milieu aquatique caractérisé par des valeurs d'eau différentes de salinité et de température, par rapport à celles que l'on trouve dans le transport (et même avant, comparativement aux paramètres biophysiques et chimiques dans les réservoirs de culture et de reproduction). Il convient d'accorder une attention particulière à la manipulation des spécimens. Il est très important de ne pas endommager le byssus et de ne pas briser la coquille des spécimens. En effet, *P. nobilis* a besoin du byssus pour s'ancrer au fond sous-marin, tandis que la coquille intacte permet la fermeture hermétique de l'organisme et préserve l'eau interne, retenue entre les valves, pendant les opérations d'installation. Avant toute opération de transplantation, entre le transport et l'installation, il y aura une phase intermédiaire, afin d'éviter au maximum le stress des organismes et de faciliter leur acclimatation au nouveau site. Cette étape d'adaptation implique le stockage des organismes dans des réservoirs spécifiques qui reproduisent les conditions chimiques et biophysiques du site de transplantation. Dans le but de transplanter un maximum de juvéniles et de les maintenir en vie pendant les opérations d'installation, le groupe de juvéniles à transplanter sera divisé en différents sous-groupes. De cette manière, différentes sessions d'acclimatation seront réalisées. Il est donc fondamental de pouvoir transplanter le plus grand nombre possible de juvéniles dans au moins une zone protégée, afin de favoriser la division du groupe à transplanter en différents sous-groupes et ensuite en différents sites récepteurs. Après la phase d'acclimatation, les organismes seront placés par des opérateurs de plongée expérimentés dans les sites récepteurs en les plaçant dans les différents types de substrat, soit la matre de Posidonie, les herbiers de *Cymodocea* ou le sable grossier. Les spécimens de *P. nobilis* seront placés à une certaine distance les uns des autres, afin d'éviter les criticités externes qui pourraient ruiner l'expérience de transplantation, comme les filets abusifs, les ancrages d'urgence, la présence de grands animaux pélagiques, etc. Cette distance ne sera pas trop importante pour garantir l'échange génétique entre les organismes pendant la période de reproduction. Des cages/dispositifs d'exclusion des prédateurs et des dommages doivent être mis en place. Chaque organisme transplanté sera marqué afin d'assurer les opérations de suivi et la localisation géographique (coordonnées géographiques) sera enregistrée via GPS

Objectif DEUX – Les adultes

La recherche d'adultes vise à trouver des reproducteurs et à vérifier leur état de santé afin de veiller à ce qu'ils ne se trouvent pas dans des lieux potentiellement dangereux et qu'il s'agit d'emplacements exempts d'agents pathogènes. Une cartographie et une analyse géographique des données peuvent également permettre de savoir s'il faut ou non les transplanter dans un même lieu à une distance facilitant la fécondation. Les actions à mener viseront donc à retrouver et protéger les individus vivants et à évaluer leur état de santé. A cet effet :

1. Recherche d'adultes

- Une action importante de recherche d'adultes vivants. Les activités de recherche d'individus adultes menées dans de nombreux lieux ces dernières années ont démontré l'efficacité des actions de science citoyenne qui parviennent à garantir un grand nombre d'observateurs qui, s'ils sont correctement formés, peuvent fournir des indications très précises, réduisant ainsi considérablement l'effort des chercheurs engagés dans les seules actions de vérification de l'espèce et de suivi des conditions sanitaires.

2. Caractérisation moléculaire des individus survivants de *Pinna nobilis*

- L'analyse moléculaire des individus survivants de *Pinna nobilis* est effectuée afin de :
 - i. Acquérir les connaissances appropriées sur la constitution génétique de l'espèce et leur corrélation possible avec la résistance aux maladies.
 - ii. Évaluer leurs paramètres génétiques de population et les comparer avec les données déjà existantes dans la littérature scientifique également pour aider au choix du site récepteur le plus compatible du point de vue génétique
 - iii. Recherche d'agents étiologiques possibles dans la moule fan analysée

Cette dernière étape représente un point crucial, puisque l'introduction de spécimens recrutés « exempts d'agents pathogènes » est la condition critique qui permet d'augmenter les chances de succès des activités de repeuplement et d'éviter toute propagation involontaire d'agents pathogènes comme le recommandent explicitement les mesures de conservation de l'UICN pour l'espèce¹.

3. Cartographie des individus survivants de *Pinna nobilis*

- La cartographie est un aspect fondamental pour pouvoir évaluer correctement l'opportunité de déplacer les spécimens ; une analyse comparative des distances entre les individus, des risques éventuels de dommages mécaniques et des principales caractéristiques océanographiques des sites sera en effet en mesure de fournir les meilleures indications sur la manière de procéder. Si l'état des individus est suffisamment sûr et si les conditions du site sont bonnes, il est possible de simplement marquer les individus et de maintenir leur suivi dans le temps. Si, en revanche, il est opportun de déplacer les individus, il faudra procéder aux étapes d'identification du site d'accueil et de transplantation.

4. Identification des sites récepteurs

- Pour la réception, les sites qui sont naturellement sains en raison de conditions environnementales défavorables au parasite [température et salinité] doivent être priorisés.
- Les sites récepteurs supplémentaires seront identifiés après une analyse minutieuse des caractéristiques environnementales des zones réceptrices qui présentent des conditions environnementales propices à la survie des individus reconstitués et où le régime de pression (tant naturelle qu'induite par l'homme) est aussi faible que possible. Les sites pilotes récepteurs doivent être sélectionnés compte tenu des informations antérieures sur les occurrences de *Pinna nobilis*, dans la mesure du possible, dans l'habitat des herbiers marins de *Posidonia oceanica* ou des herbiers de *Cymodocea nodosa/Zostera spp.* Afin d'évaluer les meilleurs sites de repeuplement des nacres au sein des herbiers marins ou sur des fonds de sable grossier, des activités de terrain par plongée sous-marine doivent être réalisées par des plongeurs scientifiques. Les meilleures zones des herbiers ou des fonds sablonneux, qui seront susceptibles de supporter une restauration réussie, seront choisies en fonction de la présence d'un substrat de matre ou d'un substrat approprié, selon l'état écologique de l'herbier, qui doit présenter une qualité écologique élevée (évaluée par l'adoption d'indices écologiques tel que requis par le Décret législatif 152/2006 transféré de la Directive européenne 2000/60/CE), une couverture élevée des fonds marins et une densité élevée de pousses. Selon les résultats de MERCES, la présence d'herbiers et la densité de spécimens de *Pinna nobilis* coopéreront pour les meilleurs résultats. Les sites doivent répondre aux caractéristiques de sécurité contre les

¹ Kersting, D., Benabdi, M., Čížmek, H., Grau, A., Jimenez, C., Katsanevakis, S., Öztürk, B., Tuncer, S., Tunesi, L., Vázquez-Luis, M., Vicente, N. & Otero Villanueva, M. 2019. *Pinna nobilis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e.T160075998A160081499. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-3.RLTS.T160075998A160081499.en>

dommages physiques (ancrage, conditions météorologiques extrêmes etc.) et d'absence d'agents pathogènes. Par conséquent, les sites tels que les zones protégées qui garantissent par leurs interdictions le plus haut degré de sécurité, du moins pour les risques mécaniques, seront privilégiés. Une action de surveillance de la présence d'agents pathogènes devra également être menée au moyen de l'une des analyses les plus récentes et scientifiquement prouvées pour vérifier la présence de parasites dans les sites donneur et récepteur. Des caractérisations génétiques doivent être effectuées dans chaque site donneur et récepteur afin d'éviter/d'exclure l'érosion génétique. Comme il n'y a probablement plus d'individus dans le site d'accueil, l'évaluation devrait se fonder sur la population géographique la plus proche et/ou sur l'échantillonnage antérieur, extrait des banques d'ADN et de la base de données.

5. Transport et transplantation des adultes

- Les individus collectés doivent être immédiatement placés dans une boîte remplie d'eau de mer afin d'être conduits, de la manière la plus sûre, vers le site de destination. Avant le déplacement, les opérateurs vérifieront l'intégrité de la coquille et du byssus. Toute phase de stockage entre la collecte et le transfert des adultes doit être de courte durée, réalisée de manière à ne pas exposer les animaux à des conditions stressantes et doit être effectuée en maintenant les organismes prélevés dans un milieu aquatique avec un renouvellement suffisant de l'eau. La replantation doit avoir lieu dans les deux jours suivant la récolte des animaux et dans les délais les plus courts possibles. Une fois sur les sites de destination, les spécimens de *P. nobilis* seront placés dans le milieu marin. La phase la plus critique, après le transport, est la transplantation dans le milieu aquatique caractérisé par des valeurs de salinité et de température de l'eau différentes, par rapport à celles qui sont présentes pendant le transport (et même avant, comparativement aux paramètres biophysiques et chimiques dans les réservoirs de croissance et de reproduction). Une attention particulière doit être accordée à la manipulation des spécimens. Il est très important de ne pas endommager le byssus et de ne pas briser la coquille des spécimens. En effet, *P. nobilis* a besoin du byssus pour s'ancrer dans les fonds marins, tandis que la coquille intacte permet la fermeture hermétique de l'organisme et préserve l'eau interne, retenue entre les valves, pendant les opérations d'installation. Avant toute opération de transplantation, entre le transport et l'installation, il y aura une phase intermédiaire, afin d'éviter au maximum le stress des organismes et de faciliter leur acclimatation au nouveau site. Cette étape d'adaptation implique le stockage des organismes dans des réservoirs spécifiques qui reproduisent les conditions chimiques et biophysiques du site de transplantation. Dans le but de transplanter un maximum de juvéniles et de les maintenir en vie pendant les opérations d'installation, le groupe de juvéniles à transplanter sera divisé en différents sous-groupes. Ainsi, différentes sessions d'acclimatation seront réalisées. Il est donc fondamental de pouvoir transplanter le plus grand nombre possible de juvéniles dans au moins une zone protégée, afin de favoriser la division du groupe à transplanter en différents sous-groupes et ensuite en différents sites récepteurs. Après la phase d'acclimatation, les organismes seront placés par des opérateurs de plongée expérimentés dans les sites récepteurs en les plaçant dans les différents types de substrat, soit la matre de Posidonie, les herbiers de *Cymodocea* ou le sable grossier. Les spécimens de *P. nobilis* seront placés conformément aux résultats de MERCES avec une densité de 1 ind./m² au maximum. Chaque organisme transplanté sera étiqueté afin d'assurer le suivi des opérations et le lieu géographique (coordonnées géographiques) sera enregistré par GPS.

PROGRAMME DE TRAVAIL ET CALENDRIER POUR 2023-2028

Action	Délais	A mettre en œuvre par
Élaboration et mise en œuvre d'une législation appropriée	Première année	Parties contractantes & SPA/RAC
Cartographie et suivi continu de la situation pour déterminer l'état de la population et si un recrutement a lieu même après la mortalité.	Continu	SPA/RAC, Parties contractantes, instituts de recherche, ONG,
Développer un dépôt accessible au public de tous les documents pertinents concernant <i>Pinna nobilis</i>	Continu	SPA/RAC & Groupe de travail pan-méditerranéen
Établir un réseau national/régional et une liste de diffusion de tous les acteurs concernés, y compris un groupe de travail national ayant une expertise juridique pour établir une procédure pour l'élevage en captivité et d'autres activités de restauration et créer un répertoire des institutions/chercheurs travaillant sur l'élevage en captivité pour promouvoir la mise en œuvre du projet	Première année	Parties contractantes, instituts de recherche, & SPA/RAC,
Cartographie précise des populations existantes, mise en place d'un suivi systématique avec des campagnes d'échantillonnage pour la détection des maladies, des études génétiques, des campagnes de marquage systématique des moules en éventail dans les zones peu profondes et mise en place de cages de protection autour des individus les plus exposés	Continu	Parties contractantes, instituts de recherche et ONG,
Définir des critères pour évaluer les populations et les sites présentant des conditions favorables et identifier les sites qui abritent des effectifs élevés de population de l'espèce	Première année	SPA/RAC, partenaires et instituts de recherche concernés
Établir des cartes/catalogues des points chauds et des sites présentant des conditions environnementales favorables au repeuplement et évaluer leur durabilité	Première année pour l'établissement et mis à jour annuellement	Parties contractantes, instituts de recherche, & SPA/RAC,
Promouvoir la translocation localisée d'individus de sites à faible probabilité de survie vers des sites plus protégés, conformément aux procédures les plus récentes et approuvées.	Mise en place de la procédure la première année - Continu	
Établir des aires marines protégées ou agrandir les aires existantes avec une gestion et une application efficaces des mesures visant à aider à la préservation des nouveaux individus de <i>Pinna nobilis</i> qui semblent résistants à l'impact du parasite si certaines mesures de protection sont appliquées et mettre à jour le plan de gestion et les règlements et/ou le zonage de la AMP existante où <i>Pinna nobilis</i> est présente en tenant compte des mesures de gestion spécifiques pour l'espèce conformément à la les stratégies pertinentes (SAPBIO Post 2020, Stratégie européenne 2030 etc...)	Continu	Parties Contractantes
Établir des systèmes écologiques (c.-à-d. mouillage, etc.) dans les zones fréquentées par les plaisanciers afin de limiter l'impact humain sur les populations de moules et les herbiers marins, où les juvéniles et les sous-adultes s'installent ;	Continu	Parties contractantes et ONG

Développer des actions de sensibilisation du public et des professionnels et de plaider sur le statut de l'espèce et promouvoir la science citoyenne	Continu	Parties contractantes, instituts de recherche & ONG
Mettre en place un groupe de travail pan-méditerranéen coordonné par le SPA/RAC pour mettre en œuvre et évaluer la mise en œuvre / mise à jour du programme de restauration actuel, proposer et évaluer la translocation des individus résistants (Génétique, translocation, écotoxicologie, parasitologie, benthique et écologie, gestion des AMP, élevage en captivité)	Première année	SPA/RAC & Parties Contractantes
Organiser une session spéciale pour <i>Pinna nobilis</i> pendant les symposiums méditerranéens sur les habitats clés et les ENI	Chaque 3 ans	SPA/RAC & Groupe de travail pan-méditerranéen
Élaborer des lignes directrices, des recommandations et un protocole standardisé pour surveiller, étudier les populations, pour la translocation et / ou le sauvetage ex-situ et l'élevage en captivité.	Première année - Continu	SPA/RAC, Groupe de travail pan-méditerranéen, institutions de recherche
Favoriser l'installation de collecteurs larvaires à des endroits stratégiques	Continu	SPA/RAC, Groupe de travail pan-méditerranéen, institutions de recherche
Organiser une formation régionale/nationale et des visites d'échange le cas échéant	Continu	SPA/RAC & Parties Contractantes
Organiser et promouvoir les études universitaires pour les étudiants par le biais de cours de type master, en encourageant les études de troisième cycle sur la biologie et la restauration de <i>Pinna nobilis</i>	Continu	Parties contractantes et établissements universitaires
Inviter les pays à inclure <i>Pinna nobilis</i> dans la mise en œuvre du programme national de surveillance de la composante habitat de leur IMAP (Programme intégré de surveillance et d'évaluation) national et dans les projets relatifs aux espèces ou habitats liés à <i>Pinna nobilis</i>	Première année	SPA/RAC & Parties Contractantes
Une priorité devrait être donnée à l'étude des agents pathogènes responsables de la mortalité de masse, de son cycle de vie et de sa propagation	Première année - Continu	Groupe de travail pan-méditerranéen, institutions de recherche
Etude en profondeur de la résistance des individus aux pathogènes et utilisation d'approches innovantes telles que la modélisation	Continu	Institutions de recherche
Promouvoir l'établissement d'une base de données sur la diversité génétique des populations de <i>Pinna nobilis</i> , y compris les individus résistants	Première année - Continu	SPA/RAC, Groupe de travail pan-méditerranéen, institutions de recherche
Actions consacrées à la restauration de <i>Pinna nobilis</i> au « niveau de la population » tant pour les juvéniles que pour les adultes	Continu	SPA/RAC, Groupe de travail pan-méditerranéen, institutions de recherche, AMP & ONG

BIBLIOGRAPHIE

- CARELLA, F., et al. A mycobacterial disease is associated with the silent mass mortality of the pen shell *Pinna nobilis* along the Tyrrhenian coastline of Italy. *Scientific reports*, 2019, 9.1: 1-12.
- CATANESE, Gaetano, et al. Haplosporidium pinnae sp. nov., a haplosporidan parasite associated with mass mortalities of the fan mussel, *Pinna nobilis*, in the Western Mediterranean Sea. *Journal of invertebrate pathology*, 2018, 157: 9-24.
- COPPA, Stefania, et al. Density and distribution patterns of the endangered species *Pinna nobilis* within a *Posidonia oceanica* meadow in the Gulf of Oristano (Italy). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 2010, 90.5: 885-894.
- COPPA, Stefania, et al. The effect of hydrodynamics on shell orientation and population density of *Pinna nobilis* in the Gulf of Oristano (Sardinia, Italy). *Journal of Sea Research*, 2013, 76: 201-210.
- GARCÍA-MARCH, José R., et al. Population structure, mortality and growth of *Pinna nobilis* Linnaeus, 1758 (Mollusca, Bivalvia) at different depths in Moraira bay (Alicante, Western Mediterranean). *Marine Biology*, 2007, 150.5: 861-871.
- KATSANEVAKIS, Stelios. Population ecology of the endangered fan mussel *Pinna nobilis* in a marine lake. *Endangered species research*, 2005, 1: 51-59.
- KRALIK, Petr; RICCHI, Matteo. A basic guide to real time PCR in microbial diagnostics: definitions, parameters, and everything. *Frontiers in microbiology*, 2017, 8: 108.
- ORFANIDIS, Sotiris, et al. Benthic macrophyte communities as bioindicators of transitional and coastal waters: relevant approaches and tools. *Transitional Waters Bulletin*, 2007, 1.3: 45-49.
- PANARESE, Rossella, et al. Haplosporidium pinnae associated with mass mortality in endangered *Pinna nobilis* (Linnaeus 1758) fan mussels. *Journal of invertebrate pathology*, 2019, 164: 32-37.
- PRADO, Patricia; CAIOLA, Nuno; IBÁÑEZ, Carles. Habitat use by a large population of *Pinna nobilis* in shallow waters. *Scientia Marina*, 2014, 78.4: 555-565.
- PRADO, Patricia, et al. Presence of *Vibrio mediterranei* associated to major mortality in stabled individuals of *Pinna nobilis* L. *Aquaculture*, 2020, 519: 734899.
- RABAOUI, Lotfi; TLIG-ZOUARI, Sabiha; BEN HASSINE, Oum Kalthoum. Distribution and habitat of the fan mussel *Pinna nobilis* Linnaeus, 1758 (Mollusca: Bivalvia) along the northern and eastern Tunisian coasts. *Cahiers de Biologie Marine*, 2008, 49.1: 67.
- RICHARDSON, C. A., et al. Age and growth of the fan mussel *Pinna nobilis* from south-east Spanish Mediterranean seagrass (*Posidonia oceanica*) meadows. *Marine Biology*, 1999, 133.2: 205-212.
- SANNA, Daria, et al. Mitochondrial DNA reveals genetic structuring of *Pinna nobilis* across the Mediterranean Sea. *PLoS One*, 2013, 8.6: e67372.
- SANNA, Daria, et al. New mitochondrial and nuclear primers for the Mediterranean marine bivalve *Pinna nobilis*. *Mediterranean Marine Science*, 2014, 15.2: 416-422.
- SCARPA, Fabio, et al. Multiple non-species-specific pathogens possibly triggered the mass mortality in *Pinna nobilis*. *Life*, 2020, 10.10: 238.
- VAZQUEZ-LUIS, Maite, et al. SOS *Pinna nobilis*: a mass mortality event in western Mediterranean Sea. *Frontiers in Marine Science*, 2017, 4: 220.
- ZAVODNIK, Dusan; HRS-BRENKO, M.; LEGAC, Mirjana. Synopsis on the fan shell *Pinna nobilis* L. in the eastern Adriatic Sea. *Les espèces marines à protéger en Méditerranée*, 1991, 169-178.

ANNEXE 1 – ETUDE DE CAS ET ETAT DES LIEUX

Le projet MERCES – Croatie, Italie, Turquie

1. Le projet MERCES "Marine Ecosystem Restoration in Changing European Seas" (La restauration des écosystèmes marins dans les mers européennes en mutation), coordonné par l'Università Politecnica delle Marche (Italie), a reçu un financement du programme de recherche et d'innovation Horizon 2020 de l'Union européenne, dans le cadre de l'accord de subvention n° 689518. Le projet était axé sur la restauration de différents habitats marins dégradés, dans le but : 1) d'évaluer le potentiel des différentes technologies et approches ; 2) de quantifier les retours en termes de services écosystémiques et leurs impacts socio-économiques ; 3) de définir les cadres juridico-politiques et de gouvernance nécessaires pour optimiser l'efficacité des différentes approches de restauration. Les objectifs spécifiques comprennent : a) l'amélioration des actions de restauration existantes et le développement de nouvelles actions de restauration des habitats marins dégradés ; b) le renforcement de l'adaptation des habitats marins dégradés de l'UE au changement global ; c) le renforcement de la résilience et des services écosystémiques marins ; d) la réalisation d'analyses coûts-bénéfices des mesures de restauration marine ; e) la création de nouvelles cibles et opportunités industrielles. Pour atteindre ces objectifs, MERCES a créé un consortium multidisciplinaire avec des compétences en écologie marine, restauration, droit, politique et gouvernance, socio-économie, transfert de connaissances, diffusion et communication. MERCES est parti de l'inventaire des habitats marins dégradés de l'UE (WP1), a mené des expériences pilotes de restauration (WP2, WP3, WP4) et a évalué les effets de la restauration sur les services écosystémiques (WP5).

2. L'ensemble des travaux MERCES 2 (WP2) se concentre sur les habitats des fonds meubles peu profonds, en particulier les herbiers marins et les récifs de bivalves. En utilisant une combinaison d'enquêtes sur le terrain, d'expériences en aquarium et sur le terrain et d'études de cas, le WP2 avait pour objectif de :

- a. déterminer les facteurs affectant le succès de la restauration des herbiers marins,
- b. tester si l'intégration des retours d'expérience et des interactions dans la restauration augmentait les taux de réussite, et
- c. fournir des recommandations aux gestionnaires et aux décideurs politiques.

3. MERCES WP2 a compris 9 groupes de recherche dans 7 pays (Croatie, Estonie, Finlande, Italie, Pays-Bas, Norvège, Turquie). Dans les mers d'Europe du Nord (mer Baltique, mer du Nord, mer des Wadden), les espèces testées comprennent la zostère marine (*Zostera marina*), la zostère naine (*Z. noltii*), la moule bleue (*Mytilus edulis*) et la palourde baltique (*Macoma balthica*). Dans le sud de l'Europe (mer Adriatique, mer Méditerranée orientale), les chercheurs restaurent les herbiers marins de *Cymodocea nodosa* et de *Posidonia oceanica* et la grande nacre *Pinna nobilis*, une espèce menacée.

4. En ce qui concerne les actions pilotes du sud de l'Europe, plusieurs activités ont été menées. L'une d'entre elles, très intéressante, était la co-restauration des herbiers et des bivalves en utilisant *Pinna nobilis*, *Cymodocea* et *Zostera*. La question principale était de savoir si la transplantation d'herbiers et de *P. nobilis* ensemble pouvait augmenter la survie et la croissance de l'une ou l'autre ou des deux espèces. La transplantation de *P. nobilis* dans des herbiers existants peut-elle augmenter la croissance/survie des herbiers ? Les expériences ont été menées dans deux sites différents (Italie et Croatie).

5. En Italie, la transplantation de *P. nobilis* a été effectuée à l'aide de tiges d'acier inoxydable en forme de U. Tout d'abord, un logement pour le bivalve à transplanter a été préparé dans le fond marin à l'aide d'un carottier. Ensuite, le trou a été partiellement rempli de cailloux et le bivalve a été ancré avec la tige d'acier. Neuf spécimens de *P. nobilis* ont été transplantés dans trois parcelles expérimentales (1x1 m) : trois spécimens dans des sédiments nus, trois spécimens dans des herbiers naturels et trois spécimens dans des herbiers transplantés. Abondance de *P. nobilis* : 1 ind./m² pour chaque parcelle expérimentale. Transplantation d'herbiers marins à l'aide de sacs biodégradables. Les traitements expérimentaux ont compris la transplantation d'un herbier marin, la transplantation d'un herbier marin et de *P. nobilis* et de l'herbier marin existant comme contrôle. Dimension de chaque parcelle expérimentale (1x1 m, n=3). La présence d'herbiers

marins a favorisé la survie des spécimens de *P. nobilis* tandis que les conditions hydrodynamiques sévères survenues immédiatement après le début de l'expérience ont limité le succès de la transplantation des herbiers marins. La méthode d'ancrage proposée pour les spécimens de *P. nobilis* s'est avérée efficace. Les parcelles avec *P. nobilis* dans les herbiers marins existants ont montré des concentrations de matière organique plus élevées immédiatement après la translocation des bivalves. Aucune différence entre les parcelles expérimentales en termes d'abondance et de diversité de la méiofaune n'a été observée immédiatement après le début de l'expérience. Les conditions environnementales immédiatement après la translocation jouent un rôle clé dans la survie de *P. nobilis* et des herbiers transplantés. La présence d'herbiers naturels agit comme une barrière pour *P. nobilis* en réduisant les conditions hydrodynamiques sévères et en évitant les effets d'enfouissement possibles. La présence de *P. nobilis* peut augmenter la disponibilité d'aliments pour la faune benthique associée aux herbiers marins. Compte tenu des résultats du site croate, la transplantation de *P. nobilis* dans l'herbier améliore sa survie dans les zones exposées, étant donné que la transplantation est (idéalement) effectuée au début de l'été, ce qui donne suffisamment de temps aux grandes nacres pour régénérer leur byssus et bien s'ancrer, avant les tempêtes de l'hiver. En outre, la transplantation de grandes nacres en densité élevée (par exemple 5 ind./m²) peut favoriser la croissance de *C. nodosa* par un possible effet fertilisant.

6. Une autre question a été abordée par le projet : Le recouvrement par une cage peut-il aider *Pinna* à s'établir après la translocation ? Pour l'expérience menée en Turquie, la translocation de *P. nobilis* a été effectuée en collectant de petits individus à proximité et en creusant sur un rayon de 50 cm et des sédiments de 50-60 cm de profondeur pour protéger le byssus autant que possible. Tous les individus ont ensuite été transférés en couvrant le sédiment attaché avec un sac en plastique et transportés sous l'eau. Ils ont été placés et recouverts de leur sédiment d'origine et aucun support n'a été utilisé. Ensuite, des cages de 1x1x0.5 m ont été utilisées pour couvrir les individus. Les individus transplantés de *P. nobilis* étaient vivants et en bonne santé après les périodes d'hiver et de printemps. Quelques nouveaux individus ont été observés au printemps sur les parcelles couvertes et non couvertes par des cages et quelques-uns sur le cadre des cages. Toutefois, en juillet 2018, en raison d'une infection parasitaire, tous les individus semblaient en mauvaise santé (fermant lentement leur coquille) ou même morts. Il a été observé que les cages aidaient les grandes nacres à s'ancrer après les translocations et favorisaient le recrutement de nouveaux individus, mais une conclusion définitive ne peut être faite en raison de l'épidémie de maladie qui a anéanti une grande partie de la population méditerranéenne de *P. nobilis*.

7. La principale conclusion pour MERCES (Manuel de mesures de restauration dans les fonds meubles, fondé sur des études et des expérimentations, WP2 Livrable 2.1) était que dans les habitats du sud de l'Europe (Méditerranée), une aide mutuelle de *P. nobilis* et d'un herbier a été observée et que la transplantation de *P. nobilis* au sein d'un herbier marin améliorerait la survie de l'herbier, en particulier dans les zones exposées. En outre, la transplantation de *P. nobilis* à une densité de 5 ind./m² peut favoriser la croissance de *C. nodosa* par fertilisation. La présence d'herbiers marins naturels agit comme une barrière qui réduit le stress hydrodynamique sévère pour *P. nobilis* et évite les effets d'enfouissement possibles. Inversement, la présence de *P. nobilis* peut augmenter la disponibilité d'aliments pour la faune benthique associée aux herbiers marins. En d'autres termes, la facilitation des bivalves peut non seulement améliorer la restauration des herbiers, mais les interactions entre les bivalves et les herbiers se sont avérées positives pour les deux espèces.

Le projet RESTORFAN – Italie

8. Grâce à la contribution financière pour les petits projets de MedPAN, en 2019, le projet RESTORFAN a été réalisé dans l'aire marine protégée (AMP) de Miramare, en Italie. Tous les objectifs spécifiques du projet se sont appuyés sur les informations actuellement disponibles et les connaissances des experts recueillies au cours de plusieurs réunions ; la proposition visait à satisfaire toutes les recommandations de l'UICN et les résultats de la première réunion des partenaires méditerranéens pour coordonner une réponse à la crise de *Pinna nobilis* (en ligne, février 2021), du fait que le nord de la mer Adriatique et en particulier le golfe de Trieste (Italie) représentent des zones clés pour une action précoce et une mise en œuvre rapide des mesures de conservation.

9. Les objectifs spécifiques consistaient à :

1. Augmenter les connaissances scientifiques internationales (par le biais de nouvelles recherches et de nouveaux articles) sur l'espèce.
2. Tester une éclosion/culture expérimentale, avec des spécimens provenant de fermes mytilicoles, finalisé par l'organisation d'un programme de sauvetage tel que requis par les directives de l'UICN. En effet, selon les lignes directrices de l'UICN, l'élaboration d'un programme de sauvetage à proximité des zones affectées est primordiale et il devrait être développé dès que possible dans les zones où il y existe une densité importante de *Pinna nobilis* et où il est confirmé que le parasite n'est pas arrivé.
3. Conformément à l'objectif - "soulever la question à l'échelle nationale et plaider pour l'élaboration d'un programme de sauvetage", l'AMP de Miramare a été à l'initiative de plusieurs réunions entre tous les principaux acteurs locaux, afin de promouvoir l'élaboration d'un programme de sauvetage. Dans ce contexte, RESTORFAN a élaboré un protocole, en conformité avec les directives de l'UICN, pour le programme de sauvetage local/de bassin de *Pinna nobilis*.
4. "Collaborer à l'identification des zones à risque de *Pinna nobilis*" dans toute la région. Une carte de densité a été préparée afin de représenter les zones à risque les plus pertinentes à l'échelle de Friuli Venezia Giulia pour soutenir les évaluations futures. Une proposition de programme de surveillance pour ces "sites à risque" a été produite et remise aux autorités régionales (Friuli Venezia Giulia, Italie).

10. Parmi les principaux résultats du projet figure incontestablement l'élaboration du protocole pour le rétablissement et la transplantation des spécimens de juvéniles collectés dans les palangres des mytiliculteurs. La survenue de la mortalité massive pendant le projet a considérablement influencé les activités en poussant à une forte action de sensibilisation et de recherche des survivants. Les données collectées ont été utilisées pour la réalisation de cartes thématiques du golfe de Trieste. Un autre résultat du projet a été le réseau de relations avec les chercheurs et les AMP, débouchant sur la préparation du projet LIFE Pinna, qui a ensuite été financé par le programme LIFE.

Le projet LIFE PINNA – Italie, Slovénie

11. Financé par la contribution du programme LIFE, l'instrument financier de l'Union européenne soutenant les projets en faveur de l'environnement, de la conservation de la nature et de l'action climatique. L'objectif du projet LIFE PINNA consiste à repeupler les zones identifiées dans le projet avec des individus sains, survivants de la mortalité massive qui a débuté en 2016. Les zones concernées sont notamment le golfe de Trieste, en tant que site donneur, l'AMP de Bergoggi (Ligurie, Italie) et l'AMP d'Asinara (Sardaigne, Italie) en tant que sites récepteurs. Les survivants seront vraisemblablement caractérisés par une résistance naturelle aux agents pathogènes responsables de l'épidémie. Une analyse du niveau d'infection pathogène dans les tissus des individus survivants ou mourants sera effectuée afin d'identifier les micro-organismes impliqués dans la maladie. En outre, étant donné que l'identification correcte des agents pathogènes responsables de la mortalité massive est un point crucial dans la mise en place de plans de rétablissement adéquats pour cette espèce, il est également important d'évaluer le niveau de contamination/infection survenant là où les nacres sont mortes et là où elles ont survécu. Des actions de repeuplement seront menées avec la transplantation d'organismes juvéniles et, en parallèle, des protocoles pour l'élevage en captivité d'organismes adultes seront élaborés. Les organismes issus de cette insémination artificielle seront utilisés pour repeupler les zones affectées.

12. Les objectifs spécifiques comprennent :

- L'analyse et la sélection d'aires marines ou de transition appropriées pour le repeuplement ;
- La caractérisation moléculaire des spécimens survivants et la sélection des meilleurs candidats à la reproduction ;

- Le développement et la mise en œuvre des techniques de repeuplement les plus appropriées, par la translocation de juvéniles auto-recrutés et la reproduction en captivité de *P. nobilis*, afin de relâcher un grand nombre de spécimens dans la nature en quelques années ;
- Le maintien d'un bon niveau de variation génétique parmi les individus utilisés pour le repeuplement afin d'obtenir une descendance qui sera la fondatrice de nouvelles populations futures avec une bonne condition physique sur le long terme ;
- Le suivi des sites donneurs en vue d'évaluer la situation de *P. nobilis* (y compris les actions de science citoyenne) ;
- Le suivi des organismes "sentinelles" en termes de niveau d'infection des agents pathogènes responsables de la mortalité massive de *P. nobilis*, afin de détecter rapidement les valeurs anormales qui sont potentiellement dangereuses pour la survie de l'espèce ;
- L'engagement du public pour accroître la sensibilisation à *P. nobilis* et influencer le comportement des usagers de la mer ; et
- Le transfert et la reproduction des compétences et des méthodologies dans les zones où la grande nacre est en régression.

Le projet LIFE PINNARCA – France, Grèce, Italie, Espagne

13. LIFE PINNARCA est un projet européen consacré à la protection et à la restauration des populations de grandes nacres *Pinna nobilis* en Méditerranée. Il a été mené avec la contribution du programme LIFE, l'instrument financier de l'Union européenne soutenant les projets en faveur de l'environnement, de la conservation de la nature et de l'action climatique.

14. L'équipe du projet se concentre sur trois principaux objectifs :

- 1) Sensibiliser davantage à l'échelle mondiale, en vue de réduire les possibilités de vandalisme et de collecte illégale des grandes nacres restantes, mais également en vue d'appeler à une large collaboration du public. Les actions seront orientées vers les écoles et le grand public, notamment la production d'une vidéo, des ateliers internationaux et des actions de bénévolat ;
- 2) Rassembler toutes les informations existantes sur les populations restantes et les individus résistants dans une base de données intégrée au site web du projet, afin de fournir des informations aux autres pays qui planifient des actions d'atténuation et de rétablissement. Cet objectif sera atteint par la mise en œuvre d'un recensement complet des zones où l'on trouve des individus résistants ou des populations non affectées, ainsi que par l'installation de collecteurs de larves pour favoriser un recrutement réussi ;
- 3) Développer des actions de rétablissement actif, axées à la fois sur les individus résistants et sur les populations restantes non résistantes, afin d'augmenter les probabilités de rétablissement de l'espèce. Cet objectif implique des efforts pour regrouper les individus résistants, transférer les individus vulnérables vers des zones plus sûres, échanger des informations génétiques entre les populations restantes, identifier les emplacements présentant des conditions optimales pour repeupler avec des nacres saines, maintenir les individus dans des installations intérieures et développer des mesures actives afin d'améliorer les milieux où sont encore présents des individus sains non résistants.

15. Toutes les zones sélectionnées dans le cadre du projet abritent des habitats appropriés pour les populations de *Pinna nobilis*, y compris des herbiers sains de *Posidonia oceanica* (dans toutes ces zones, à l'exception des îles Columbretes, en Espagne), des baies fermées avec des conditions hydrodynamiques douces ou des bancs de maërl plus profonds, avec un substrat et des conditions optimales pour le maintien des grandes nacres. Ces zones abritaient également des populations denses de nacres avant l'événement de mortalité massive (EMM) et disposaient de quelques stations de surveillance permanentes qui ont fait l'objet d'enquêtes périodiques. Par conséquent, des informations a priori sur la répartition des grandes nacres sont disponibles et la probabilité de trouver des nacres résistantes dans ces zones est plus élevée que dans d'autres sites non considérés comme des zones spéciales de conservation (ZSC).

La "Préservation de *P. nobilis* en mer Adriatique" - Un projet national croate

16. Actuellement, en Méditerranée, le projet national ayant la plus grande portée est celui qui est actuellement mené en Croatie : "Préservation de *Pinna nobilis* dans la partie sud de la mer Adriatique". Le projet a été lancé fin 2020 pour harmoniser les actions menées par les institutions impliquées dans la protection du mollusque le long de l'Adriatique croate. Le projet est mis en œuvre dans le cadre du programme national pour la conservation de *Pinna nobilis* dans la mer Adriatique, coordonné par l'Institut pour la protection de l'environnement et de la nature du ministère de l'Economie et du développement durable de la République de Croatie. La valeur totale du projet est de 2.500.000,00 kunas croates (environ 312.500 €), dont le Fonds pour la protection de l'environnement et l'efficacité énergétique cofinance 80%, tandis que 20% du financement sont fournis par les partenaires du projet. La durée estimée du projet est jusqu'en 2022.

17. Les fonds sont destinés à la mise en œuvre d'activités in situ, telles que la mise en place de collecteurs de larves, la protection des larves et des individus adultes vivants contre les prédateurs et l'impact anthropique, le marquage des sites à protéger, le suivi des positions des survivants, le maintien des individus adultes et des larves dans des conditions contrôlées (ex-situ) et la sensibilisation du public par diverses activités éducatives.

18. Le coordinateur est l'institution publique pour la gestion des parties protégées de la nature dans le comté de Split-Dalmatie "Mer et Karst" et les partenaires sont l'Institut vétérinaire croate, l'Institut d'océanographie et de pêche, l'institution publique pour la gestion des zones protégées de la nature du comté de Dubrovnik-Neretva, l'institution publique "Parc naturel des îles Lastovo", l'institution publique "Parc national de Mljet", l'institution publique de la réserve de Lokrum, le musée d'histoire naturelle et le zoo de la ville de Split, l'Université de Dubrovnik. En signant un accord avec les coordinateurs pour le nord et le centre de l'Adriatique (JU NP Brijuni et JU Telašćica), l'Aquarium de Pula est officiellement devenu un partenaire du projet, en tant que principale institution en Croatie chargée de maintenir des *Pinna nobilis* juvéniles et adultes dans des conditions contrôlées (ex-situ).

Autres activités/études pertinentes ou récentes – Malte, Espagne, Turquie

19. Il convient de mentionner les autres activités/études pertinentes ou récentes :

Pays	Année	Activité / Titre	Référence
Malte	2022	Connaissance de l'océan et acquisition de données scientifiques par le biais de campagnes scientifiques citoyennes : une approche mixte dans les îles maltaises pour recueillir des informations sur <i>Pinna nobilis</i> et <i>Pinna rudis</i> .	https://ejournals.epublishing.ekt.gr/index.php/hcmr-med-mar-sc/article/view/26623
Espagne	2015	Développement embryologique de <i>Pinna nobilis</i> dans des conditions contrôlées	https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-13878-7_42
Espagne	2021	Les facteurs de reproduction, planctoniques et de peuplement façonnent les modèles de recrutement de l'une des dernières grandes populations de <i>Pinna nobilis</i> dans les eaux espagnoles	https://link.springer.com/article/10.1007/s10750-019-04137-5
Turquie	2011	Culture de la nacre (<i>Pinna nobilis</i> , Linnaeus 1758) en fonction de la taille dans un système de culture en suspension dans la baie d'Izmir, en mer Egée, en Turquie.	https://vetdergikafkas.org/uploads/pdf/pdf_KVFD_1032.pdf
Turquie	2021	Population, aquaculture et applications de transplantation de l'espèce en danger critique d'extinction <i>Pinna nobilis</i> (Linnaeus 1758) en Méditerranée	https://dergipark.org.tr/en/pub/masteb/issue/64818/627562

ETAT DES LIEUX

20. Le tableau ci-dessous présente les principales actions entreprises dans les différents projets afin de mieux évaluer de manière comparative la stratégie la plus partagée et donc sur quoi il convient de se concentrer pour proposer des actions communes non seulement à l'échelle nationale mais également à l'échelle méditerranéenne.

ACTION	MERCES	RESTORFAN	LIFE PINNA	PINNARCA LIFE	Projet HR
Evaluation de l'état environnemental des herbiers marins et des populations de <i>Pinna nobilis</i> dans les zones donneuses et réceptrices	X	X	X	X	X
Caractérisation moléculaire des espèces sentinelles dans les possibles sites pilotes de repeuplement			X		
Caractérisation moléculaire des individus survivants de <i>Pinna nobilis</i>		X	X	X	
Surveillance des agents pathogènes dans les sites de repeuplement à l'aide d'espèces sentinelles			X		
Suivi des juvéniles implantés	X	X	X		X
Suivi de l'impact du projet sur le statut de <i>P. nobilis</i>	X	X	X	X	X
Rapport avec des suggestions de mesures correctives qui pourraient être mises en œuvre	X	X	X	X	X
Localisation des sites favorables				X	
Collecte et croissance des individus de <i>Pinna nobilis</i> auto-recrutés, recrutés par des collecteurs		X	X	X	X
Adaptation, élevage et, si possible, reproduction en vue d'un repeuplement actif			X		X
Collecte et transport (translocation) des spécimens de l'autocapture vers les sites récepteurs	X	X	X	X	X
Installation des spécimens de <i>Pinna nobilis</i> dans les zones pilotes	X		X		X
Recensement exhaustif dans les zones profondes et peu profondes		X	X	X	X
Actions pour l'amélioration de l'environnement dans les zones de sanctuaire des nacres				X	
Essais et analyse des traitements				X	

21. Les actions mises en œuvre par les différents projets ont des points communs qui méritent d'être considérés comme des priorités dans le programme de restauration de *Pinna nobilis* ; il s'agit notamment d'actions concernant l'installation de collecteurs pour la collecte de larves, les évaluations environnementales des conditions sanitaires des sites avec des *Pinna* vivants, le suivi des juvéniles implantés (lorsque la replantation à partir du projet est envisagée), la mise à jour continue de toutes les méthodologies utilisées, la croissance des juvéniles dans des aquariums et/ou dans des installations également en mer, le transport d'individus vers des

sites "sûrs" et des actions de suivi approfondi également par le biais de la science citoyenne. Sur certaines actions à entreprendre, en revanche, l'accord ne semble pas total ; il s'agit toutefois de choix déterminés par le fait d'avoir prévu ou non la transplantation d'individus entre différents sites : en effet, là où il a été décidé de mettre en œuvre uniquement des pratiques de collecte par collecteurs, la replantation a été privilégiée dans des lieux tels que les lagunes où les individus, pas nécessairement résistants, semblent néanmoins survivre en raison de conditions défavorables aux pathogènes. Dans ces lieux, il ne serait pas judicieux de mettre en œuvre des techniques de surveillance avec des sentinelles environnementales comme cela est envisagé lorsque les individus doivent être transférés entre des sites même très éloignés dont l'adéquation doit être évaluée au préalable pour éviter de perdre un temps précieux et des ressources biologiques.

22. Toutefois, de nombreux points communs peuvent être observés dans les protocoles de récolte, de translocation et de replantation qui sont le résultat des nombreux projets réalisés ou en cours. En voici quelques-uns qui peuvent être utiles dans la phase de mise en œuvre opérationnelle du Programme de restauration :

Le Protocole RESTORFAN

23. Un protocole pour la manipulation, la capture et la restauration de *Pinna nobilis* a été élaboré au cours du projet. Le protocole est joint à ce document (Annexe 2). Plus précisément, le protocole est divisé en 4 parties qui traitent respectivement du prélèvement (1), de la collecte et de l'extraction des sédiments (2), de l'habitat et de la croissance des organismes (3) et de la réimplantation des organismes (4). Au cours du projet, des collecteurs de larves ont été réalisés et testés avec succès selon le protocole de l'UICN.

Le Protocole de l'UICN relatif aux collecteurs de larves (Kersting & Hendriks 2019)

24. Les collecteurs de larves ont consisté en une série de sacs en filet en plastique contenant des filaments de nylon enchevêtrés ou des sacs à oignons (voir De Gaulejac et al., 2003 ; Cabanellas-Reboredo et al., 2009 ; Kersting et García-March, 2017 ; Vicente, 2020, pour de plus amples détails), couvrant ainsi la principale période de reproduction et de peuplement de l'espèce (Cabanellas-Reboredo et al., 2009 ; Deudero et al., 2017 ; Kersting et García-March, 2017). L'observation des recrues de *P. nobilis* s'est effectuée à l'œil nu, ce qui a permis de détecter des recrues de tailles allant jusqu'à 0,3 cm de longueur antéro-postérieure. Les recrues extraites des collecteurs ont été installées soit dans des aquariums (García-March et al., 2020 ; Vicente, 2020), soit dans des cages de croissance sur le terrain conformément à Kersting et García-March (2017). Le protocole complet est joint au présent document (Annexe 2).

Le document sur l'état des lieux en Grèce, "Population, aquaculture et applications de transplantation de l'espèce gravement menacée *P. nobilis* (Linnaeus 1758) en Méditerranée", Acarli 2021

25. La population de grande nacre *Pinna nobilis*, en Méditerranée, a été touchée par des facteurs tels que la surpêche, les processus de pêche, la pollution environnementale, la destruction de l'habitat, le tourisme, etc. Par conséquent, l'espèce *P. nobilis* a été placée sous protection par les décisions du Conseil de l'Europe et de la Convention de Barcelone. Toutefois, il a été rapporté que son taux de mortalité de 100% était dû à *Haplosporidium pinnae*, un parasite présent dans différentes régions méditerranéennes. Le statut de *P. nobilis* a donc été révisé pour être réduit de "Vulnérable" à "En danger critique d'extinction" et l'importance de toutes les études sur l'espèce a encore augmenté. Cette étude vise à présenter le statut actuel de *P. nobilis*, espèce originaire de Méditerranée, en combinant les études pertinentes sur l'écologie, le processus aquacole (larves, installation et élevage du naissain), les méthodes de culture et la transplantation. L'étude a fourni des connaissances complètes sur l'état actuel de la population de *P. nobilis*, de l'aquaculture et des activités de transplantation. Hormis les études visant à déterminer les stocks, en particulier celles portant sur la collecte de jeunes individus dans la nature, leur plantation et leur culture dans des sites prédéterminés, ainsi que leur production par diverses cultures à partir de leur phase larvaire, sont d'une grande importance en termes de réhabilitation et de subsistance de la population endommagée de *P. nobilis*. Par conséquent, des habitats

alternatifs et potentiels devraient être créés grâce à la transplantation et à l'aquaculture. Des zones marines protégées doivent être déterminées pour permettre le maintien d'une population saine de *P. nobilis*.

ANNEXE 2 – Le Protocole RESTORFAN



Area Marina Protetta di Miramare
Viale Miramare 349
34014 Trieste
Tel: 040 224147
Fax: 040 224636
e-mail: info@riservamarinamiramare.it
www.riservamarinamiramare.it

Pinna nobilis, Protocoles de manipulation, de capture et de restauration (2019)

1. Le protocole relatif à la capture
2. Le protocole relatif au prélèvement et à l'extraction des sédiments
3. Le protocole relatif à l'habitat et à la croissance des organismes
4. Le protocole relatif à la réimplantation des organismes

1. LE PROTOCOLE RELATIF A LA COLLECTE DES JUVENILES DE *PINNA NOBILIS*

Les populations de *Pinna nobilis* dans le Golfe de Trieste atteignent une maturation des gonades pendant la période entre août et novembre. Durant cette période, il est possible d'observer les nacres émettant des gamètes dans la colonne d'eau.

Les opérations de capture doivent être menées durant cette période.

Nous procédons alors à la préparation de la structure de capture (Figure 1) composée d'un lest, d'une corde d'une longueur maximale de 2 mètres, d'un flotteur et du collecteur. Parmi les 2 systèmes de collecte testés (vertical et horizontal), le système horizontal a été privilégié. On utilise donc un filet lanterne circulaire (dispositifs en plastique utilisés dans la mariculture) sur lequel il est possible de fixer différents types de matériaux textiles afin d'augmenter l'efficacité de la collecte. La méthode la plus simple consiste à mettre à l'intérieur du filet lanterne un matériau textile comme un sac de pommes de terre, un sac de jute, des cordes, etc. Cette méthode permet aux juvéniles de se fixer aux larves retenues.

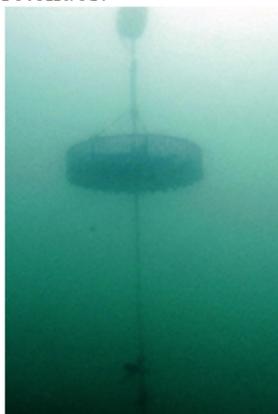


Figure 1. Collecteur horizontal

2. LE PROTOCOLE RELATIF A LA COLLECTE DES ORGANISMES JUVENILES DE *PINNA NOBILIS*

L'organisme juvénile est récolté dès qu'il atteint une hauteur de 1-2 cm (Figure 2) car il est légèrement plus résistant lors des opérations de récolte du plongeur.

Une fois récolté, l'organisme est transporté dans une boîte en veillant à ne pas le stresser.

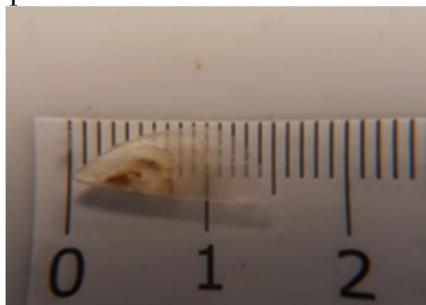


Figure 2. *Pinna nobilis* juvénile

Les opérations de prélèvement se déroulent de la même manière sur les palangres des fermes mytilicoles (Figure 3). Après une analyse minutieuse de la palangre par le plongeur, une fois l'individu identifié, la collecte est effectuée. L'opération est souvent difficile car les organismes se trouvent parmi d'autres spécimens de *Mytilus galloprovincialis* ou d'éponges et d'ascidies. Dans ce cas, nous essayons d'abord de retirer les organismes autour de *Pinna nobilis* et ensuite nous essayons de couper le byssus sans endommager la glande responsable de sa production. Une fois prélevés, les spécimens doivent être placés dans un récipient rigide fermé (Figure 4) en veillant à ne pas les stresser.

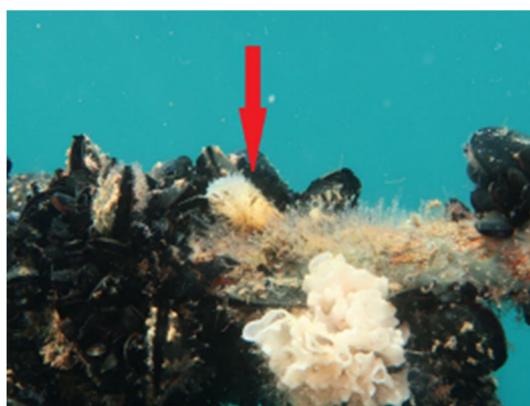


Figure 3. *Pinna nobilis* sur une palangre



Figure 4. Boîte en plastique pour l'organisme prélevé

IMPORTANT : Les données de température et de salinité doivent être collectées sur place afin de pouvoir les reproduire en laboratoire.

En cas d'extraction d'organismes du sédiment, on utilise une petite sorbonne (Figure 5), c'est-à-dire un instrument qui fonctionne avec de l'air provenant d'un compresseur ou d'une bouteille de plongée et qui permet d'ôter le sédiment autour de la nacre sans endommager l'organisme. Après avoir retiré la plupart des sédiments autour de l'organisme, vous devriez voir le byssus attaché au substrat solide. Habituellement, la nacre se colle à quelques petits corps solides, qui peuvent être une roche ou un très gros rocher. Si le byssus est attaché à une

Pierre amovible, nous procédons à l'extraction de la nacre avec la pierre entière. Si la nacre est fixée à une roche, il faut alors couper le byssus à proximité de la roche sans endommager la glande du byssus.



Figure 5. Sorbonne

3. LE PROTOCOLE D'ELEVAGE ET DE CROISSANCE DE *PINNA NOBILIS*

Une fois arrivés au laboratoire dans les plus brefs délais, nous procédons à l'insertion des organismes juvéniles dans les boîtiers.

Tout d'abord, il est important de vérifier que les propriétés physico-chimiques des réservoirs-boîtiers correspondent aux conditions de la zone d'échantillonnage. La bonne pratique pour l'insertion des organismes dans les réservoirs consiste toutefois à procéder progressivement, en insérant de petites quantités d'eau des aquariums dans les boîtes contenant les organismes prélevés. Cette opération peut être réalisée en une demi-heure.

Une fois les organismes introduits dans les réservoirs, vous pouvez choisir de les introduire dans le sédiment libre ou de mettre un peu de sédiment brut à l'intérieur d'une boîte de Pétri et d'y introduire ensuite l'organisme (ceci est valable pour les très petits organismes), autrement vous pouvez également utiliser de petits sacs ouverts en jute, en introduisant d'abord le sédiment et ensuite l'organisme (Figure 6).

Il est recommandé d'insérer, en même temps que le sédiment, une pierre sur laquelle le juvénile de *Pinna nobilis* peut fixer le byssus. Cette pratique aide le *Pinna nobilis* lors d'une opération de transplantation ultérieure, car elle permet d'éviter une deuxième division du byssus. Il convient de rappeler que la coupe du byssus apporte de toute façon un stress à l'organisme, le fragilisant et réduisant les chances de survie.



Figure 6. Sac de jute et boîte de Pétri

Pour les opérations de stabulation et de croissance, il convient de veiller avant tout à maintenir des conditions physico-chimiques optimales. Bien que *Pinna nobilis* soit un mollusque bivalve très résistant et adaptable (il survit même pendant de courtes périodes hors de l'eau), nous essayons de ne pas produire de grandes fluctuations dans les réservoirs pendant les opérations normales d'entretien. La photopériode doit être ajustée en fonction de la saisonnalité de la collecte et varier progressivement en fonction de l'avancement des saisons. En ce qui concerne la croissance, il est possible de procéder à l'insertion de nutriments ou, si le réservoir dispose déjà d'un écosystème amorcé (au moins 5 cm de sédiment, différentes pierres, organismes végétaux et animaux présents), il est également possible de ne pas insérer de nutriments pour les nacres. Si, au contraire, les réservoirs ne sont remplis que d'eau sans aucun type d'écosystème, il est recommandé d'insérer une fois par semaine un concentré de culture de microalgues dans le réservoir.

Afin de choisir la culture d'algues la plus adaptée à l'alimentation de *P. nobilis*, vous pouvez procéder à des monocultures (par exemple *Dunaliella tertiolecta*) ou à un mélange de monocultures d'algues disponibles sur le marché. Habituellement, les cultures d'algues disponibles sont utilisées car elles sont sélectionnées et exemptes d'autres organismes. Il est également possible de procéder à la culture à partir d'un prélèvement d'eau de mer dans la zone d'échantillonnage des organismes juvéniles, mais cette méthode ne garantit pas la pureté du résultat final. Dans l'eau prélevée, il existe de nombreux organismes prédateurs de l'algue et peut-être même des organismes pathogènes pour la nacre, qui, en culture, pourraient même augmenter leur population.

4. LE PROTOCOLE RELATIF A LA RESTAURATION DE *PINNA NOBILIS*

Une fois qu'ils ont atteint une taille de 10 cm dans les réservoirs, les organismes peuvent être réimplantés dans le site définitif. Pour la réimplantation des juvéniles et des organismes adultes transplantés, il suffit de procéder au choix d'un site approprié pour la transplantation des organismes. Il est notamment important de veiller à ce que les turbulences ne soient pas excessives en cas de tempête en mer, car elles pourraient affaiblir les organismes nouvellement plantés.

Nous procédons à l'excavation d'un trou dans le sédiment, soit avec la sorbonne, soit à la main, d'au moins 1/3 de la longueur totale de l'organisme. Si, par contre, l'organisme a passé la "phase de croissance" dans un sac de jute, vous pouvez procéder à l'insertion de tout le sac dans le sédiment. En l'espace de quelques semaines, la toile de jute se dégrade.

5. LE PROTOCOLE RELATIF A LA COLLECTE DE MATERIEL POUR L'ANALYSE GENETIQUE

Ce type de protocole est destiné à la détection de l'infection par *Haplosporidium pinnae*. Le matériel détecté pour l'analyse génétique est constitué des fèces et pseudofèces des organismes. Un plongeur plonge sur le site où se trouvent les organismes à surveiller, équipé de seringues de 60 ml et de tubes pour le matériel collecté (des tubes de 10 ml suffisent) (Figure 7). Le plongeur se déplace lentement vers l'organisme vivant afin de ne pas provoquer de réaction dans le corps et ainsi manquer l'opportunité de collecter le matériel. Une fois la seringue et le tube préparés, la seringue peut être rapprochée du corps et les pseudofèces présentes sur le bord de l'ouverture de la valve opposée à la charnière peuvent être aspirées. A ce moment-là, les branchies sécrètent le mucus qui sert de protection contre une sédimentation excessive. Si vous voulez prélever les boulettes fécales,

vous devrez faire attention à la sortie du siphon cloacal de l'organisme qui se trouve plus ou moins près d'elles. Si l'organisme n'émet pas, vous pouvez essayer de frapper sur une valve, de cette façon l'organisme se fermera et émettra des boulettes fécales. Après l'échantillonnage, le matériel biologique est conservé dans l'alcool (90°) et mis au congélateur à -80°C, prêt pour l'analyse génétique.

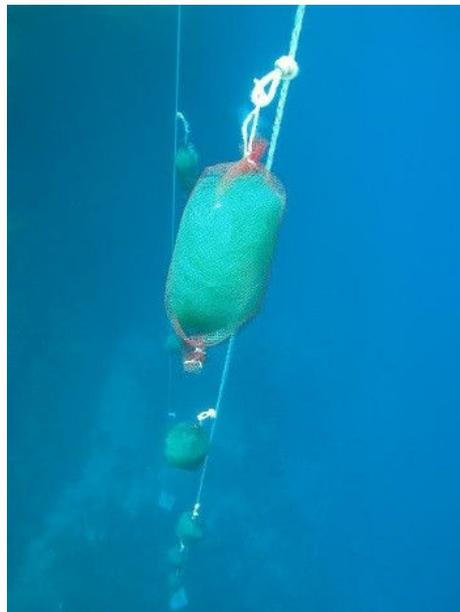


Figure 7. Opérations sous-marines

ANNEXE 3 – Bref guide d'orientation de l'IUCN pour la construction, l'installation et le retrait des collecteurs de larves de *Pinna nobilis*



Bref guide d'orientation de l'IUCN pour la construction, l'installation et le retrait des collecteurs de larves de *Pinna nobilis*



D. K. Kersting^{1,2}, I. E. Hendriks³

¹ Departament de Biologia Evolutiva, Ecologia i Ciències Ambientals, Facultat de Biologia, Institut de Recerca de la Biodiversitat (IRBIO), Universitat de Barcelona, Espagne.

² Groupe de travail sur la géobiologie et la recherche sur l'anthropocène, Institut des sciences géologiques, Freie Universität Berlin, Allemagne.

³ Groupe de recherche sur le changement global, Institut méditerranéen d'Etudes supérieures (IMEDEA, CSIC-UIB), Esporles, Espagne

CONTEXTE

Un événement de mortalité massive sans précédent affecte les populations de *Pinna nobilis* dans toute la Méditerranée (<https://www.iucn.org/news/mediterranean/201907/mediterranean-noble-pen-shell-crisis-pinna-nobilis-june-2019-update>; Vázquez-Luis et al. 2017). Le rétablissement éventuel des populations impactées dépendra principalement de l'existence de populations non touchées, d'individus résistants et du recrutement. Par conséquent, il est extrêmement important d'évaluer le recrutement des larves afin de déterminer si les larves provenant de sites non affectés ou d'individus résistants atteignent les zones touchées, contribuant ainsi à d'éventuels rétablissements.

Les collecteurs de larves ont été utilisés avec succès pour évaluer le recrutement de *P. nobilis* dans différents contextes et zones (Cabanellas-Reboredo et al. 2009, Kersting & García-March 2017, Wesselmann et al. 2018). De plus, le cas échéant, cette méthodologie pourrait éventuellement être utilisée pour fournir des juvéniles afin de repeupler les populations (Kersting & García-March 2017).

Nous décrivons ici comment construire, installer et retirer les collecteurs de larves afin d'évaluer l'établissement des larves dans les zones de reproduction de *P. nobilis*.

CONSTRUCTION

Sacs collecteurs

Les sacs collecteurs sont constitués de filaments de nylon enchevêtrés, de sacs d'oignons ou de tout autre matériau similaire composé de fins filaments qui résistent sous l'eau, placés à l'intérieur de sacs en filet en polyéthylène (ou en plastique similaire) (Fig. 1). Différentes conceptions peuvent être appliquées ici, l'important étant d'avoir des filaments enchevêtrés (substrat de fixation pour les larves) et un sac en filet en plastique contenant ce substrat qui agit de protection contre les prédateurs (mais qui permet aux larves d'accéder aux filaments intérieurs). Le sac en filet plastique extérieur doit être solidement fermé à l'aide d'une cordelette ou d'attaches de câble en nylon. À l'une des extrémités, la même corde utilisée pour fermer le sac peut être utilisée pour ancrer le sac à la corde principale (voir l'étape suivante).

Le nylon emmêlé peut être obtenu en recyclant de vieux trémails (ou similaires) ; en général, les pêcheurs les jettent lorsqu'ils sont vieux ou cassés. Ce matériau peut être réutilisé de nombreuses fois s'il est rincé à l'eau et séché après chaque utilisation comme collecteur de larves. Les filets/sacs à oignons ou à légumes peuvent être obtenus en recyclant des filets usagés ou peuvent être achetés dans des jardinerie ou magasins d'agriculture (ainsi que dans des magasins en ligne).



Fig. 1. Deux modèles de sacs différents. A gauche, Nylon emmêlé (trémil) à l'intérieur de sacs de filet en plastique. A droite, Un sac plastique extérieur similaire mais utilisant des filets à oignons comme substrat à l'intérieur. Photographies : D. K. Kersting, I. Hendriks.

Corde principale

Les sacs sont attachés à une corde principale (Fig. 2). L'ensemble du système est fixé à un petit amarrage en béton (ou similaire, mais il doit être suffisamment lourd pour éviter toute dislocation par les vagues et les courants) et la corde est maintenue verticale par une bouée immergée. Les bouées immergées (profondeur > 3m) empêchent l'ensemble du système d'être vu de la surface et les enchevêtrements potentiels avec les bateaux.



Fig. 2. Sacs de collecte attachés à la corde principale et bouée prête à être déployée. Photo : D. K. Kersting.

Il existe plusieurs façons de répartir les sacs le long de la corde. Sur les sites plus profonds, les sacs peuvent être fixés à des intervalles d'environ 1,5 m tout au long de la corde (Fig. 3), couvrant ainsi une plus grande plage de profondeur. Dans les sites peu profonds, les sacs peuvent être attachés en un seul point (Fig. 3). Il a été observé que les larves de *P. nobilis* s'établissaient dans les collecteurs dans une large gamme de profondeur, donc les installations de collecteurs plus profonds (par exemple 15 m) et moins profonds (par exemple 5 m) sont possibles.



Fig. 3. Sacs collecteurs de larves fixés à intervalles de 1,5 m dans un site profond (à gauche) et dans une installation de site peu profond (à droite). Photos : D. K. Kersting, I. E. Hendriks.

INSTALLATION ET RETRAIT

Où ?

Les collecteurs doivent être placés de préférence dans un lieu exposé aux eaux libres, car les larves de *P. nobilis* sont transportées par les courants. Bien sûr, ils peuvent également être installés dans d'autres sites le cas échéant, par exemple pour vérifier le recrutement potentiel dans des lagunes semi-fermées.

La présence de populations adultes de *P. nobilis* n'est pas une condition préalable à l'installation des collecteurs. Ils peuvent être installés dans des lieux où l'espèce n'est pas présente ou dans des zones où l'événement de mortalité massive en cours a tué tous les individus. Les larves de *Pinna nobilis* peuvent parcourir de longues distances en étant transportées par les courants, c'est pour cette raison que les larves qui arrivent sur un site donné peuvent provenir de zones éloignées.

Quand ?

La principale période de reproduction de *P. nobilis* s'étale de mai à août et la principale période de peuplement est estimée se situer entre juillet et septembre (en Méditerranée occidentale). Ces périodes peuvent changer en fonction des conditions environnementales (par exemple la température de l'eau) dans les différentes régions méditerranéennes. Nous suggérons d'installer les collecteurs en juin et de les retirer en octobre-novembre. Bien que ce soit la période idéale d'installation et de retrait, des installations et des retraits ultérieurs sont possibles. Il faut tenir compte du fait que des installations plus tardives réduiront la possibilité de couvrir la totalité de la période principale de fixation des larves. Alors que le principal problème d'un retrait plus tardif des collecteurs est une plus grande exposition aux tempêtes dans certaines régions et le fait qu'à un moment donné, les juvéniles n'ont plus assez d'espace entre les filaments pour continuer à se développer.

Comment retirer les juvéniles établis ?

Les collecteurs doivent être retirés avec précaution, en évitant d'écraser les sacs. Les sacs doivent être maintenus de préférence sous l'eau jusqu'à l'enlèvement des juvéniles.

A la fin de la période d'installation, la taille des juvéniles (longueur antéro-postérieure) peut varier approximativement de 0,5 à 9 cm. De façon générale, ils sont visibles à l'œil nu à l'intérieur des fibres enchevêtrées (Fig. 4). Ils doivent être retirés avec précaution afin de ne pas briser les valves fragiles. Les juvéniles doivent être immédiatement placés dans l'eau de mer après leur extraction du sac collecteur (Fig. 4).



Fig. 4. *Pinna nobilis* juvéniles établis à l'intérieur des collecteurs. Il convient de remarquer les différentes morphologies et tailles. Les juvéniles doivent être conservés dans l'eau de mer immédiatement après leur extraction des sacs. Photographies : D. K. Kersting.

Que faire des juvéniles ?

Les juvéniles peuvent être placés dans des cages de protection sur le terrain où ils continueront à se développer, offrant la possibilité de les réimplanter dans des substrats appropriés lorsqu'une certaine taille est atteinte (Fig. 5). Voir Kersting & García-March (2017) pour de plus amples informations.

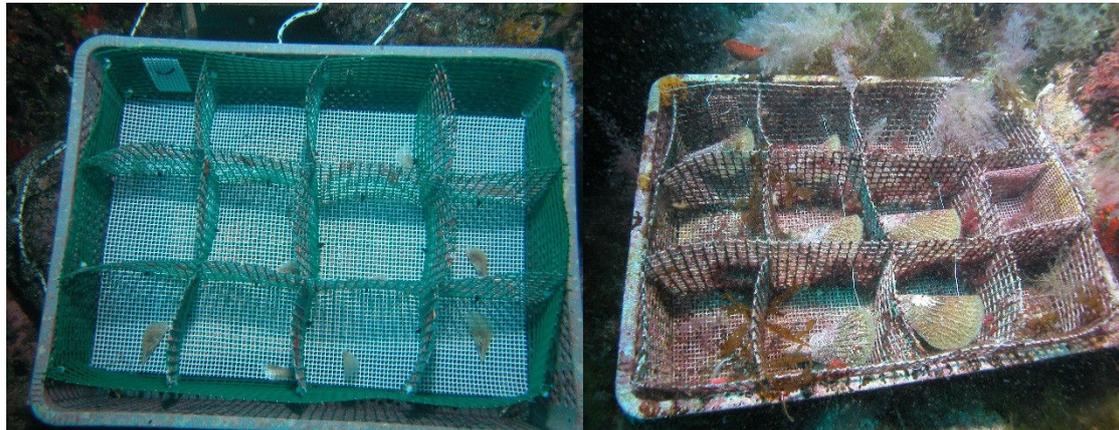


Fig. 5. A gauche. Juvéniles venant d'être extraits des collecteurs et placés dans la cage de protection (sur le terrain). A droite. Individus de *Pinna nobilis* âgés d'environ 2-3 ans dans la cage de protection. Notez que les photos ont été prises sans la protection en maille qui recouvre les cages. Photographies : D. K. Kersting.

Bibliographie

Vázquez-Luis et al. (2017) S.O.S. *Pinna nobilis*: A mass mortality event in Western Mediterranean Sea. *Frontiers in Marine Science* doi: 10.3389/fmars.2017.00220.

Kersting DK, García-March JR (2017) Long-term assessment of recruitment, early stages and population dynamics of the endangered Mediterranean fan mussel *Pinna nobilis* in the Columbretes Islands (NW Mediterranean). *Marine Environmental Research* 130:282-292.

Cabanellas-Reboredo et al. (2009). Recruitment of *Pinna nobilis* (Mollusca: Bivalvia) on artificial structures. *Marine Biodiversity Records* 2:1e5.

Wesselmann et al. (2018) Genetic and oceanographic tools reveal high population connectivity and diversity in the endangered pen shell *Pinna nobilis*. *Scientific Reports* 8:4770.

Citation: Kersting D. K., Hendriks I. E. (2019) Short guidance for the construction, installation and removal of *Pinna nobilis* larval collectors. IUCN. 6pp.