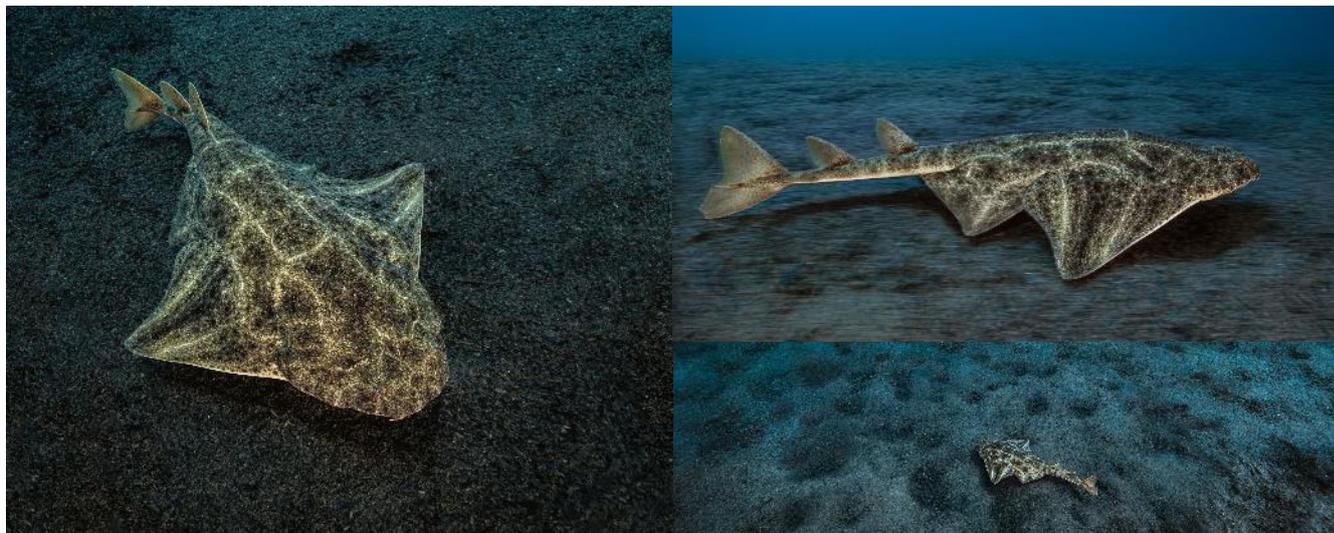


ANGE : connaître et faire connaître le dernier refuge (corse) du Requin-Ange en France



Requin-ange ou ange de mer commun (*Squatina squatina*) dans les eaux Corse en Juin 2020 (Laurent Ballesta / Andromède océanologie).

Projet de recherche 2021-2024



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER





Ange de mer commun (*Squatina squatina*), Bastia, -40 m (© Laurent Ballesta).

Coordination du projet : DETER Julie (Université de Montpellier)
Référents Université de Montpellier – MARBEC : DETER Julie et MOUILLOT David
Référent Andromède Océanologie : HOLON Florian
Référent Bastia Offshore : RIUTORT Jean-Jacques
Référent Agence de l'Eau RMC : BOISSERY Pierre
Référent OFB-PNMCCA : TOMASI Nicolas

Contact mail :

julie.deter@umontpellier.fr ou julie.deter@andromede-ocean.com

florian.holon@andromede-ocean.com

Collecte des données : BARROIL Adèle, BLANDIN Agathe, BOCKEL Thomas, DETER Julie, FAURE Nadia, GASC Julien, GUELLATI Nacim, HOLON Florian, LUZI Pierre-Charles, MAURON Stephen, MEYERS Eva, PAVY Thomas, PICHOT Franck, RIUTORT Jean-Jacques, VACCHI Mateo.

Traitement des données : AUGET Jean-Christophe, ARNAL Véronique, BARROIL Adèle, BLANDIN Agathe, BOCKEL Thomas, DELARUELLE Gwenaëlle, DETER Julie, FAURE Nadia, LOISEL Marine, MACE Bastien, MANEL Stéphanie, PICHOT Franck, SALASC Frederic, VELEZ Laure, VILLEGIER Sébastien.

Rédaction : BARROIL Adèle, DETER Julie

Cé document doit être cité sous la forme :

Barroil Adèle, Auguet Jean-Christophe, Arnal Véronique, Blandin Agathe, Bockel Thomas, Delaruelle Gwenaëlle, Faure Nadia, Gasc Julien, Guellati Nacim, Holon Florian, Luzi Pierre-Charles, Loisel Marine, Mace Bastien, Manel Stéphanie, Mauron Stephen, Meyers Eva, Mouillot David, Pavy Thomas, Pichot Franck, Riutort Jean-jacques, Salasc Frederic, Vacchi Mateo, Velez Laure, Villéger Sébastien et Deter Julie. 2024. ANGE : Connaitre et faire connaitre le dernier refuge (Corse) de l'Ange de mer commun (*Squatina squatina*) en France. Rapport final. Financement Agence de l'eau Rhône méditerranée, Corse, Office Français de la Biodiversité, Parc Naturel Marin du Cap Corse et de l'Agriate, Fondation Prince Albert 2. 240 pages.

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

Résumé

L'ange de mer commun (*Squatina squatina*) est un requin benthique classé **en danger critique d'extinction** d'après l'IUCN. Alors qu'il était autrefois abondant, la pêche et la destruction de son habitat a décimé les populations des côtes continentales françaises. Aujourd'hui, plus aucune observation de l'espèce n'est faite en France hormis en Corse (pêche, observations directes) sur la côte orientale et exceptionnellement en Bretagne en 2023. Le projet ANGE (2021-2023) a pour but de **comprendre l'écologie et la biologie de l'ange de mer commun dans son dernier refuge méditerranéen français** afin de proposer des mesures de conservation de cette espèce et de faire **connaitre à tous l'importance de sa préservation**.

Ce projet repose sur deux axes de travail :

1. Mieux connaitre sa biologie, son habitat et les pressions qui s'y exercent.

Une carte de distribution (présence /absence) a été principalement faite à partir d'une détection moléculaire rapide ciblant l'**ADN mitochondrial** de *S. squatina* dans l'eau de mer (ADN environnemental). Les résultats confirment la **présence de l'espèce le long de la côte orientale Corse**. Pour la première fois, la présence des anges de mer communs a été révélée **dans le Parc naturel marin du Cap Corse et de l'Agriate (PNMCCA) et au sud-ouest de la Corse**.

Des **suivis écologiques** ont été mis en œuvre sur **neuf sites corses** ciblant : les herbiers de posidonie (*Posidonia oceanica*) à la Profondeur Intermédiaire (PI) et en Limite Inférieure d'herbier (LI), et les fonds meubles. Sur ces sites, la **qualité des biocénoses** et les **pressions environnementales et anthropiques** ont été évaluées. Les **espèces associées** ont été inventoriées par ADNe, par caméras ainsi que par des plongeurs. Des capteurs de température ont également été positionnés sur ces sites. **De manière générale, les neuf sites sont en bonne santé avec une richesse spécifique équivalente en fonction des substrats**. Cependant des **pressions anthropiques** ont été observées telles que des **traces de chalut** et des **traces de mouillage**.

Des **balises satellites** ont été posées sur **cinq individus** (deux individus en 2021 et trois individus en 2022). Les données récupérées des balises en 2021 et 2023 après une durée comprise entre 9 et 231 jours ont permis d'**identifier l'intervalle de profondeur occupé par les anges de mer commun**. Ces derniers semblent évoluer **principalement entre -40 m et -30 m** avec un **minimum de -20 m** de profondeur et une profondeur **maximale de -67 m**.

A partir d'un **questionnaire** en ligne ciblant les pêcheurs de loisirs **des témoignages d'observations de cette espèce en Corse et en Provence-Alpes-Côte-d'Azur ont été récoltés**. Grâce au témoignage d'un pêcheur la **présence d'une autre espèce d'ange de mer, l'ange de mer épineux (*Squatina aculeata*) a été recensée en Corse pour la première fois**.

Une **étude de génétique des populations** basée sur des prélèvements effectués en lien avec des pêcheurs sur toute la côte orientale corse a mis en évidence une seule et même population et **un fort apparentement entre les individus d'un même site** (Bastia ou Solenzara) indiquant une certaine **sédentarité** de l'espèce sur cette zone. Les résultats indiquent une **reproduction peu fonctionnelle avec une taille efficace de 281 individus**.

L'**étude du microbiome** indique que la **zone géographique explique de manière significative la variabilité intraspécifiques des microbiotes de *Squatina squatina*, contrairement au site anatomique**. Cependant, la distance génétique entre les individus n'est pas corrélée avec la dissimilarité entre les microbiotes : cela suppose que les conditions environnementales, tel que les paramètres physico-chimiques et les communautés microbiennes environnantes influencent la distribution des microbiotes.

2. Faire connaitre cette espèce protégée et en danger.

Afin de faire connaitre aux pêcheurs, scolaires et grand public le statut de conservation de *S. squatina* et son interdiction de pêche, les missions scientifiques ont bénéficié d'une **couverture médiatique** et **un podcast a été produit** par le Zoo de Beauval. Nous avons aussi réalisé deux **livrets pédagogiques** incluant une petite bande

dessinée pour des classes de primaire et collège, **et 5 vlogs** à destination du grand public (disponibles sur Youtube).

Sommaire

PRESENTATION DES STRUCTURES PARTENAIRES DU PROJET ANGE	1
UNIVERSITE DE MONTPELLIER – UMR MARBEC	2
ANDROMEDE OCEANOLOGIE.....	2
L'ASSOCIATION BASTIA OFFSHORE FISHING	3
INTRODUCTION	4
L'ANGE DE MER (<i>SQUATINA SQUATINA</i>), UNE ESPECE EN DANGER CRITIQUE D'EXTINCTION REFUGIEE EN CORSE	4
OBJECTIFS DU PROJET	6
MIEUX CONNAITRE LA BIOLOGIE DE L'ANGE DE MER COMMUN, SON HABITAT ET LES PRESSIONS QUI S'Y EXERCENT (OBJECTIFS 1 & 2 DU PROJET)	6
MATERIEL ET METHODES.....	7
I. Zones d'étude.....	7
II. Cartographie des biocénoses marines et analyse surfacique.....	8
II.A. Actualisation de la cartographie des biocénoses marines	8
II.B. Analyses surfaciques des herbiers de posidonie	8
III. Analyse de la distribution de <i>Squatina squatina</i> à partir d'ADN environnemental	9
III.A. Zones échantillonnées.....	9
III.B. Développement d'une méthode de détection spécifique de l'ange de mer à partir d'ADNe (barcoding)	12
III.C. Inventaire des espèces de poissons par metabarcoding pour la détection de l'ange de mer sur toute la Corse et pour le calcul d'indicateurs de biodiversité sur les tronçons positifs à la présence de <i>Squatina squatina</i>	13
IV. Analyse écologique des habitats fréquentés et espèces associées.....	15
IV.A. Localisation générale des sites et caractéristiques	15
IV.B. Récoltes de données sur les neuf sites de suivi écologique	16
IV.C. Évaluation écologique des habitats	18
IV.C.2. Inventaire des espèces associées	19
IV.C.3. Suivi de la température de fond	19
IV.C.4. Synthèse des données récoltées et analyses réalisées.....	19
V. Analyses des pressions du réseau IMPACT	20
VI. Questionnaire en ligne	21
VII. Mieux connaître la biologie de l'ange de mer commun (<i>Squatina squatina</i>).....	22
VII.A. Provenance des prélèvements biologiques : pêcheurs et plongeurs.....	22
VII.B. Utilisation des prélèvements biologiques.....	22
VII.C. Étude des déplacements par pose de balise	23
RESULTATS	25
I. Cartographie des biocénoses marines	25
II. Analyse de la distribution de l'ange de mer commun à partir de l'ADN environnemental	26
II.A. Carte de distribution de l'ange de mer commun (<i>Squatina squatina</i>) sur la zone Agriate - Cap Corse – côte orientale par barcoding	26
II.B. Carte de distribution de l'ange de mer commun (<i>Squatina squatina</i>) en tout autour de la Corse par barcoding et metabarcoding.....	27
II.C. Analyse des espèces de poissons associées aux tronçons positifs à la présence de <i>Squatina squatina</i>	28
II.D. Indicateurs surfaciques associés aux tronçons positifs à la détection de <i>Squatina squatina</i>	30
III. Analyse écologique des habitats fréquentés et espèces associées à <i>Squatina squatina</i> sur les neuf sites de suivi écologique.....	31
III.A. Évaluation écologique des habitats.....	31
III.B. Inventaire et analyses des espèces associées à <i>Squatina squatina</i>	39
III.C. Analyse de l'abondance des espèces associées à la présence de <i>Squatina squatina</i>	42
III.D. Suivi de la température de fond	45
IV. Analyse des pressions du réseau IMPACT.....	46
IV.A. L'analyse des pressions cumulées le long des tronçons d'ADN environnemental et des sites de suivi écologique.	46

IV.B. Analyse des distances aux ports des tronçons d'ADN environnemental et des sites de suivi écologique.....	49
IV.C. Analyse de la pression du trafic maritime sur les tronçons d'ADN environnemental et sur les sites de suivi écologique.	50
IV.D. Analyse de la pression de pêche sur les tronçons d'ADN environnemental et sur les sites de suivi écologique.	53
V. <i>Résultats du questionnaire</i>	56
VI. <i>Témoignage de pêche 2023</i>	59
VII. <i>Mieux connaître la biologie de l'ange de mer commun Squatina squatina</i>	60
VII.A. Prélèvements biologiques.....	60
VII.B. Génétique des populations (stage de M2 de Nadia Faure).....	60
VII.C. Étude du microbiote cutané de l'ange de mer commun (stage de M2 de Frédéric Salasc).	63
VII.D. Résultats des balises.....	65
FAIRE CONNAITRE L'ANGE DE MER (OBJECTIF 3 DU PROJET)	73
VALORISATION DU PROJET ET DES DONNEES : SYNTHÈSE DES COLLABORATIONS PÉDAGOGIQUES ET DES COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES	73
PODCAST DU ZOO DE BEAUVAL	74
CAHIER DE SURVEILLANCE MEDTRIX	74
LIVRETS PÉDAGOGIQUES ET BANDE-DESSINÉE	76
PRESENTATIONS PUBLIQUES ET VIDEOS	77
VALORISATION MÉDIATIQUE	79
CONCLUSION GÉNÉRALE	88
REMERCIEMENTS	89
BIBLIOGRAPHIE	90
ANNEXES	93
ANNEXE 1 : TABLEAU DES OBJECTIFS DU PLAN D'ACTIIONS REGIONAL POUR LES REQUINS-ANGES EN MEDITERRANEE (GORDON ET AL., 2019)	94
ANNEXE 2 : INFORMATIONS SUR LE SONAR KLEIN 3900	97
ANNEXE 3 : QUESTIONNAIRE POUR BUT DE COLLECTER DES TÈMOIGNAGES D'OBSERVATIONS D'ANGE DE MER EN MEDITERRANEE FRANÇAISE	98
ANNEXE 4 : LISTES DE PECHERS DIRECTEMENT CONTACTES PAR TELEPHONE POUR REPONDRE AU QUESTIONNAIRE.	105
ANNEXE 5 : STRUCTURE GENETIQUE FINE ET TAILLE DE LA POPULATION DE REQUINS ANGES DE MER (SQUATINA SQUATINA) EN CORSE. NADIA FAURE, 2023	106
ANNEXE 6 : MEMOIRE DE STAGE DE M2 (NADIA FAURE, 2023)	108
ANNEXE 7 : MEMOIRE DE STAGE DE M2 DE FREDERIC SALASC, 2024	122
ANNEXE 8 : LISTE DES ESPECE DETECTEES PAR ADNE SUR LES TRONÇONS POSITIFS A LA DETECTION D'ADN DE SQUATINA SQUATINA	141
ANNEXE 9 : COURBES D'ACCUMULATION DES ESPECES EN FONCTION DU TEMPS D'ACQUISITION VIDEO POUR LES NEUF SITES DE SUIVI ECOLOGIQUE	145
ANNEXE 10 : INVENTAIRE DES ESPECES REPERTORIEES PAR ADN ENVIRONNEMENTAL ET PAR LES OBSERVATIONS CAMERAS POUR CHAQUE SITE	146
ANNEXE 11 : LISTE DES MACRODECHETS OBSERVES GRACE AUX CAMERAS TRACTEES LORS DE L'ECHANTILLONNAGE D'ADNE	152
ANNEXE 12 : SOUMISSION DE L'ARTICLE JULIE DETER ET AL, 2024. GIGANTIC PICAREL BREEDING COLONIES WITH MALE NEST GUARDERS DISCOVERED IN THE MEDITERRANEAN À CURRENT BIOLOGY	153
ANNEXE 13 : LIVRET PÉDAGOGIQUE DU CP AU CM2	171
ANNEXE 14 : LIVRET PÉDAGOGIQUE DES NIVEAUX COLLEGES	195
ANNEXE 15 : BANDE-DESSINÉE EN LIEN AVEC L'ARTICLE FAURE ET AL., 2023	227

ANGE : Connaitre et faire connaitre le dernier refuge (Corse) de l'ange de mer commun (*Squatina squatina*) en France.



Requin-ange de mer commun, ©Laurent Ballesta, (2020).

Ce document expose les protocoles scientifiques et les résultats obtenus à la suite des campagnes de terrain faites aux printemps 2021 et 2022.

Présentation des structures partenaires du projet ANGE

Ce projet ANGE est porté par l'université de Montpellier à travers l'unité mixte de recherche **MARBEC** (responsables du projet : Julie Deter et David Mouillot) en partenariat avec l'entreprise **Andromède Océanologie** (travail en mer et plongeurs, responsable : Florian Holon) et l'**association Bastia Offshore Fishing** à travers l'engagement bénévole de Jean-Jacques Riutort, passionné par l'ange de mer et qui enquête auprès de pêcheurs Corse depuis de nombreuses années.



Des collaborations sont mises en place avec des chercheurs du **CNRS – UMR MARBEC** (Jean-Christophe Auguet et Sébastien Villéger), de **l'EPHE – UMR CEFE** (Stéphanie Manel) et du **Angel shark network** (Eva Meyers, Joanna Barker, Kevin Feldheim), respectivement pour l'étude du microbiome et la génétique des populations.



Le projet est soutenu par l'**Agence de l'Eau Rhône Méditerranée Corse** et l'**OFB - le Parc naturel Marin du Cap Corse** et de l'**Agriate** – et La **Fondation Prince Albert II de Monaco**.



dans le cadre des expéditions GOMBESSA d'Andromède Océanologie soutenues par :



Université de Montpellier – UMR MARBEC

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



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

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

Andromède Océanologie

Andromède Océanologie (<http://www.andromede-ocean.com/>) est une PME créée en 2008 par Laurent Ballesta, Pierre Descamp et Florian Holon. Depuis plus de 15 ans, les compétences et l'expérience d'Andromède Océanologie permettent d'approfondir les connaissances sur les écosystèmes marins et de développer des solutions concrètes pour les protéger. Les activités d'Andromède Océanologie s'articulent autour de trois grands domaines :



- ↳ **L'image, pour explorer et magnifier** : les explorations sous-marines (comme [Gombessa](#) : Coelacanthe, Antarctica, Mystère mérrou, 700 requins, L'exploration de la Méditerranée en plongée à saturation) menées par Andromède visent à faire découvrir le monde marin et à fédérer un large public, tout comme les films, livres et photos de [Laurent Ballesta](#), plongeur et photographe sous-marin internationalement reconnu ;
- ↳ **Rechercher et comprendre** : Andromède porte plusieurs réseaux de surveillance de l'état écologique des eaux côtières, en partenariat avec l'agence de l'eau Rhône Méditerranée et Corse (notamment SURFSTAT sur la cartographie des habitats marins en Méditerranée française, TEMPO sur les herbiers de posidonie ou RECOR pour les récifs coralligènes) dont les résultats sont disponibles sur la plateforme cartographique MEDTRIX (www.medtrix.fr) ;
- ↳ **Protéger et restaurer** : De l'étude d'impact à la mise en œuvre de mesures de restauration écologique, Andromède Océanologie accompagne les projets maritimes à forte ambition environnementale (accompagnement, conseil, expertise...).

Parmi les dernières réalisations d'Andromède Océanologie et de son équipe d'une douzaine de personnes, nous pouvons citer :

- Plusieurs vastes programmes de cartographie des habitats benthiques : le programme Petites Iles de Méditerranée soutenu par le Conservatoire du Littoral pour cartographier les habitats marins autour de petites îles (en Albanie, en Italie, en Tunisie), et le programme « SURFSTAT » soutenu par l'Agence de l'eau qui permet de réaliser puis de maintenir à jour une cartographie continue des habitats marins en 2D (actualisation tous les trois à six ans depuis 2014).

- La plateforme cartographique [MEDTRIX](#) qui met à disposition à plus de 3000 utilisateurs les résultats de 40 projets de surveillance des eaux côtières et permet d'avoir accès aux cartographies des habitats (projets SURFSTAT, DONIA, DONIA Expert) et des pressions/activités côtières (projets IMPACT, Suivi du Mouillage).



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

- Le repiquage de fragments d'herbier de posidonie arrachés par les ancrages en région Sud (programme [REPIC](#)).

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



L'association Bastia Offshore Fishing

Bastia Offshore Fishing est une association à but non lucratif loi 1901 qui compte 150 membres. Elle est agréée Association de protection de l'environnement en Corse. Elle fait la promotion du no kill systématique pour toutes les espèces d'élaémobranches. Concernant les autres espèces, les adhérents œuvrent pour une pêche responsable et raisonnée. Des marquages de Denti, de thons rouge et d'ange de mer commun ont été réalisés ; à ce jour quatre anges de mer et un petit thon rouge ont été recapturés. Les adhérents travaillent à dissuader les pêcheurs de loisir de pratiquer la pêche à la palangre pour qu'ils s'orientent plutôt vers une pêche durable plus sélective avec des individus qui peuvent être relâchés avec de plus grandes chances de survie.



L'association défend fortement une pratique de la pêche respectueuse des réglementations en vigueur. La mise à jour des différentes réglementations est régulièrement réalisée, diffusée aux membres et mise en ligne. Une attention particulière est également portée au thon rouge et aux risques de confusion des juvéniles avec d'autres espèces apparentées. L'association dispose d'une charte de bonne conduite depuis de nombreuses années et la totalité des adhérents doivent s'engager à la suivre pour adhérer au club.

L'association est affiliée à la Fédération Française des Pêcheurs en Mer et possède l'Agrément sportif de la Direction Départementale de la Jeunesse et des Sports.

Introduction

L'ange de mer (*Squatina squatina*), une espèce en danger critique d'extinction réfugiée en Corse

La Méditerranée est une région prioritaire pour les actions de conservation envers les chondrichthyens (requins, raies, raies et chimères) (WWF, 2019). La famille des Squatinidae (requins ange), seule famille de l'ordre des Squatiniformes, est l'une des familles de chondrichthyens les plus menacées au monde (Gordon et al., 2019) et de nombreuses espèces de cette famille nécessitent des mesures de conservation urgentes (Dulvy et al., 2014). En effet, ces espèces côtières à gros corps sont très sensibles à la pêche de fond et s'emmêlent facilement dans les filets à grandes mailles. Trois espèces de requins anges sont présentes en Méditerranée avec des aires de répartition qui se chevauchent : le requin-ange de mer épineux *Squatina aculeata*, le requin-ange à dos lisse *Squatina oculata* et le requin-ange (ou ange de mer commun) *Squatina squatina*. Toutes trois sont classées dans la catégorie "En danger critique d'extinction" dans la liste rouge de l'IUCN, en raison des réductions de population passées, ce qui signifie qu'elles sont confrontées à un risque extrêmement élevé d'extinction dans la nature. Les requins-ange étaient autrefois une composante si importante de la pêche en Méditerranée qu'une pêcherie ciblée existait et de nombreux engins de pêche spécialisés ont été développés pour les capturer dans différents pays entraînant leur disparition dans de nombreuses zones (Gordon et al., 2019). L'origine du nom « Baie des Anges », entre Nice et Antibes, provient par exemple de l'ancienne abondance des anges de mer (Gag and Arnulf, 1985 dans Gordon et al., 2019) alors qu'il n'existe plus de données de présence récente sur cette zone.

Parmi les trois espèces de Méditerranée, une seule espèce de requin-ange persiste en France : *Squatina squatina* (Figure 1). C'est uniquement en Corse que cette espèce est encore observée et plus particulièrement le long de la côte orientale. Des jeunes de l'année, ainsi que des adultes matures et en reproduction y ont déjà été observés (Baino et al., 2001; Lapinski and Giovos, 2019; données INPN 2019, Riutort Comm. Pers.). Cette zone est surtout exploitée par la pêche petits métiers et reste faiblement concernée par la pêche au chalut (Ferrà et al., 2018).

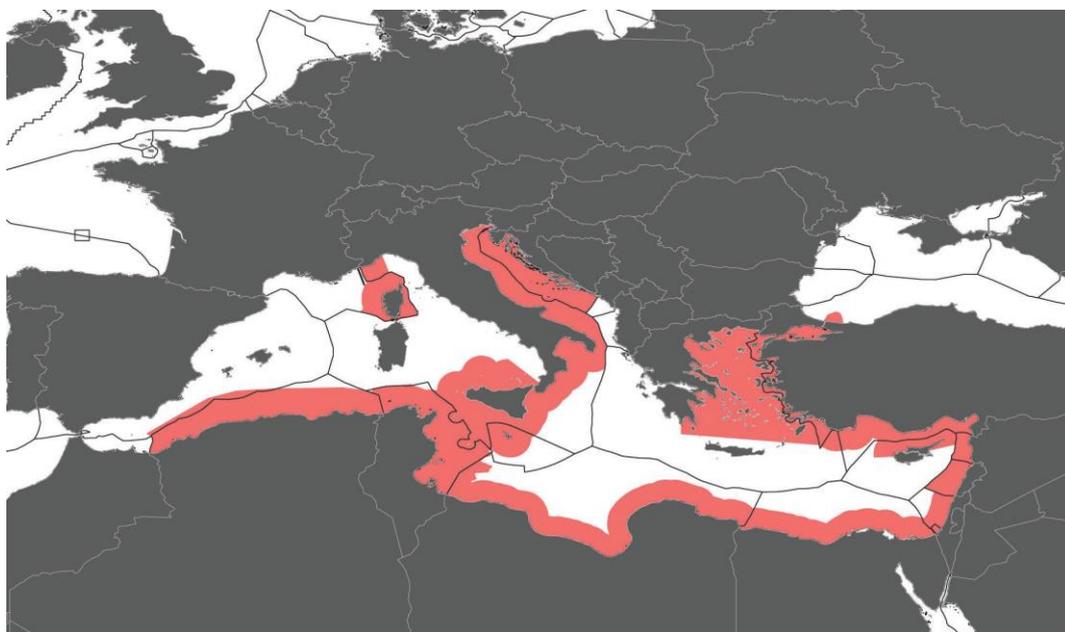
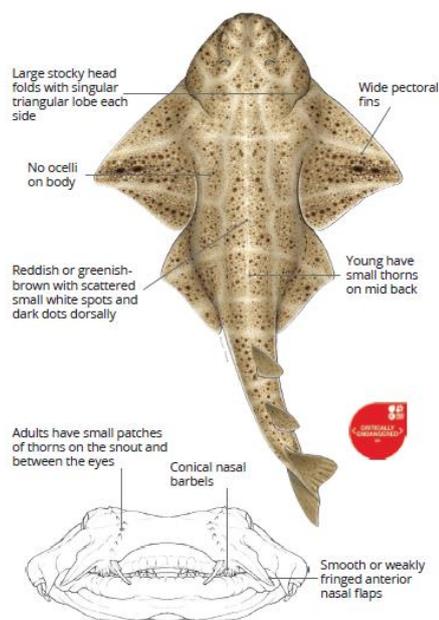


Figure 1 : Distribution possible pour le requin-ange *Squatina squatina* en Méditerranée (Gordon et al., 2019). Cette carte ne prend pas en compte l'abondance et l'ancienneté des observations. Une masse d'eau est rouge si au moins une observation y a été signalée qu'elle soit ancienne ou récente.

Un plan d'actions régional (PAR) existe concernant les requin-anges, dont l'objectif est que « Les requins-anges de la Méditerranée retrouvent des populations robustes et remplissent leurs rôles écologiques dans des écosystèmes sains ». Ce PAR vise à classer les menaces auxquelles ils sont confrontés, à reconstruire les bases de référence passées, à comprendre les causes du déclin et à encourager la collaboration entre les parties prenantes et les gouvernements des États et territoires côtiers pour déterminer et mettre en œuvre une législation et des mesures de conservation efficaces (Gordon et al., 2019), voir ANNEXE 1). Parmi les menaces prioritaires, figurent en premier lieu la pêche professionnelle à travers l'impact des différents types d'engins, des problèmes d'identification des espèces et des débarquements non précis, mais aussi la pêche illégale, la pêche récréative et sportive (pêche à la ligne, surfcasting, pêche au harpon). Toutefois la morphologie altérée des fonds marins et une faible diversité génétique (goulets d'étranglement/fragmentation des populations) résultant de la disparition de nombreuses populations sont également des menaces prioritaires à traiter (Gordon et al., 2019).

Afin d'évaluer l'impact de l'homme sur son habitat, il est d'abord nécessaire de mieux comprendre la répartition de *S. squatina* (localisation, substrat préférentiel, profondeur de vie). *S. squatina* habite les eaux côtières peu profondes (5-150 m) mais son habitat préféré est inconnu en Méditerranée (Figure 1) (Gordon et al., 2019), d'autant que l'évitement des prédateurs et la disponibilité des proies (poissons, poulpes, gastéropodes, raies, crustacés...) peuvent également avoir une incidence sur son choix d'habitat. Aux Canaries, il utilise principalement des zones de bandes de sable adjacentes aux récifs, mais il peut se reposer sur des récifs et dans des prairies sous-marines. Par ailleurs, l'utilisation de l'habitat aux Canaries a été documentée comme changeant en fonction de la taille et du sexe, les juvéniles se trouvant dans des eaux moins profondes (Meyers et al., 2017).



▲ *Squatina squatina* caught in Cyprus © Robin Snape

2.3 *Squatina squatina* (Linnaeus, 1758)

COMMON NAMES: Skladhina (AL) | Anđeoski Morski Pas (BA) | Angelshark (EN) | Angelote, Tiburón ángel, Pez ángel, Peje ángel (ES), Peix Àngel, Angelot comú, Escat, Escat veixigal, Àngel, Escat comú (CA) | Ange de Mer Commun (FR), Sguerru, Pesci angjulu (Corsica) | Αγγελοκαρχαρία, Πύρα (GR) | Sklat sivac (HR, BA, ME) | Sokol (HR), Squain (Rovinj) | Pesce Angelo, Squadro (IT), Squadrolino (Ancona, Roma), Angeo, Pesciu angiou (Genova), Squadro (Livorno, Roma, Terracina), Pesce angelo (Terracina), Squatrolino (Toscana), Squadre arena, Squattro verace, Squadro, Trezzino (Napoli), Squadru (Reggio Calabria), Squatru lisciu, Squatru monicu, Squadro lisciu, Squadro monicu (Catanzaro, Golfo di Squillace), Squadre, Squadra, Squatre (Bari, Pescara, Taranto), Pesce squadro (Ancona), Angelo (Chioggia), Squalena, Sagrin (Venezia), Squaena (Trieste), Pesci squadru, (Cagliari, Olbia), Squadru (Cagliari, Olbia, Sicilia), Squatrucefalo (Messina), Squadro pellenera (Civitavecchia), Squadro di nero (Livorno) | Ma'ach yam canuf (IL) | Di-ḡal (IW) | Chkato شكاتو (LY Eastern), Sfen سفن (LY Western) | Skaten, Şcätlu, Xkatlu (MT) | Navadni sklat (SI) | Zamzamah (SY) | Sfen سفن, Wakass وقاس (TN)

SIZE

Size at birth: 20 – 30 cm

Maturity ♀: 126 – 167 cm Maturity ♂: 80 – 132 cm

Max size: 183 cm (♂)–244 cm (♀)

Reproduction: Ovoviviparous, no yolk sac placenta. 7 – 25 pups after 8 – 10 month gestation (born Dec-Feb in Med), every 2 years

RANGE and HABITAT

Historical: Historically common over large areas of the coastal, continental and insular shelf of the Northeast Atlantic (southern Norway to Western Sahara), and the Mediterranean and Black Seas.

Contemporary: Sightings have been widespread across the Mediterranean including the southern coast of the western and central basins, the Ligurian, Northern Tyrrhenian and Adriatic Seas on the northern coast, and the Levant and Aegean Seas in the eastern basin. It has also been documented in the Sea of Marmara and is the only angel shark species known to have been present in the Black Sea (Serena, 2005), with contemporary captures around the Bosphorus Strait. This is the only species present in the Northeast Atlantic, with recent reports from the Celtic Seas ecoregion. The Canary Islands provide a unique stronghold for this species, where it can be regularly encountered (Meyers et al., 2017) (Figure 5).

Habitat: Inshore on mud or sand.

Depth: 5 – 150 m.

Diet: Flatfishes, skates, crustaceans, molluscs.

Figure 2: Fiche descriptive du requin-ange *Squatina squatina* issue de Gordon et al. (2019). (Illustrations : Marc Dando)

Objectifs du projet

En lien avec les objectifs du plan d'actions régional pour les requins-ange en Méditerranée (Gordon et al., 2019 ; voir ANNEXE 1), le projet ANGE vise à :

- **Mieux connaître son habitat.** Il s'agit d'actualiser et analyser les cartographies des habitats de l'ange de mer commun (où il a été observé) en lien avec des données de pêcheurs, réaliser une analyse écologique de l'état des habitats fréquentés, inventorier les espèces de poissons associées, réaliser une carte de distribution (présence /absence) à partir d'une détection moléculaire rapide, et une analyse des menaces associées (données [IMPACT](#) et questionnaire).
- **Mieux connaître la biologie de l'espèce.** Il s'agit d'effectuer des prélèvements en vue d'étudier son microbiome¹ interne et externe, son régime alimentaire, la structuration génétique de sa/ses populations, et son comportement, de poser des balises satellites et d'enquêter auprès des pêcheurs.
- **Faire connaître.** Il s'agit d'informer les pêcheurs du statut de conservation de l'espèce et son interdiction de pêche, leur donner envie de faire remonter les informations concernant leurs rencontres, mais aussi informer les enfants et le grand public sur le rôle fonctionnel de cette espèce et ses menaces.

Mieux connaître la biologie de l'ange de mer commun, son habitat et les pressions qui s'y exercent (objectifs 1 & 2 du projet)

Cette partie présente le matériel et méthodes ainsi que les résultats de la première partie du projet ANGE qui consiste à mieux connaître l'habitat et la biologie de l'ange de mer commun (*Squatina squatina*) par :

- Une actualisation et analyse surfacique des cartographies des biocénoses marines ;
- Une analyse de la distribution de *Squatina squatina* à d'une enquête en ligne auprès des pêcheurs de loisirs et à partir d'ADN environnemental (barcoding et metabarcoding) et un inventaire des espèces de poissons associées (metabarcoding) ;
- Une analyse écologique de l'état des habitats fréquentés (herbiers de posidonie, fonds meubles) sur neuf sites et des espèces associées (plongée, ADNe, caméras) ;
- Une analyse des pressions issues du réseau [IMPACT](#) ;
- Une analyse de la biologie de l'espèce (étude génétique à partir de données biologiques issues des pêcheurs, étude du microbiome, pose de balises satellites).

¹ Communauté de micro-organismes associés

Matériel et méthodes

I. Zones d'étude

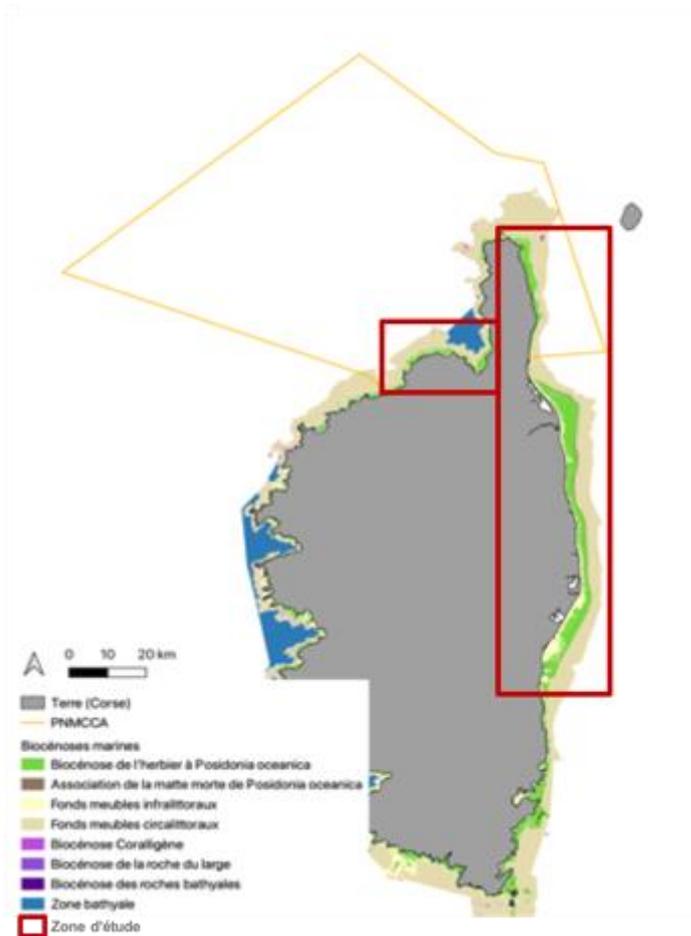


Figure 3 : Carte de la Corse avec les biocénoses marines représentées ainsi que la délimitation du Parc Naturel Marin du Cap Corse et de l'Agriate (PNMCCA).

En croisant les données de la littérature (INPN, 2019), les données d'enquêtes de J.-J. Riutort (Bastia Offshore Fishing, données non publiées), les données de pêche fournies par Stella Mare de l'université de Corse (E. Durieux et C. Bousquet), et la cartographie des habitats côtiers d'Andromède océanologie (projet [SURFSTAT](#)), nous avons ciblé **une zone d'étude initiale localisée autour de l'Agriate, du cap Corse et le long de la côte orientale Corse** (Figure 3).

Par la suite, nous nous sommes intéressés à **tout le littoral corse** en saisissant l'opportunité de couplage à un autre projet de recherche s'intéressant à l'inventaire des poissons de fonds meubles par ADN environnemental (projet PIAF)

II. Cartographie des biocénoses marines et analyse surfacique

II.A. Actualisation de la cartographie des biocénoses marines

Dans la zone d'étude Agriate-cap corse/côte orientale, la cartographie des biocénoses marines existante (Donia expert sur Medtrix) a été actualisée par l'usage d'un sonar latéral. Les données initiales de 2011 et 2017 ont été actualisées avec un **sonar latéral bifréquence Klein 3900 (ANNEXE 2)** par Andromède Océanologie en 2021. Les actualisations ciblent principalement les herbiers de posidonie, et notamment l'évolution des limites inférieures, mais également les biocénoses des roches infralittorales à algues photophiles et des récifs coralligènes. La dernière campagne de 2021 a permis de compléter les données sonar manquantes et/ou non exploitables des deux premières missions et d'actualiser certaines zones. Cette actualisation de la cartographie s'inscrit au sein du [projet SURFSTAT](#) de la plateforme [MEDTRIX](#).

II.B. Analyses surfaciques des herbiers de posidonie

La cartographie des biocénoses marines obtenue permet une première estimation de l'évolution et de la conservation des herbiers de posidonie, une des biocénoses préférentielles, avec les fonds meubles, des anges de mer commun (*Squatina squatina*). Deux indicateurs surfaciques sont ainsi calculés pour cette étude : **l'indice de cohésion** et **l'indice de déclin** (Holon et al., 2018 ; Houngnandan et al., 2020).

L'indice de cohésion est le pourcentage de la superficie où les différentes tâches d'herbier se touchent. Cet indice est élevé lorsque l'herbier est dans un bon état de santé et faible si l'herbier est dégradé.

L'indice de déclin est le pourcentage de matte morte (ce qu'il reste d'un herbier après sa mort) sur une aire donnée. Un indice de déclin élevé (*i.e.* proche de 1) correspond à un herbier dégradé et un faible indice de déclin (*i.e.* proche de 0) à un herbier dans un bon état de santé.

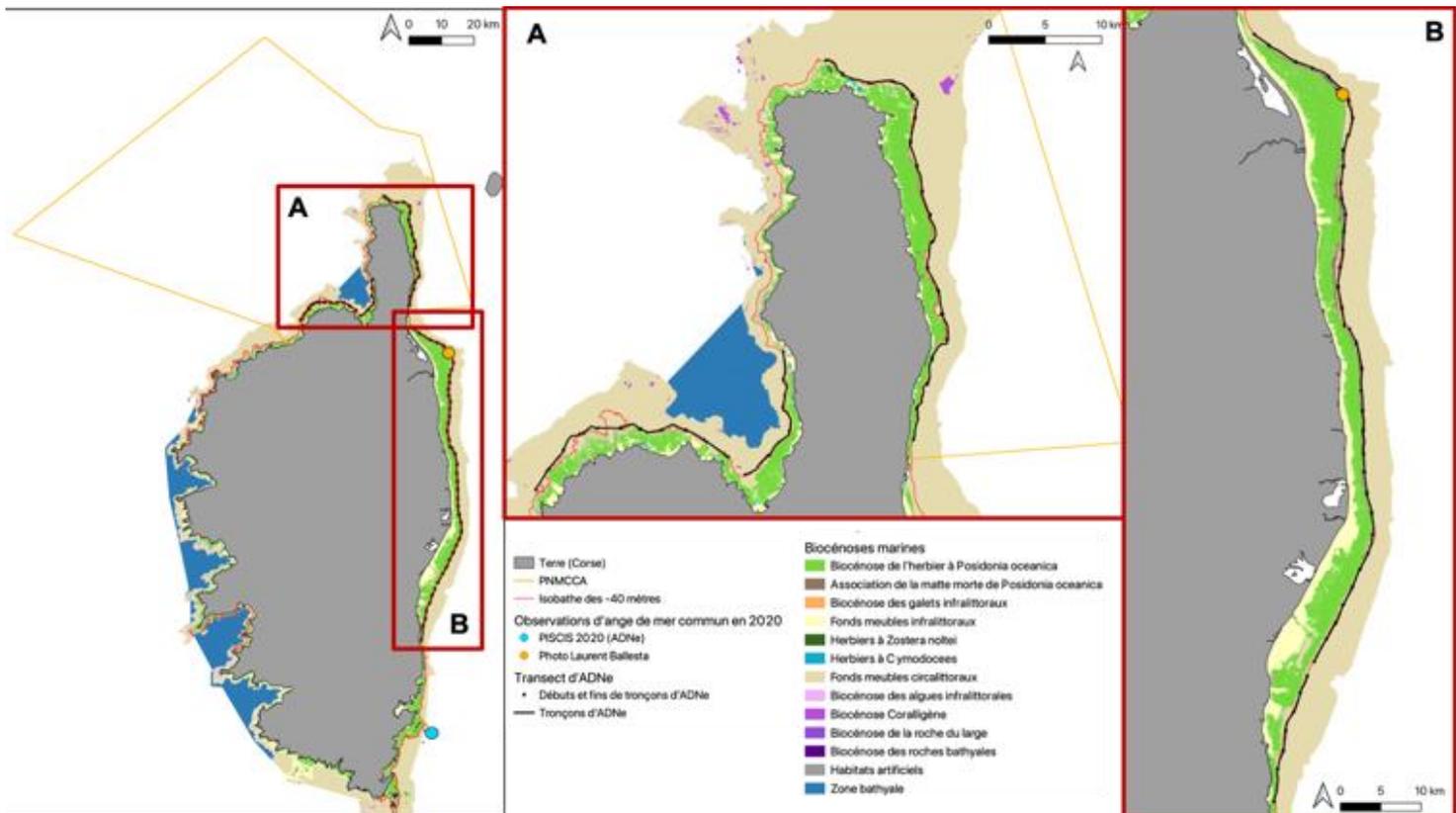
Ces deux indices ont été calculés dans un **périmètre de 500 m de part et d'autre des tronçons d'échantillonnage de l'ADN environnemental et des sites de suivi écologique** (voir plus loin Figure 4 et Figure 8).

III. Analyse de la distribution de *Squatina squatina* à partir d'ADN environnemental

III.A. Zones échantillonnées

Grâce aux données cartographiques (voir précédemment), un transect d'échantillonnage est dessiné en suivant l'isobathe des 40 mètres en limite inférieure d'herbier de posidonie. Cette zone frontière semble d'après les observations de pêche être favorable à la présence des anges de mer commun (*Squatina squatina*).

En avril-mai 2021, la zone d'étude Agriate-cap corse - côte orientale a été traversée par un long transect divisé en **76 tronçons de 2,5 km** (trait noir sur la Figure 4).



En avril mai 2023, le reste de la corse a été traversée par un long transect de 361 km divisé en **80 tronçons** (16 tronçons de 2,5 km et 64 tronçons de 5 km). Cet échantillonnage a été mené dans le cadre du projet PIAF (voir ci-dessous).

Le projet PIAF (Poissons des fonds meubles : Inventaire par ADN_e) a pour but d'inventorier par ADN environnemental et metabarcoding (méthode moléculaire décrite dans Boulanger et al, 2021) les espèces de poissons présentes sur fonds meubles en limite inférieure d'herbier de posidonie tout autour de la Corse. Ce projet (2023-2025) est porté par l'Université de Montpellier – UMR MARBEC en partenariat avec Andromède océanologie. Il est soutenu par l'Agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse, l'Office Français de la Biodiversité et l'Office de l'Environnement Corse.



La Figure 5 représente la cartographie totale des zones échantillonnées par ADN_e et analysées en ciblant l'ADN de *Squatina squatina* (barcoding) et en metabarcoding.

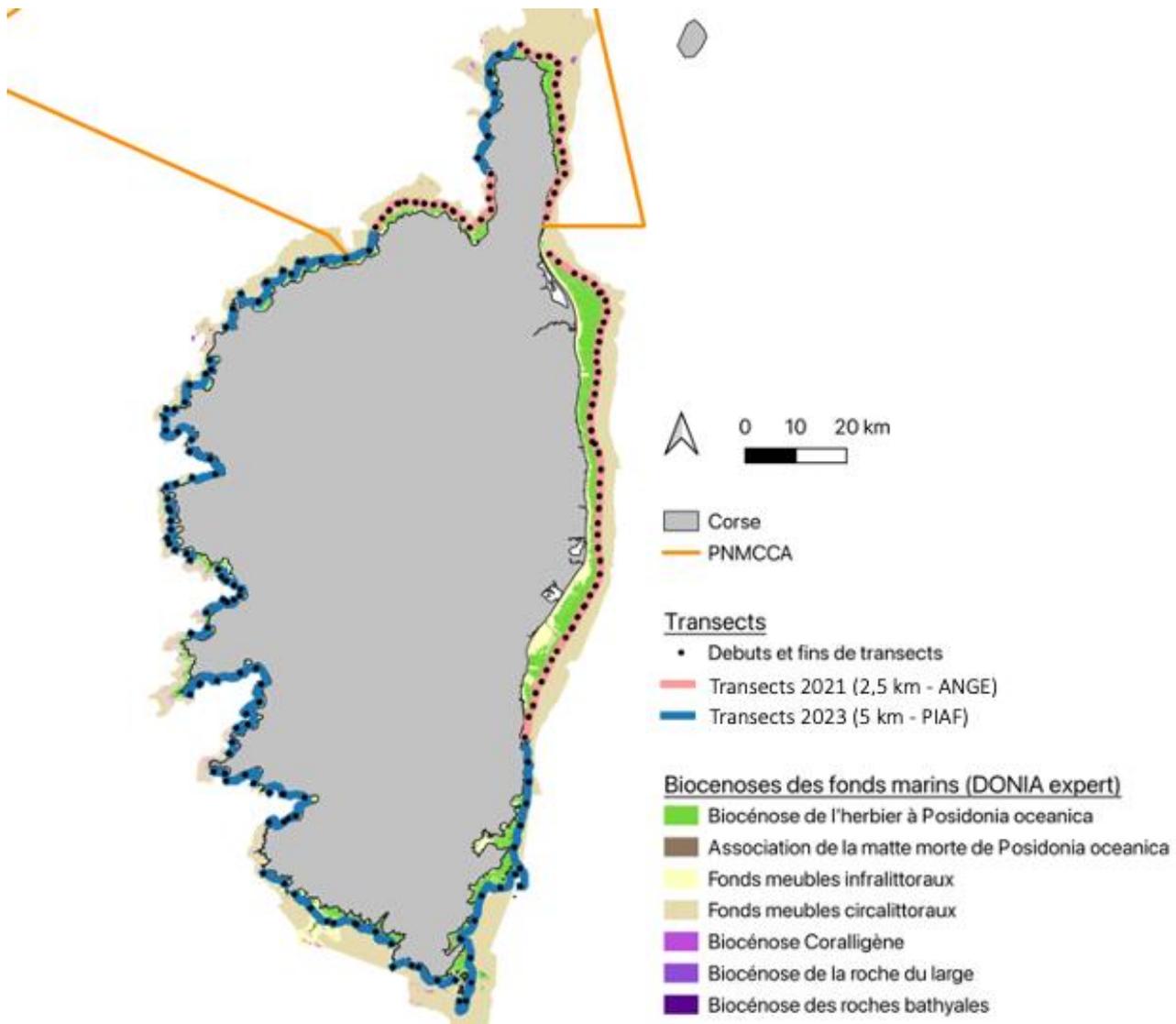


Figure 5 : Carte globale des transects effectués par ADN environnemental en 2021 lors du projet ANGE (en rose) et en 2023 lors du projet PIAF (en bleu).

Chaque transect a été échantillonné pour l'ADN environnemental (ADNe) à l'aide d'une pompe étanche (prototype que nous avons conçu en 2019, pour l'expédition scientifique Gombessa 5 – Planète Méditerranée, et amélioré pour cette mission) filtrant l'eau de mer *in situ* quelques mètres au-dessus du fond en étant traînée par le **catamaran Zembra** à environ **2 nœuds** (Figure 6). Sur chaque tronçon, 30L (tronçon de 2,5 km) ou 60 L (tronçon de 5 km) ont été filtrés. Les tronçons les plus longs ont été échantillonnés par deux filtres en parallèle à l'aide d'une pompe double tête. Cette méthode directe *in situ* évite les contaminations liées à l'usage de multiples contenants (sacs ou bouteilles niskin) ou lors de filtrations en surface (Mouillot, Comm. pers.). Une caméra (GoPro) était fixée à la pompe pour filmer tout le long des filtrations (Figure 7). Ces vidéos ont été analysées afin de s'assurer de la distance entre la filtration et le substrat, de connaître la nature de ce dernier, d'inventorier tous les macros-déchets et les espèces visibles sur les vidéos.

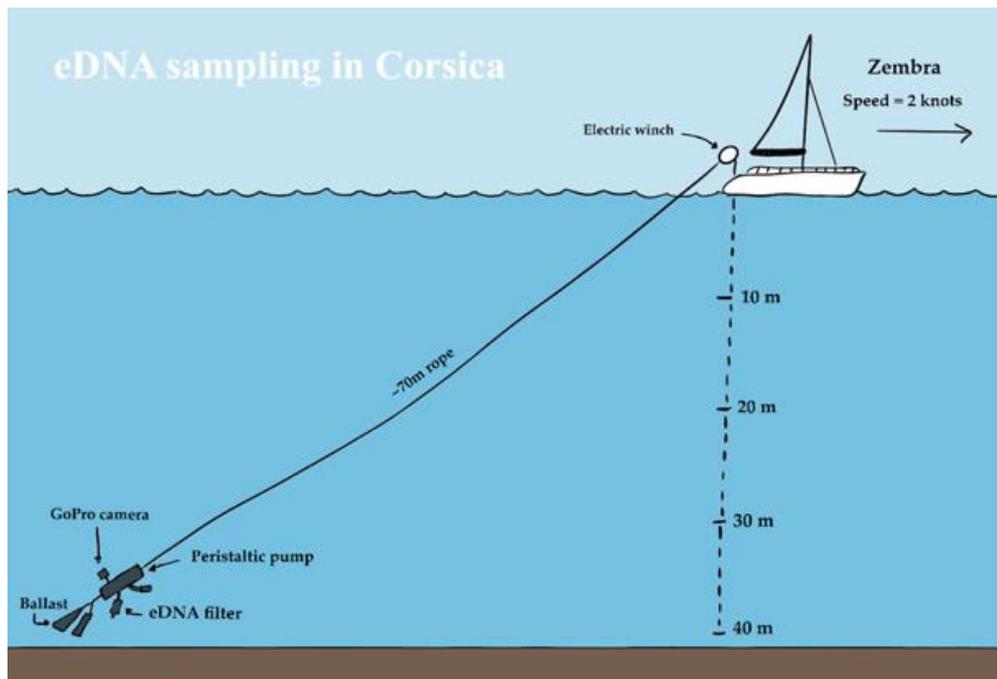


Figure 6 : Schéma du protocole de filtration d'ADNe © Nadia FAURE

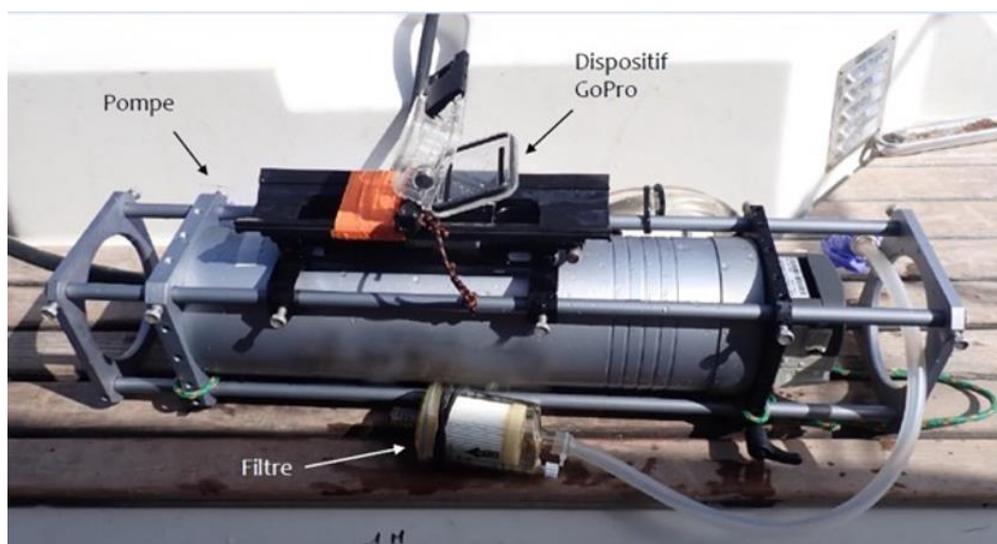


Figure 7 : Montage du prototype de « pompe à ADNe » avec le dispositif GoPro.

Pour maximiser la détection de l'ADNe, souvent rare en mer, nous utilisons une technologie unique développée permettant de filtrer une grande quantité d'eau (jusqu'à 70 litres, kits VigiDNA MW1 de SPYGEN) associée à une pompe étanche que nous avons conçue. L'extraction (réalisée en salle blanche), l'amplification, le séquençage de l'ADNe (technologie Miseq®) et les analyses bioinformatiques sont réalisés par SPYGEN. Afin de pouvoir assigner un taxon aux séquences génétiques amplifiées dans nos échantillons d'ADNe, nous utilisons la base de références génétiques développée au cours des années précédentes avec le soutien de l'Agence de l'eau RMC.



L'ADNe (ADN environnemental) est capable d'analyser la biodiversité des vertébrés en milieu marin, y compris des espèces rares. En 2018 et 2019, nous avons développé une base de données pour la partie 12S du génome afin d'analyser l'effet réserve via l'eDNA (120 espèces séquencées).

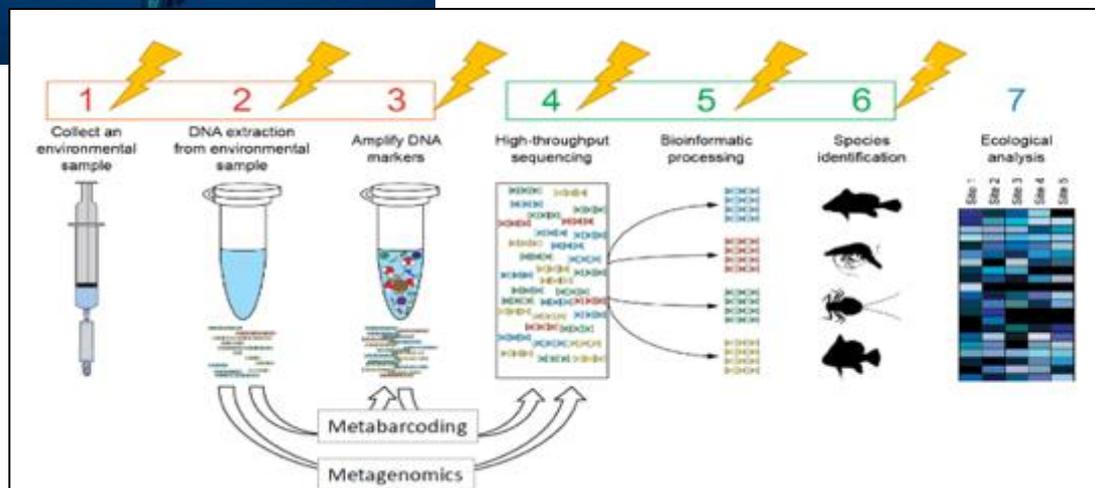


Figure 8 : Traitement de l'ADNe

III.B. Développement d'une méthode de détection spécifique de l'ange de mer à partir d'ADNe (barcoding)

A partir d'un échantillon de tissu, un marqueur génétique (code barre) a été développé en collaboration avec Stéphanie Manel, Directrice d'études EPHE rattachée au CEFE et Bastien Macé (stage) pour détecter (méthode Barcoding) rapidement (en quelques jours) la présence de l'ADN d'ange de mer dans un prélèvement d'eau.

Le développement du test qPCR pour cibler l'ADN mitochondrial de *Squatina squatina* et les analyses de ces données sont détaillés dans le mémoire de stage de M1 de Nadia Faure (Faure, 2021) et font l'objet d'une publication publiée en 2023 dans *Aquatic conservation*.

Pour détecter la présence de l'ange de mer, tous les échantillons ont été analysés par barcoding au CEFE après extraction d'ADN par SPYGEN.

III.C. Inventaire des espèces de poissons par metabarcoding pour la détection de l'ange de mer sur toute la Corse et pour le calcul d'indicateurs de biodiversité sur les tronçons positifs à la présence de *Squatina squatina*.

Les filtres des tronçons positifs par barcoding pour la présence d'ange de mer ont tous été analysés par **metabarcoding** (méthode moléculaire décrite dans Boulanger et al, 2021) afin d'inventorier les espèces de poissons associées à *S. squatina*. Contrairement au barcoding qui cible une espèce, le metabarcoding cible une partie **d'ADN commune à toutes les espèces de poissons osseux et cartilagineux (12S)**. Pour assigner les génomes aux bonnes espèces les bases de référence GenBank et une base de référence privée (développée par MARBEC, le CEFE et SPYGEN) ont été utilisées. A elles deux, **479 espèces de Méditerranée française sont référencées** et peuvent donc être assignées à une séquence d'ADN détectée par ADNe. Par cette méthode *Squatina squatina* peut aussi être détectée mais avec une moindre sensibilité qu'avec le barcoding (Faure et al, 2023).

Par ailleurs, les inventaires d'espèces de poissons osseux et cartilagineux sont utilisés pour calculer sur chaque tronçon positif à la présence de l'ange de mer (Dalongeville et al., 2022.) :

- **L'indicateur de richesse spécifique (R)** quantifie simplement le nombre d'espèces de vertébrés recensés. Il répond donc aux descripteurs D₁ (biodiversité) du bon état écologique de la stratégie pour le milieu marin (DCSMM).
- **L'indicateur de diversité fonctionnelle (FD)** basé sur la diversité des traits écologiques (régime alimentaire, croissance, reproduction, taille etc..) au sein d'un site. Il répond au descripteur D₁ (biodiversité) de la DCSMM et n'est pas dépendant de la richesse spécifique ni de la taxonomie.
- **Large reef Fish Index (LFI)** correspond au nombre d'espèces dont la taille du corps est supérieure à 20cm.
- **L'indicateur crypto-benthique (Crypto)** ou CB va quantifier le nombre d'espèces de poissons de récif de petite taille (10 cm ou moins à l'âge adulte). Ces espèces constituent une part importante de la biodiversité, un « maillon » essentiel du réseau trophique et sont rarement comptabilisées par les méthodes classiques d'échantillonnage car trop petites et cachées. L'ADNe permet d'estimer leur biodiversité et renseigne les descripteurs D₁ (biodiversité) et D₄ (réseau trophique) du bon état écologique.
- **Le ratio d'espèces Demerso-pélagiques sur les espèces benthiques (DP_B_ratio)** : Correspond au ratio entre le nombre d'espèces démersales, qui vivent près du fond (e.g. les raies, les grondins, etc), et les espèces pélagiques, qui vivent dans la colonne d'eau (e.g. requins, sars, dorades, etc) sur le nombre d'espèces benthiques, qui vivent sur les fonds marins (e.g. les sols). C'est un indicateur de biodiversité renseignant sur les effets de protections. La richesse spécifique des espèces démersales et pélagiques semblent plus importante dans les zones protégées à *contrario* des espèces cryptobenthiques. (Dalongeville et al., 2022).
- **L'indicateur thermique des poissons (CTI)** est conçu pour aider à comprendre les impacts climatiques dans les habitats récifaux en quantifiant les changements dans la composition des poissons qui peuvent être liés à l'augmentation des températures de l'eau de mer. TP représente simplement une température "préférée" des espèces de poissons sur un site. Cette température préférée est calculée pour chaque poisson sur son aire de répartition globale. Ensuite TP est la moyenne de ces températures préférées des poissons détectés sur un site. Si TP s'éloigne des températures du site cela signifie que les espèces n'ont pas les conditions locales optimales, par exemple en cas de réchauffement climatique, et donc que la communauté de poissons est vulnérable avec potentiellement des extinctions locales. Cet indicateur peut fournir des informations pour l'indicateur D₁ (biodiversité) plus particulièrement sur l'aspect « adaptation aux conditions climatiques existantes ».
- **Le nombre d'espèces exotiques (Exo) du milieu méditerranéen détectées sur les tronçons**

- **La somme pondérée des espèces figurant sur la liste rouge (RedList).** Avec comme classes VU (Vulnérable) = 1 ; EN (En danger) = 2 ; CR (Danger critique d'extinction) = 3
- **Le nombre d'espèces de requins et raies (Chondri).**
- **Le niveau trophique moyen (Trophic).** Il est basé sur le régime alimentaire des espèces. Les espèces autotrophes ont un indice compris entre 0 et 1 et les espèces carnivores entre 4 et 5. Le niveau trophique de chaque espèce est récupéré sur FishBase (<https://www.fishbase.de/>).
- **Le nombre d'espèces avec un intérêt commercial (Commercial) et le nombre d'espèce à fort intérêt commercial (High_commerc).**
- **La diversité phylogénétique (PD)** qui est la somme totale des longueurs des branches phylogénétiques pour les téléostéens. La valeur est dans un intervalle de 1,5 à 21,8.
- **La moyenne de toutes les espèces sensibles à l'exploitation (Vulner)** calculée à partir de 8 traits de vie.

IV. Analyse écologique des habitats fréquentés et espèces associées

IV.A. Localisation générale des sites et caractéristiques



Parmi les zones de présence avérée de l'ange de mer commun (*Squatina squatina*), **neuf sites** ciblant différentes biocénoses (herbier de posidonie à -15m, fond meuble et limite inférieure de posidonie à -40 m) ont été choisis pour une analyse de leur état écologique en mai 2021 (Figure 9, Tableau 1).

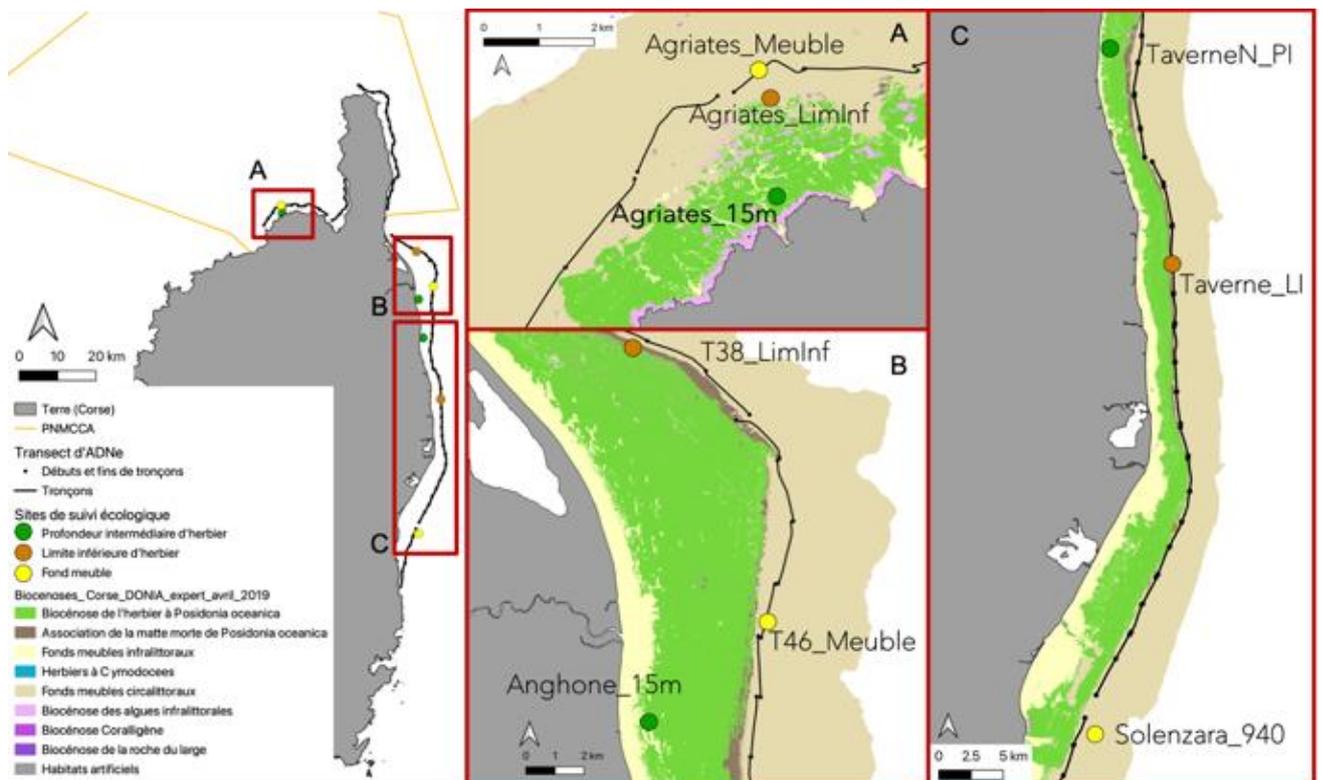


Figure 9 : Sites étudiés pour l'analyse écologique. En vert les sites dans l'herbier de posidonie, en gris les sites en limites inférieures d'herbier et en orange les sites dans les fonds meubles.

Tableau 1 : Paramètres des différents sites choisis pour l'analyse écologique.

Date	Site	Masse d'eau	Nature du fond	X	Y
28/04/2021	Solenzara_940	FREC02d	Meuble, détritique côtier	9°28,723	41°55,215
01/05/2021	TaverneN_Pi	FREC02d	Herbier dense avec tombant de matre de 2 m et présence de petites roches.	9°32,803	42°23,971
02/05/2021	Taverne_Li	FREC02d	Limite herbier et rhodolithe	9°35,279	42°14,715
22/05/2021	Agriates_LimInf	FREC01ab	Limite herbier et roches	9°07,022	42°44,852
23/05/2021	Agriates_15m	FREC01ab	Herbier	9°07,001	42°43,910
24/05/2021	Agriates_Meuble	FREC01ab	Meuble et petits affleurement rocheux	9°06,890	42°45,154
04/05/2021	Anghone_15m	FREC02c	Herbier	9°32,524	42°29,690
25/04/2021	T38_LimInf	FREC02c	Herbier chaluté	9°32,930	42°36,743
27/04/2021	T46_Meuble	FREC02c	Meuble	9°35,708	42°31,412

IV.B. Récoltes de données sur les neuf sites de suivi écologique

IV.B.1. Acquisition de données par les plongeurs

Sur chaque site les **menaces visibles** (engin de pêche, déchets) ont été répertoriées, des **illustrations** (photographies) ont été réalisées et un **inventaire d'espèces** effectué par des plongeurs. Au total 33 h de plongée ont été cumulées pour 11 plongeurs.

En profondeur intermédiaire d'herbier de posidonie (-15 m), la densité de faisceaux de *Posidonia oceanica* a été estimée à partir de comptages dans 20 quadrats de 40 cm x 40 cm. Vingt longueurs de feuille ont également été mesurées de manière aléatoire.

En limite inférieure d'herbier de posidonie, le type de limite a été déterminé parmi 5 catégories :

- Limite progressive : Présence de rhizomes plagiotropes en avant de la limite
- Limite franche à fort recouvrement : limite franche avec un recouvrement > 25%
- Limite franche à faible recouvrement : limite franche avec un recouvrement < 25%
- Limite clairsemée : recouvrement inférieur à 15% et densité et moins de 100 faisceaux par m²
- Limite régressive : Présence de mattes mortes en avant de la limite

IV.B.2. Inventaire des poissons par metabarcoding à partie d'ADN environnemental

L'ADNe a été récolté à partir de deux filtrations de 30 litres d'eau de mer durant 30 minutes par une pompe étanche laissée au fond sur chaque site. Les espèces de poissons sont inventoriées par **metabarcoding** selon le protocole de Boulanger et al. (2021) avec notre base génétique de références de Méditerranée de 2021 (voir o).

IV.B.3. Inventaire des poissons par caméra

Un système de caméra composé de deux GoPro dos à dos filmant de part et d'autre (Photo ci-contre) a été installé sur chaque site. Deux trépieds ont été positionnés de manière que les caméras filment dans le même axe et par-dessus l'herbier pour avoir un champ de vision important. Les caméras ont été posées le matin et ont été récupérées le soir avant la tombée de la nuit. Le temps d'enregistrement sur chacun des sites est en moyenne de **10 heures**.



A partir des vidéos, un **comptage d'espèces et du nombre d'individus par espèce** a été réalisé par Adèle Barroil et Marine Loisel (stage). Ces inventaires se font dans un périmètre de **3 mètres de rayon autour des caméras**. Quelques problèmes techniques ont été rencontrés (Tableau ci-dessous), mais les inventaires restent réalisables sur au moins une des caméras du dispositif par site.

Tableau 2 : Tableau des paramètres et problèmes rencontrés pour les différents systèmes caméras posés sur les sites.

Date	ID_Site	Profondeur	Temps vidéo	Habitat (qualificatif)	Temp d'acquisition (en h)	Système Camera
28/04/2021	Solenzara_940	49	05:00	Meuble	00:00	A1
					02:57	A2
					02:39	B1 B2
01/05/2021	TaverneN_PI	15	11:00	Herbier	11:30	A1 A2
					11:12	B1
					11:29	B2
02/05/2021	Taverne_LI	49	11:00	Lim Herbier et Rhodolithe	11:48	A1 A2
					12:05	B1 B2
04/05/2021	Anghone_15m	15	05:00	Herbier	00:00	A
					02:46	B1
					05:00	B2
22/05/2021	Agriates_LimInf	45	12:00	LimHerbier et roches	11:30	A1
					12:05	A2
					00:51	B1
					12:05	B2
23/05/2021	Agriates_15m	17	10:00	Herbier	12:40	A1 A2
24/05/2021	Agriates_Meuble	44	04:00	Meuble et petits affleurements rocheux	04:25	A1 A2
					04:08	B1 B2
25/05/2021	T38_LimInf	32	12:00	Herbier chaluté	00:48	A1
						A2
					12:22	B1 B2
27/05/2021	T46_Meuble	41	12:00	Meuble	12:23	A1
					05:00	A2
					12:40	B1
						B2

IV.C. Évaluation écologique des habitats

IV.C.1. Indicateurs calculés pour les sites en profondeur intermédiaire et en limite inférieure d'herbier de posidonie.

L'état de santé des herbiers de posidonie a été évalué à -15 m à partir de l'indice BiPo (Lopez y Royo et al., 2010) et à partir du calcul des indices de cohésion et de déclin dans un cercle de 500 m autour du site (voir o). Le BiPo est calculé à partir des mesures réalisées en plongée : densité des faisceaux de posidonie, de longueur des feuilles ainsi que de la profondeur et du type de limite inférieure d'herbier. Le ratio de qualité écologique (EQR) du BiPo est calculé de la manière suivante :

$$EQR_{BiPo} = \frac{EQR'_{LLdepth} + EQR'_{LLtype} + EQR'_{Density} + EQR'_{shoot\ leaf\ surface}}{4}$$

Avec :

- $EQR'_{LLdepth}$ = profondeur de la limite inférieure d'herbier de posidonie
- EQR'_{LLtype} = type de limite inférieure d'herbier de posidonie (progressive, franche, clairsemée, régressive)
- $EQR'_{Density}$ = Densité des faisceaux en profondeur intermédiaire calculée à -15 mètres
- $EQR'_{Shoot\ leaf\ surface}$ = Surface foliaire calculée à -15 mètres

L'EQR du BiPo est ensuite interprété selon les catégories représentées dans le Tableau 3 (Lopez y Royo et al., 2010) :

Tableau 3 : Paramètres et valeurs de référence utilisés pour l'indice BiPo. Densités et longueurs de feuilles sont mesurées à -15 m. D'après Lopez y Royo et al. (2010).

The BiPo index: evaluation and harmonisation of metrics.

Class		RC	High	Good	Moderate	Poor	Bad(3)
Lower limit depth	Values (m)	38	>31	31-25	25-19	<19	n/a
	EQR	1	$((X - 31)/7) \times 0.225 + 0.775$	$((X - 25)/6) \times 0.225 + 0.55$	$((X - 19)/6) \times 0.225 + 0.325$	$((X/19) \times 0.225) + 0.1$	0.05
Lower limit type	Values	n/a	Progressive and erosive limits	Sharp limits	Sparse limits	Regressive limits	n/a
	Supporting parameters(1)	1	>70% cover or >70% plagio	<70% cover and <70% plagio	<15% cover, %plagio n/a	recent dead mat	n/a
	EQR	1	0.89	0.66	0.44	0.21	0.05
Shoot density	Values (shoots m ²)	599	>339	339-239	239-172	<172	n/a
	EQR	1	$((X - 339)/260) \times 0.225 + 0.775$	$((X - 239)/100) \times 0.225 + 0.55$	$((X - 172)/67) \times 0.225 + 0.325$	$((X/172) \times 0.225) + 0.1$	0.05
Shoot leaf surface(2)	Values (cm shoot ⁻¹)	310	>200	200-152	152-119	<119	n/a
	EQR	1	$((X - 200)/133) \times 0.225 + 0.775$	$((X - 152)/48) \times 0.225 + 0.55$	$((X - 119)/33) \times 0.225 + 0.325$	$((X/119) \times 0.225) + 0.1$	0.05
Or shoot length	Values (mm)	955	>812	812-651	651-481	<481	n/a

RC: reference conditions.

(1) % cover and % plagiotropic rhizomes (plagio) are used to support characterisation of lower limit types.

(2) In cases of sampling constraints or historical data, boundary values determined for the late summer can be adapted to early summer or spring, by normalising them against shoot leaf surface reference conditions. Reference conditions for shoot leaf surface are 290 cm shoot⁻¹ for spring (April-May), 381 cm shoot⁻¹ for early summer (June), and 443 cm shoot⁻¹ for full summer (July).

(3) Bad Status corresponds to a recorded recent die-off of the meadow (<5 years).

IV.C.2. Inventaire des espèces associées

Les indicateurs de biodiversité cités précédemment (voir 0) ont ensuite été calculés (Dalongeville et al. 2022) à partir des observations caméras, des inventaires ADNe et des observations faites par les plongeurs. Pour ces analyses, le temps de vidéo a été réduit à 5 h pour tous les sites afin d'avoir un effort d'échantillonnage identique.

IV.C.3. Suivi de la température de fond

Trois **capteurs de température** HOBO ont été posés deux années du 28/04/2021 au 17/06/2023. Ces capteurs sont programmés pour enregistrer une mesure de température toutes les heures pendant 3 ans. Ces données permettent de connaître les variations de températures sur chacun des substrats (e.g. profondeur intermédiaire d'herbier, limite inférieure d'herbier et meuble) tout au long de l'année.

IV.C.4. Synthèse des données récoltées et analyses réalisées

Le tableau ci-dessous synthétise les données acquises et leurs analyses en fonction de l'habitat sous-marin du site.

Tableau 4 : Synthèse des données acquises et de leurs analyses pour l'évaluation écologique des sites en fonction des habitats concernés indiqués par une croix.

ANALYSES DES DONNÉES		RECOLTE DES DONNÉES			
		Profondeur intermédiaire (PI)	Limite inférieure (LI)	Meuble	
BIPO	Données récoltées en plongée	Longueur des feuilles de <i>Posidonia oceanica</i>	X		
		Densité des faisceaux	X		
		Déchaussement des faisceaux	X	X	
		Profondeur et type de limite inférieure		X	
Description générale du site	Données récoltées en plongée	Type de substrat			X
		Inventaire des pollutions et perturbations anthropiques rencontrées	X	X	X
		Inventaire des espèces rencontrées et d'éléments remarquables	X	X	X
Indicateurs surfaciques (cohésion et déclin)	Données cartographiques	Actualisation de la cartographie des biocénoses marines (projet IMPACT)			
Indicateurs de biodiversité	ADNe	Inventaire ichtyologique	X	X	X
	Caméras				
Suivi de l'évolution de la température	Capteur de température	Températures de fond sur trois ans			

V. Analyses des pressions du réseau IMPACT

Les pressions subies par les zones étudiées (tronçons de filtration + sites d'analyse écologique) ont été quantifiées séparément, en les cumulant, et en cumulant leurs impacts en fonction de la sensibilité des habitats selon la méthodologie de Halpern et al. (2008) et Holon et al. (2015). Pour cela, les dernières données cartographiques du [projet IMPACT](#) (Andromède Océanologie, Agence de l'eau RMC – plateforme MEDTRIX) ont été utilisées.

Les données IMPACT considèrent **13 pressions anthropiques** pour leur origine et leur intensité : l'urbanisation/la population, les aménagements côtiers, le mouillage petite plaisance, le mouillage de grandes unités, l'érosion/l'aggradation côtière, l'agriculture, les effluents industriels, l'aquaculture, la pêche professionnelle, le tourisme balnéaire, le trafic maritime, la pollution par les cours d'eau, et les rejets urbains.

Elles sont représentées selon un gradient allant de 0 (pas de pression) à 1 (pression maximale).

Ces pressions ont été calculées pour une distance de 500 m autour des tronçons et des sites de suivi écologique.

La **pression de pêche au chalut** reconnue comme une menace importante pour *S. squatina* (Gordon et al, 2009) devait quant à elle être quantifiée selon la méthode de Ferrà et al. (2018) à partir de données AIS (systèmes d'identification automatique des navires) en 2023. Cependant les données n'étaient pas assez précises pour l'échelle de ce projet. L'amélioration du modèle est en cours.

VI. Questionnaire en ligne

ANDROMEDE OCEANOLOGIE
4 333 abonnés
5 mois · 🌐

Appel à témoignages de rencontres avec des anges de mer en méditerranée Française !

Le questionnaire (30 questions) est ici : <https://lnkd.in/eXAaiwQt>

Nous menons une enquête dans le cadre d'un projet de recherche sur l'ange de mer commun, une espèce de requin benthique classée en danger critique d'extinction d'après l'IUCN. Alors que cette espèce était autrefois abondante en Méditerranée française, plus aucune observation de l'espèce n'est faite hormis en Corse (pêche, observations directes).

Les témoignages que nous récolterons grâce à ce questionnaire nous permettront de connaître l'aire de répartition de l'espèce ciblée et d'avoir une idée de son abondance. Par la suite, un travail de sensibilisation sera fait auprès des usagers de la mer.

Faites circuler au maximum ce questionnaire (entièrement anonyme) auprès de toute la communauté française de pêcheurs loisir et de chasseurs sous-marins en Méditerranée (e-mails, réseaux sociaux, affichage...) et encouragez votre réseau à y répondre svp !

PS: Cette enquête est menée dans le cadre d'un projet mené par l'université de Montpellier, Andromède océanologie et Bastia Offshore, soutenu par l'Agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse, le Parc Naturel Marin du Cap Corse et Agriate, l'Office français de la biodiversité, la Fondation Prince Albert II de Monaco, les Monaco Explorations et Blancpain.
#AngelShark #fishing

**TU PRATIQUES LA PÊCHE LOISIR ?
NOUS AVONS BESOIN DE TOI !**

PROJET DE RECHERCHE SUR UNE ESPÈCE DE REQUIN EN DANGER CRITIQUE D'EXTINCTION (IUCN) | QUESTIONNAIRE ENTièrement ANONYME

Pour plus de renseignements ou si tu souhaites nous donner plus d'informations écris-nous à adele.barroil@umontpellier.fr

MERCI D'AVANCE POUR TON AIDE !

Vous et 66 autres personnes | 5 commentaires · 29 partages

Une **enquête auprès des pêcheurs de loisirs** a été menée pour évaluer la perception de l'espèce, la fréquence et les zones des prises ainsi que la survie estimée des prises accessoires (<https://forms.gle/h1QGyw2EnsMh6FR77>).

C'est un questionnaire en trois rubriques réalisé avec l'outil Google Form (ANNEXE 3).

Une première rubrique comprenant des questions directes sur *S. squatina* est introduite par un court texte expliquant l'objectif de l'enquête.

La deuxième rubrique permet d'avoir des informations sur les méthodes utilisées et l'ancienneté dans la pêche du questionné. Ces questions permettent également d'obtenir des informations sur les fédérations, associations et clubs de pêche dont font partie les personnes. Cela permettra de cibler les structures pour une éventuelle campagne de sensibilisation par la suite.

Pour finir, la dernière rubrique permet d'expliquer plus en détail le projet de recherche dans lequel s'inscrit le questionnaire et d'avoir le consentement de la personne pour utiliser ses réponses dans l'étude.

Le questionnaire est entièrement confidentiel. Une adresse E-mail est laissée afin que les personnes souhaitant plus d'informations ou ayant des informations/remarques à donner puissent le faire.

Ce questionnaire a été réalisé par Adèle Barroil en collaboration avec Pierre Charles Luzi, président de l'association Scola Pesca & Natura di Corsica (SPNC).

Une affiche a également été créée pour faire connaître ce questionnaire sur les réseaux sociaux (exemple de publication ci-contre). La première publication date du 22 février 2022 (LinkedIn, Facebook, Instagram), elle a été relayée par Pierre Charles Luzi au sein de ses réseaux de pêche (différents groupes Facebook de la communauté de pêcheur loisir corse).

De plus, cinq guides de pêche et trois pêcheurs amateurs ont été directement contactés par téléphone afin de leur présenter le projet et de les convaincre d'y répondre. Certains d'entre eux ont été favorables à le partager au sein de leurs réseaux personnels. La liste des personnes contactées est en ANNEXE 4.

VII. Mieux connaître la biologie de l'ange de mer commun (*Squatina squatina*).

VII.A. Provenance des prélèvements biologiques : pêcheurs et plongeurs.

Des **pêcheurs professionnels** (chalutiers et fileyeurs) ont été informés du projet en 2022 afin de profiter de leurs prises accidentelles (point GPS, profondeur, taille, sexe) pour récupérer des prélèvements. Un contrat de partenariat avec une compensation était prévu avec ces pêcheurs à travers le [Comité Régional des Pêches Maritimes et des Elevages Marins de Corse](#) et le Parc naturel Marin du Cap Corse et de l'Agriate. Un partage de données antérieures (enquêtes, mesures) récoltées par J.-J. Riutort était par ailleurs prévu dans le projet. A ce jour, **deux pêcheurs se sont proposés et ont été autorisés à effectuer des prélèvements sur leur prises accidentelles**. Ces deux professionnels sont : Pierre Bouvet (CIRCE, AJ768 847) et Laurent Briancon (BERNADETTE, BI 932 449). Malheureusement ils n'ont pas pêché de *Squatina squatina* durant leur activité normale et nous ne souhaitons pas organiser des sorties ciblées sur l'espèce pour ce projet afin d'éviter une éventuelle mortalité dûe au projet.

Le maintien à bord d'individu de *S. squatina* pour le recueil de données biologiques et les marquages par des pêcheurs professionnels ont fait l'objet de demandes d'autorisation auprès des services de l'état concernés et du CRPME de Corse.

D'autres pêcheurs anonymes, au courant du projet, ont fourni des prélèvements de tissus. Des sorties pescatouristiques ont aussi permis d'effectuer des prélèvements lors de prises accidentelles ainsi que des rencontres fortuites lors de plongées sur les sites détectés positifs par bacoding.

VII.B. Utilisation des prélèvements biologiques

VII.B.1. Génétique des populations

Pour chaque individu, un échantillon de peau (fragment de nageoire de 1 cm²) a été prélevé et directement conservé dans de l'alcool 96% avant de relâcher l'individu. Dans la mesure du possible, nous avons enregistré l'endroit exact où l'individu a été capturé, son sexe, sa longueur totale et la profondeur à laquelle il a été capturé. Tous les échantillons ont été conservés à -20°C au CEFÉ (Montpellier) jusqu'à leur analyse.

Le but de cette étude est d'étudier la structure génétique fine de la population d'ange de mer commun (*Squatina squatina*) en Corse afin d'avoir une meilleure compréhension de l'écologie de cette espèce (e.g. structures familiales, philopatrie). D'autre part, cette étude cherche à estimer la taille efficace de la population pour avoir une idée de la viabilité de la population.

Les analyses en laboratoire et l'analyse des données sont décrites dans le manuscrit de Nadia Faure en ANNEXE 5.

En collaboration avec le Angel Shark Network, nous avons réalisé une étude conjointe comparant les populations d'ange de mer aux îles Canaries et en Corse. Le rapport rédigé par Nadia Faure en 2023 est disponible en ANNEXE 6.

VII.B.2. Étude du microbiome

En vue d'une **étude du microbiome**² interne et externe associé à la population corse de *Squatina squatina*, des prélèvements de mucus externes (dorsaux, ventraux) et internes (au niveau du cloaque) ont été effectués.

² Communauté de micro-organismes associés

Une analyse du séquençage de la région v₄ du gène codant pour la sous-unité 16S de l'ARN ribosomal a été faite. Ce marqueur est celui utilisé pour les analyses des communautés procaryotes. Divers indices ont été calculés à partir des résultats du séquençage :

- La richesse taxonomique : ASVs (Amplicon Sequence Variant) qui correspond à chaque séquence différente identifiée dans le résultat de séquençage.
- L'abondance taxonomique : Indices de Shanon et Simpson
- La richesse phylogénique : Faith

La méthodologie complète (Salasc, 2024) est disponible en ANNEXE 7.

VII.C. Étude des déplacements par pose de balise

Parmi les premiers individus capturés qui ont fait l'objet de mesures et prélèvements, deux grands adultes (1 mâle et 1 femelle) ont été équipés de **X-Tags Standard rate de chez [Microwave Telemetry](#)** le 26 mai 2021. Les balises permettent d'avoir des informations sur la **profondeur, la température et la position** très grossière, basée sur la luminosité. Les balises étaient programmées pour se décrocher de l'animal au bout de 10 mois ou après trois jours à profondeur inchangée, seuil de sécurité équivalent généralement à une mort de l'individu).

Les balises ont été accrochées lors de plongées sur des sites repérés grâce aux détections par barcoding et à des indications de pêcheurs locaux. Lorsqu'un individu est découvert au fond, un plongeur positionne une sorte de filet rigide par-dessus le requin afin de le maintenir en position (Figure 10), puis le dispositif qui tient la balise et associé à une fléchette est inséré en-dessous de la nageoire dorsale.



Figure 10 : Pose in situ d'un X-Tag sur un *Squatina squatina*. © Requin-ange de mer commun, ©Laurent Ballesta, Solenzara 2021.

Les balises posées en 2021 ont été récupérées à l'aide d'un goniomètre après leur décrochage rapide et ont été renvoyées au constructeur avec deux autres balises afin de changer les batteries et les reprogrammer pour un décrochage après 10 mois de pose sans aucun seuil de sécurité en lien avec la profondeur. Ces balises ont de nouveau été fixées le 6 avril 2022 sur 1 femelle et 1 mâle au large de Solenzara et le 14 avril sur deux mâles au large de Bastia.

Les données de localisation, température et profondeur récupérées après décrochage des balises ont été traitées comme suit afin de mieux comprendre les déplacements des individus marqués.

Tout d'abord, une carte des localisations des différents points d'émission a été faite.

Ensuite, les journées ont été séparées en quatre tranches horaires (Tableau 2) en fonction des saisons.

Tableau 5: Intervalles d'heure en fonction du mois

	Avril, Mai, Septembre, Octobre	Juin, Juillet, Août
Aube	De 5h00 à 7h00	De 4h00 à 6h00
Jour	De 7h00 à 19h00	De 6h00 à 21h00
Crépuscule	De 19h00 à 21h00	De 21h00 à 23h00
Nuit	De 21h à 5h00	De 23h 00 à 4h00

Des tests non paramétriques ont été réalisés afin de savoir si les profondeurs et les températures enregistrées par les balises sont significativement expliquées ou non par les intervalles d'heures.

Afin de comparer les données de températures enregistrées par la balise et les données environnementales, les données de températures sur la côte orientale Corse enregistrées par le réseau de surveillance CALOR (sur MEDTRIX) et les modèles satellites ([GHRST Level 4](#), [MUR Global Foundation Sea Surface Temperature Analysis](#)) ont été récupérées.

Ainsi, par date et heure sont assignées :

- la moyenne des températures *in situ* du réseau CALOR en région Corse,
- la moyenne des températures de surface des modèles satellites et,
- la température enregistrée par la balise attachée à l'ange de mer.

Un test de corrélation a également été fait entre les profondeurs et les températures enregistrées par la balise lors des déplacements de l'individu marqué.

Résultats

I. Cartographie des biocénoses marines

Les résultats de l'actualisation des biocénoses marines seront publiés sur MEDTRIX durant l'été 2024. Les résultats en lien avec notre zone d'intérêt ont directement été utilisés au printemps 2021 dans le cadre du projet ANGE.

Au total, 25 500 hectares de surface ont été cartographiés lors de la mission terrain de 2021. La mise à jour des biocénoses est illustrée en figure Figure 34. Les traces de chaluts sont principalement présentes le long de la côte est de Bastia à Taverna et au large de Macinaggio.

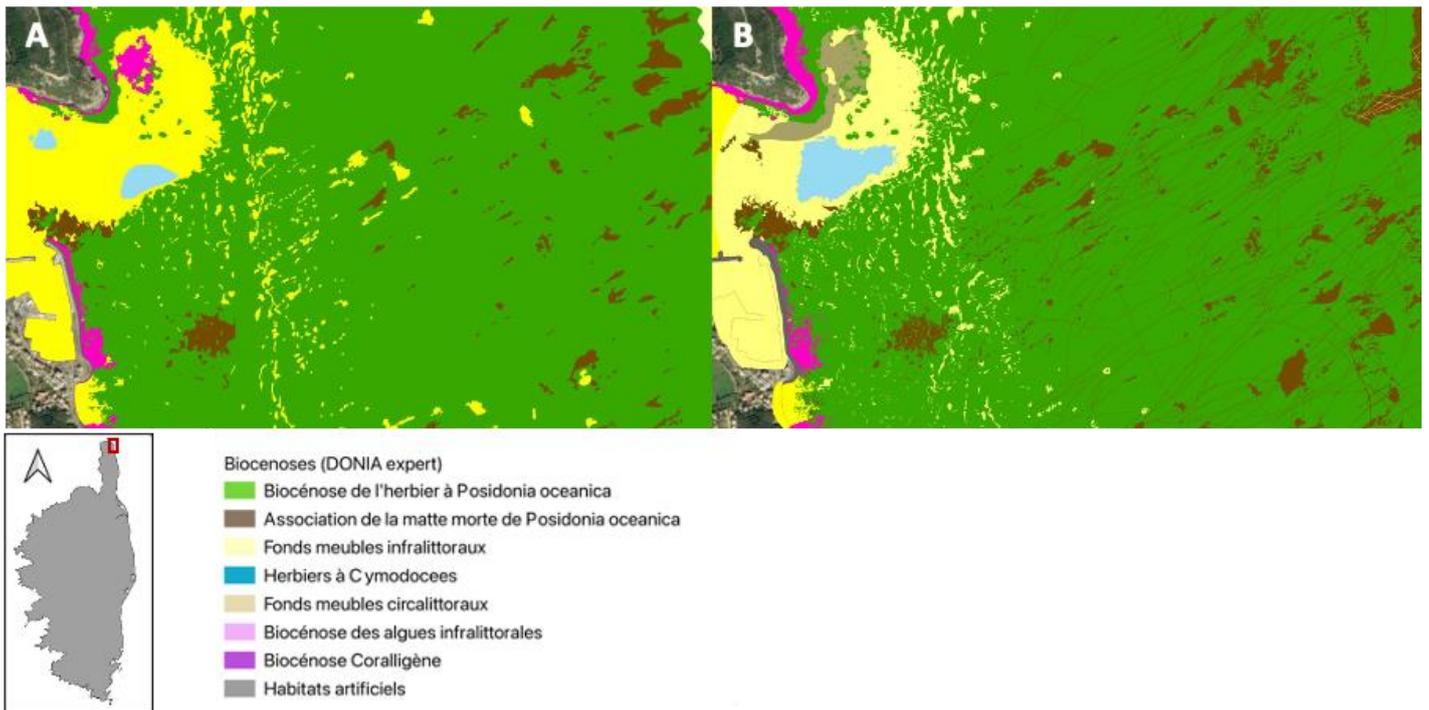


Figure 11 : Exemple de mise à jour des biocénoses après traitement des données sonar acquises en 2021 au large de Macinaggio. A) ancienne cartographie (2017), B) mise à jour de la cartographie.

II. Analyse de la distribution de l'ange de mer commun à partir de l'ADN environnemental

II.A. Carte de distribution de l'ange de mer commun (*Squatina squatina*) sur la zone Agriate - Cap Corse – côte orientale par barcoding

Après analyse des extractions d'ADNe, **7 tronçons sur 76** (i.e. 190 km échantillonné au total) **ont été testés positifs à la présence d'ADN de *Squatina squatina*** (Figure 12). Six d'entre eux sont le long de la côte orientale : T_38 au large de Bastia, T_44 et T_45 au large de l'embouchure du Golo, T_50 au sud de ce dernier, T_66 entre l'étang del Salé et l'étang d'Urbino et T_73 au sud de l'étang de Palo. **Le septième tronçon positif est dans le Parc Naturel Marin du Cap Corse et de l'Agriate (PNMCCA)**. Ce dernier résultat est assez inattendu, puisqu'à notre connaissance, aucune observation de l'espèce n'avait été faite dans cette zone. De manière générale c'est également **la première fois que l'espèce *Squatina squatina* est détectée à partir d'ADNe**. Les résultats font l'objet de la publication de Faure et al. (2023).

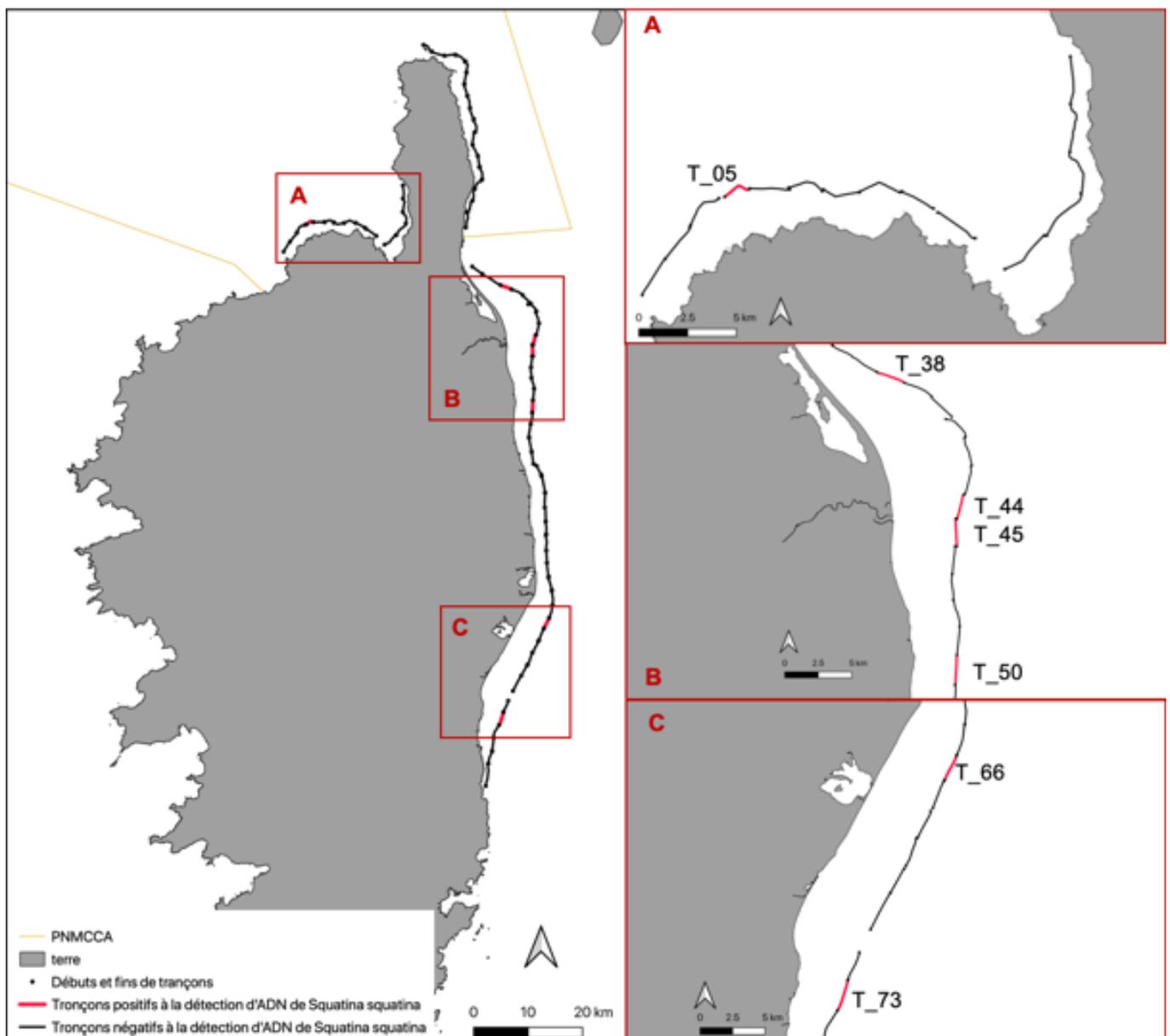


Figure 12 : Carte représentant les tronçons positifs (en rouge) ou non (en noir) à la détection de l'ADN de *Squatina squatina*.

II.B. Carte de distribution de l'ange de mer commun (*Squatina squatina*) en tout autour de la Corse par barcoding et metabarcoding.

La compilation des deux méthodes de détection, barcoding et metabarcoding, montre une présence de l'ange de mer commun (*Squatina squatina*) dans **12 tronçons sur les 156, soit 7,7 % des transects et 6,4 % (35 km) des 551 km échantillonnés** (Figure 13).

Par barcoding, deux tronçons effectués en 2023 ont été testés positifs à la détection d'ADN de *Squatina squatina*. Le premier tronçons nommé « PIAF_50 » se situe au large de la plage de Cupabia et le deuxième nommé « PIAF_53 » se trouve au large de Propriano. A notre connaissance, **c'est la première fois que la présence d'ange de mer commun est décrite sur la côte sud-ouest de la Corse**. Aucun témoignage de pêcheur allant dans le sens de cette découverte n'a été recensé sur cette partie de la Corse.

A ces 9 tronçons s'ajoutent les 4 tronçons positifs à la détection d'ADN de *Squatina squatina* **par metabarcoding**. **Au large de l'embouchure du Golo s'ajoutent le T_46** (à la suite des T_44 et T_45). De plus le **T_44 déjà positif en barcoding** confirme la présence de l'espèce ciblée en metabarcoding.

Dans le PNMCCA une nouvelle détection sur la côte est du cap Corse (T_27) confirme la présence de l'ange de mer commun dans le PNMCCA et encourage à l'étude et la préservation de cette espèce dans cette zone.

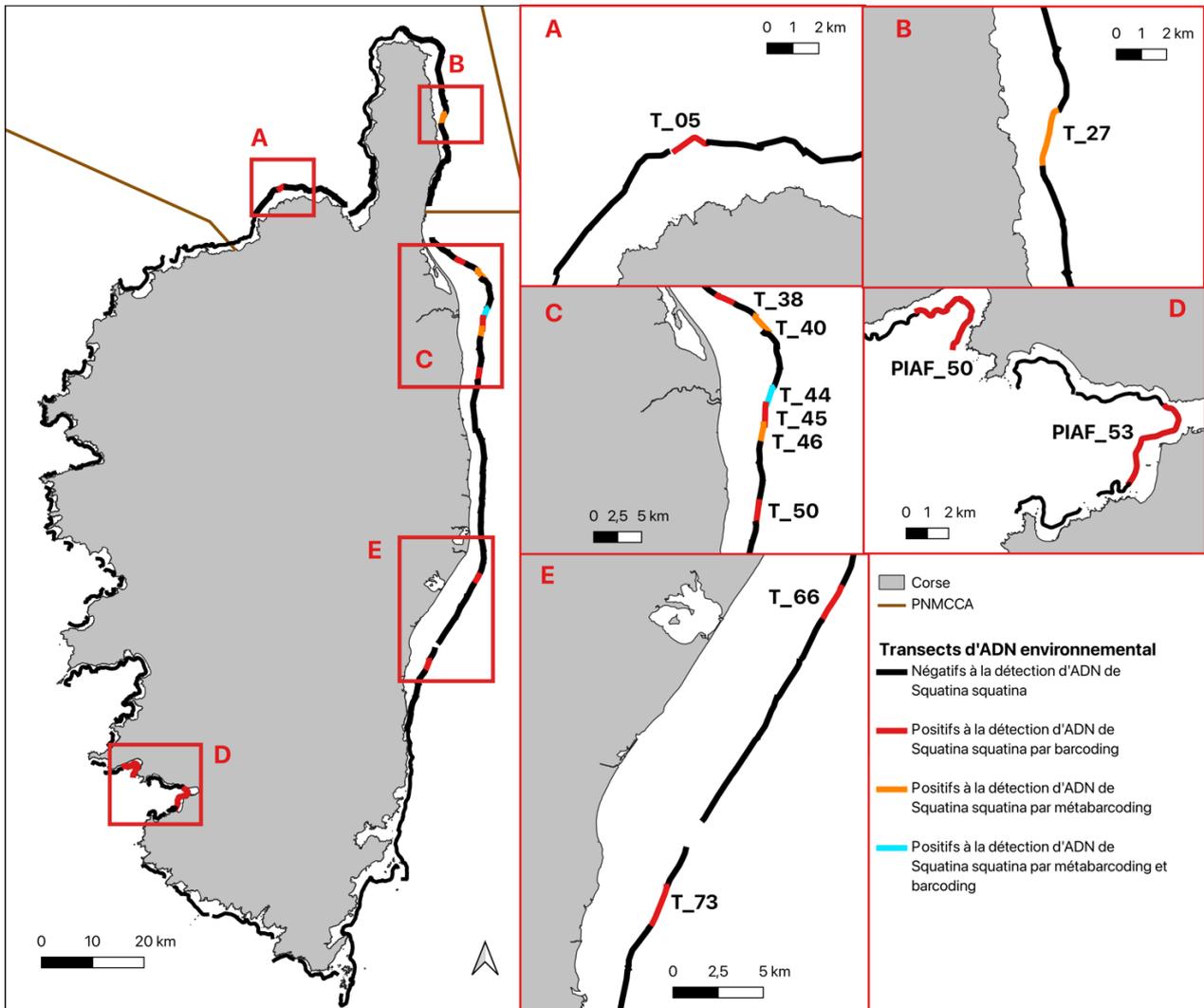


Figure 13 : Carte représentant l'aire de répartition globale de l'ange de mer commun (*Squatina squatina*) en Corse suite aux campagnes d'échantillonnage de 2021 (ANGE) et 2023 (PIAF). Les tronçons positifs à la détection d'ADN d'ange de mer commun par barcoding sont représentés en rouge, par metabarcoding en orange et par les deux méthodes en bleu. Les tronçons négatifs à cette détection sont représentés en noir.

II.C. Analyse des espèces de poissons associées aux tronçons positifs à la présence de *Squatina squatina*.

Les résultats des différents indicateurs de biodiversité pour chaque tronçon positif sont répertoriés dans le tableau ci-dessous. La liste totale des espèces et par tronçon est disponible en ANNEXE 8.

Tableau 6 : Indicateurs de biodiversité calculés à partir des inventaires par ADN pour chaque tronçon positif à la présence d'ADN du requin-ange de mer commun (*Squatina squatina*). Les indicateurs calculés sont la richesse spécifique (R), la diversité fonctionnelle (FD), le Large Reef Index (LFI), le ratio d'espèces benthique (DP_B_ratio), l'indicateur thermique des poissons (CTI), le nombre d'espèces exotiques (Exo), la somme pondérée des espèces figurant sur la liste rouge (RedList), le nombre d'espèces de raies et de requins (Chondri), le niveau trophique moyen (Trophic), le nombre d'espèces avec un intérêt commercial (Commercial), le nombre d'espèce à fort intérêt commercial (High_commerc), la diversité phylogénétique (PD) et la moyenne de toutes des espèces sensibles à l'exploitation (Vulner).

Tronçons	R	FD	LFI	Crypto	DP_B_ratio	CTI	Exo	RedList	Chondri	Trophic	Commercial	High_commerc	PD	Vulner
T05	17	8	11	4	1,125	19,28	0	0	1	3,425	12	1	7,73	31,92
T27	18	7	14	0	0,875	19,32	0	9	6	3,71	12	4	5,54	49,91
T38	11	7	11	0	1,4	19,07	0	3	1	3,25	10	4	5,56	41,85
T40	21	8	13	3	0,55	18,66	0	6	2	3,49	14	4	8,75	33,45
T44	20	9	14	3	0,67	19,06	0	8	4	3,53	12	3	7,93	37,87
T45	14	9	11	1	0,56	18,19	0	4	2	3,49	7	3	7,91	37,87
T46	17	8	11	2	1	18,06	0	6	3	3,56	10	0	5,22	26,96
T50	15	6	13	1	0,875	19,25	0	2	2	3,53	13	4	6,85	39,59
T66	13	6	11	2	0,75	20,14	0	3	2	3,5	10	2	5,93	39,58
T73	8	4	7	1	0,5	18,02	0	0	0	3,35	8	3	3,34	46,96
PIAF_50	41	11	22	11	0,65	18,65	1	2	1	3,47	28	4	15,89	30,04
PIAF_53	40	11	28	4	1,18	18,76	1	2	3	3,57	29	5	16,88	41,94

Ci-dessous les éléments remarquables :

- **Richesse spécifique (R)** : le nombre d'espèces de poissons (osseux et cartilagineux) est compris entre 8 et 41. Le tronçon ayant la plus grande richesse spécifique est situé au large de la plage de Cupabia.
- **RedList** : La somme pondérée la plus importante des statuts de conservation des espèces présentes est de 9. Ce score correspond au tronçon au nord-est du cap Corse (T27) dans le PNMCCA. Parmi les espèces figurant sur liste rouge UICN détectées sur ce tronçon se trouvent l'ange de mer commun (*Squatina squatina*) et la raie aigle (*Myliobatis aquila*) toutes deux en danger critique d'extinction (CR), l'émissole lisse (*Mustelus mustelus*) en danger d'extinction (EN) et pour finir la raie torpille marbrée (*Torpedo marmorata*) qui est une espèce vulnérable (VU).

Les scores des autres tronçons varient entre 0 et 8 pour cet indicateur.

- **Chondri** : Le plus grand nombre d'espèces de chondrichthyens (raies et requins) a été détecté sur le tronçon T27, dans le PNMCCA (6 espèces). Les espèces détectées en plus de l'ange de mer commun, tous tronçons confondus sont : la petite roussette (*Scyliorhinus canicula*), l'émissole lisse (*Mustelus mustelus*), le requin de Blainville (*Squalus blainville*), la pastenague (*Dasyatis pastinaca*), la pastenague de Tortonesei (*Dasyatis tortonesei*), la pastenague marbrée (*Dasyatis marmorata*), la raie

vachette (*Aetomylaeus bovinus*), la **raie-capucin** (*Dipturus oxyrinchus*), la **raie aigle** (*Myliobatis aquila*), la **raie blanche** (*Rostroraja alba*), la **raie lisse** (*Raja brachyura*), la **torpille noire** (*Tetronarce nobiliana*) et la **torpille marbrée** (*Torpedo marmorata*).

- **Exo**: Seuls les tronçons au sud-ouest de la Corse (PIAF_50 et PIAF_53) ont une espèce exotique de détectée. Cette espèce est la **grande cicерelle** (*Gymnammodytes semisquamatus*) qui a pour répartition géographique d'origine la **mer du Nord et les côtes atlantiques françaises et espagnoles**. La grande cicерelle a été décrite pour la première fois en Méditerranée par Golani *et al.* en 2002.

Il est difficile d'interpréter ces indicateurs sans état de référence ou de comparaison. Sur la plateforme MEDTRIX, il est possible de prendre comme échelle celle de la Méditerranée française pour huit de ces indicateurs (Figure 14).

Certains scores d'indicateurs pour les 7 tronçons faits en 2021 **sont inférieurs aux scores moyens observés à l'échelle de la Méditerranée française**. Les indicateurs concernés sont : la **richesse spécifique (R)**, l'indice « **Large reef Fish Index** » (LFI), les **espèces crypto-benthiques (Crypto)** et le **nombre d'espèces exotiques (Exo)**. Les tronçons faits en 2023 ont la plupart de leurs indicateurs supérieurs aux moyennes méditerranéennes. Seuls les indicateurs **Crypto** du tronçon « PIAF_53 » et le **ratio d'espèce demerso-pélagique/benthique (DP_B Ratio)** du tronçon « PIAF_50 » **sont inférieures** à ces moyennes.

Seuls deux tronçons (T_05 et T_73) ont un score RedList inférieur à celui de la Méditerranée française.

Il est important de noter que les indicateurs des transects « PIAF_50 » et « PIAF_53 » ont été calculés à partir des deux répliques de filtration sur des tronçons de 5 km, soit un effort d'échantillonnage multiplié par 4.

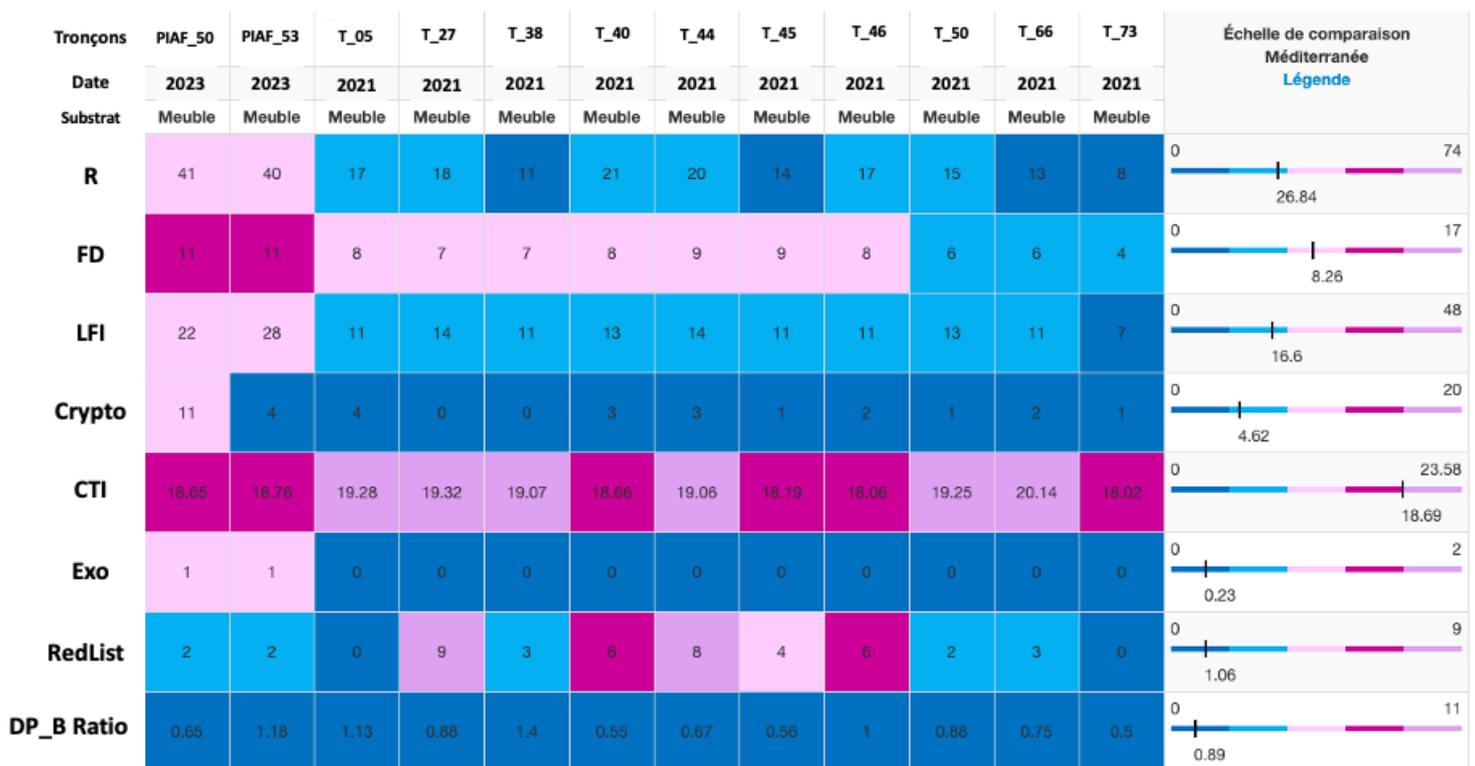


Figure 14 : Comparaison de huit indicateurs de biodiversité calculés à partir des inventaires issus des analyses d'ADNe sur les tronçons positifs à l'ADN de *Squatina squatina* à l'échelle de la Méditerranée française. Résultats extraits du projet PISCIS sur MEDTRIX. Les résultats des tronçons T_xx sont issus de l'inventaire basé sur un filtre tracté du 2,5 km et PIAF_xx sur deux filtres tractés sur 5 km

Les tronçons négatifs ont tous été analysés par metabarcoding pour inventorier les poissons dans le projet PIAF « Poissons des fonds meubles : Inventaire par ADN environnemental » financé par l'Agence de l'eau RMC, OEC

et OFB dans le cadre de l'appel à projets sur la biodiversité et les fonctionnalités écologiques des fonds meubles méditerranéens (0 à 100 m). Une première version des résultats est disponible dans le rapport intermédiaire (Barroil *et al*, 2023), le rapport final étant prévu pour 2024.

II.D. Indicateurs surfaciques associés aux tronçons positifs à la détection de *Squatina squatina*

Les deux indices surfaciques des herbiers de posidonie (*i.e.* indice de cohésion et indice de déclin) ont été calculés jusqu'à 500 m de part et d'autre de chaque tronçon d'ADN environnemental.

Pour rappel, ces indicateurs ont un intervalle de 0 à 100. Pour l'indice de cohésion, plus il s'approche de 100 plus l'herbier est en bonne santé, il croît. Pour l'indice de régression c'est l'inverse : plus il s'approche de 100 plus l'herbier est en mauvaise santé, la superficie de l'herbier décroît.

Ces indices surfaciques ont été séparés en trois catégories différentes selon différents intervalles de scores représentés dans le tableau ci-dessous :

	Faible	Moyen	Fort
Indice de cohésion	(32,4 : 52,5]	(52,5 : 72,6]	(72,6 : 92,7]
Indice de déclin	(0,9 : 33,3]	(33,3 : 66,5]	(66,5 : 99,9]

Il n'y a pas de différence significative ($p = 0,2$) pour l'indice de cohésion entre les tronçons positifs ($N = 12$) et négatifs ($N = 14,1$) à la détection d'ADN de *Squatina squatina* (Figure 15B). Cependant les moyennes de l'indice de déclin sont significativement supérieures ($p = 0,01$) sur les tronçons positifs (Figure 16B).

Les tronçons positifs semblent donc associés à un herbier en bonne santé puisque la majorité d'entre eux ont un faible indice de déclin et un fort indice de cohésion.

Il est important de noter qu'il y a 8 tronçons négatifs avec un fort indice de cohésion contre 2 positifs. De plus il y a 118 tronçons négatif avec un faible indice de déclin contre 6 tronçons positifs.

Les tronçons présents dans le PNMCCA (du tronçon 1 à 34) ont un indice de cohésion moyen de 78 contre 72,6 hors PNMCCA et un indice de déclin de 4 contre 45,8 hors PNMCCA. **Ce qui montre que l'herbier dans le PNMCCA est en bonne santé avec un fort indice de cohésion et un faible indice de déclin.**

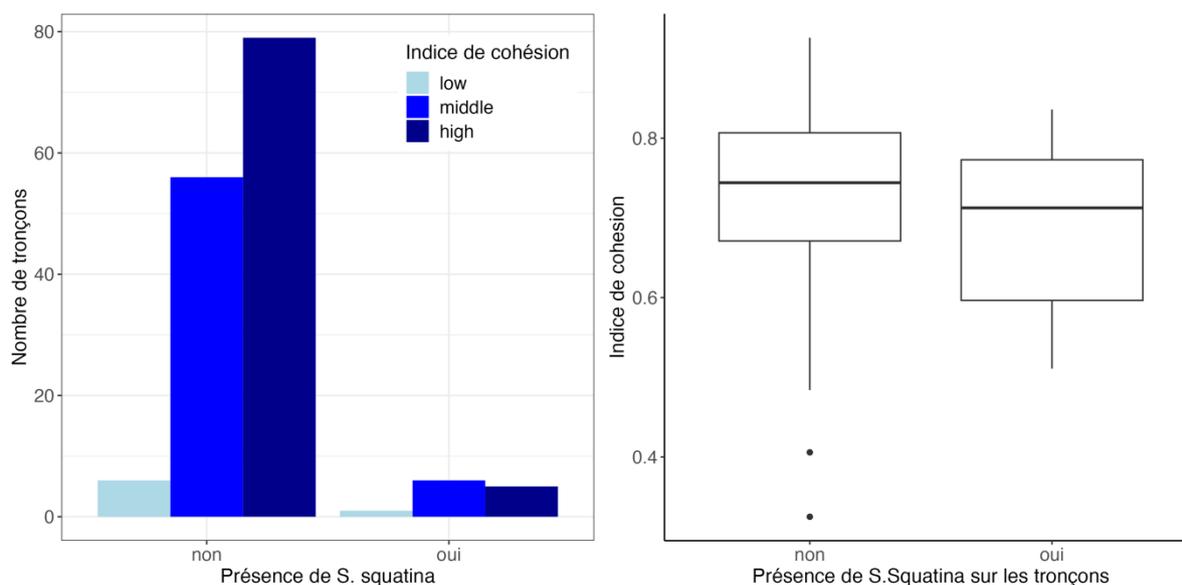


Figure 15 : Nombre de tronçons en fonction de la présence ou non de *Squatina squatina* selon l'indice de de cohésion de l'herbier de posidonie représenté en barplot (A) et en boxplot (B). La barre noire horizontale dans les boxplot représente la médiane.

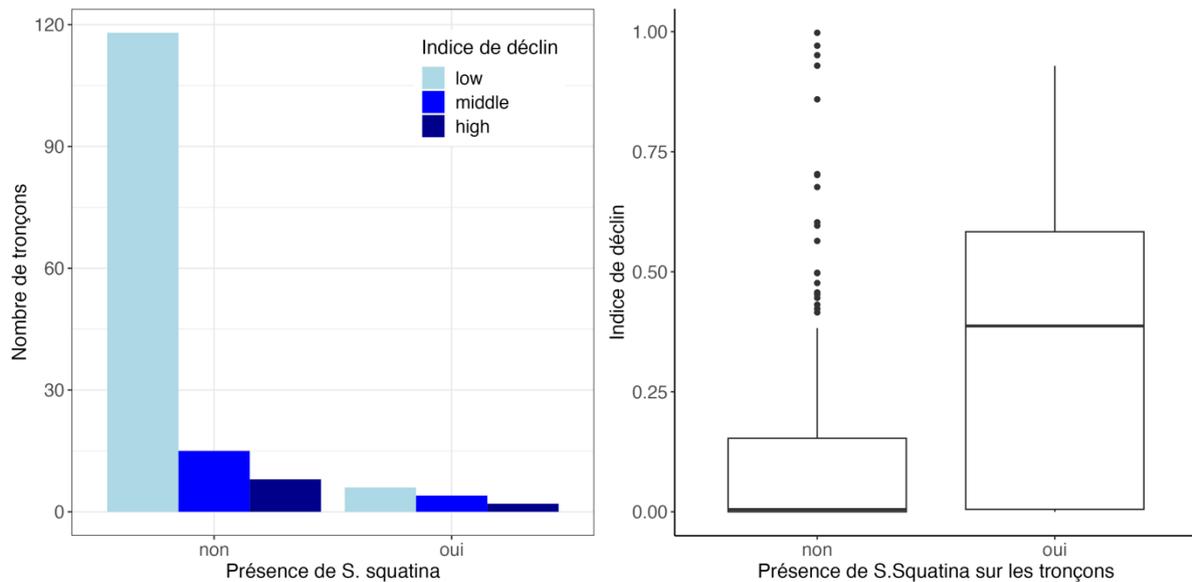


Figure 16 : Nombre de tronçons en fonction de la présence ou non de *Squatina squatina* selon l'indice de déclin de l'herbier de posidonie représenté en barplot (A) et en boxplot (B). La barre noire horizontale dans les boxplot représente la médiane.

III. Analyse écologique des habitats fréquentés et espèces associées à *Squatina squatina* sur les neuf sites de suivi écologique

III.A. Évaluation écologique des habitats

De manière générale les **neuf sites de suivi écologique sont en bonne santé**, les indicateurs BiPo et les indicateurs surfaciques ont de bons scores. Les sites en substrat meuble ont tous comme nature du fond du **détritique côtier à sable grossier** avec des présences de **rodolithes** et **aucune pression anthropique** n'a été recensée. Cependant, des **traces de chalut et de mouillage** ont pu être observé sur un site en limite inférieure (T38_LimInf) et sur un site en profondeur intermédiaire (Agriates_15m).

III.A.1. Évaluation écologique des sites en profondeur intermédiaire et en limite inférieure d'herbier de posidonie

Au même titre que les indicateurs surfaciques calculés autour des tronçons d'ADNe, les indicateurs surfaciques pour les sites de suivi écologique ont été calculés sur un périmètre de 500 m tout autour des sites et classés parmi les es catégories « Faible », « Moyen » et « Fort » (voir II.B.3). Le tableau ci-dessous synthétise ces valeurs ainsi que celles du BiPo calculé en limite intermédiaire.

Les indices surfaciques reflètent de manière générale que les herbiers en profondeur intermédiaire (PI) sont en bonne santé avec un indice de cohésion élevé et un faible indice de régression. Deux des sites en PI ont un bon état écologique d'après la valeur de l'indice BiPo (Tableau 7).

Le site Agriates_LI a une limite inférieure d'herbier sans régression (indice de régression de 0 %). Tandis que les deux autres sites en limites inférieures d'herbier ont un indice de régression Moyen (*i.e.* de 48,7 % et de 33,6 %).

Ces résultats sont cohérents avec les observations faites en plongée et sur la cartographie. En effet, des traces de chaluts dans l'herbier sont présentes sur ces derniers sites ce qui accentue l'érosion dans l'herbier et accélère la détérioration de ce dernier.

Tableau 7 : Valeurs et catégories des indices de cohésion, de régression (dans un cercle de 500 m autour des sites) et du BiPo pour les sites d'herbier en Limite inférieure (LI) et à Profondeur Intermédiaire (PI).

Site	Profondeur	Indice de cohésion (%)	Indice de régression (%)	BiPo (%)
TaverneN_PI	-15 m	FORT 99,619	FAIBLE 0	BON 0,641
Agriates_15m	-15 m	FORT 91,926	FAIBLE 0	BON 0,749
Anghone_PI	-15 m	FORT 85,907	FAIBLE 0	MOYEN 0,457
Agriates_LI	-45 m	FORT 72,626	FAIBLE 0	Non calculé pour les sites en LI
Taverne_LI	-49 m	MOYEN 59,933	MOYEN 48,667	Non calculé pour les sites en LI
T38_LI	-32 m	FORT 73,495	MOYEN 33,612	Non calculé pour les sites en LI

Les Figure 17 et Figure 18 représentent la richesse spécifique (R) de chaque site en fonction des catégories des indices de cohésion et de déclin. D'après ces deux graphiques, « Taverne_LimInf » est le site avec l'herbier en moins bonne santé (i.e. « Moyen » pour l'indice de cohésion et l'indice de déclin). C'est également le site avec la plus petite richesse spécifique (R=11).

Les trois sites en PI ont un herbier de posidonie en bon état de santé (i.e. fort indice de cohésion et faible indice de déclin). La même observation est faite pour « Agriates_LimInf ». Le site « T38_LimInf » a quant à lui un fort indice de cohésion mais un indice de déclin rentrant dans la catégorie « Moyen ».

La richesse spécifique n'est pas significativement expliquée, ni par l'indice de cohésion (p-value = 0,17), ni par l'indice de déclin (p-value = 0,54).

Richesse spécifique en fonction des sites de suivi écologique et de l'indice de cohésion de l'herbier de posidonie.

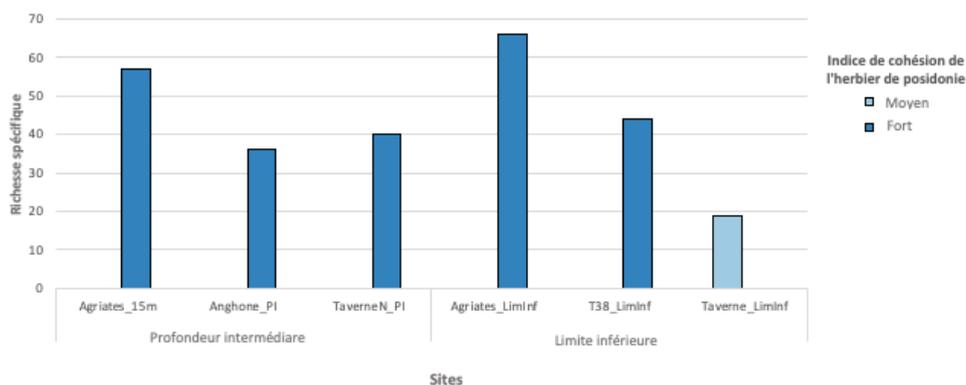


Figure 17 : Richesses spécifiques des sites de suivi écologique en fonction de leur indice de cohésion d'herbier de posidonie (*Posidonia oceanica*). Le dégradé de bleu correspond au plus clair à la catégorie « Moyen » et au plus foncé la catégorie « Fort » de l'indice de cohésion.

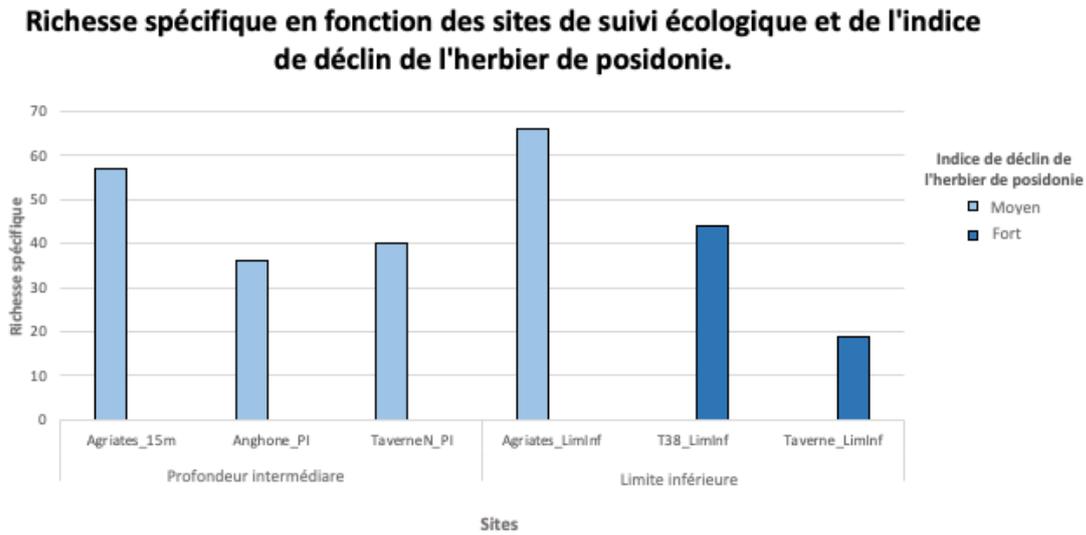


Figure 18 : Richesses spécifiques des sites de suivi écologique en fonction de leur indice de déclin d'herbier de posidonie (*Posidonia oceanica*). Le dégradé de bleu correspond au plus clair à la catégorie « Faible » et au plus foncé la catégorie « Moyen » de l'indice de déclin.

Les plongeurs ont rapporté des observations de dégradations des habitats par des traces de chalutage (site « T38_LimInf ») (Figure 19A) et des traces de mouillages dans l'herbier (site « Agriates_15m ») (Figure 19B).

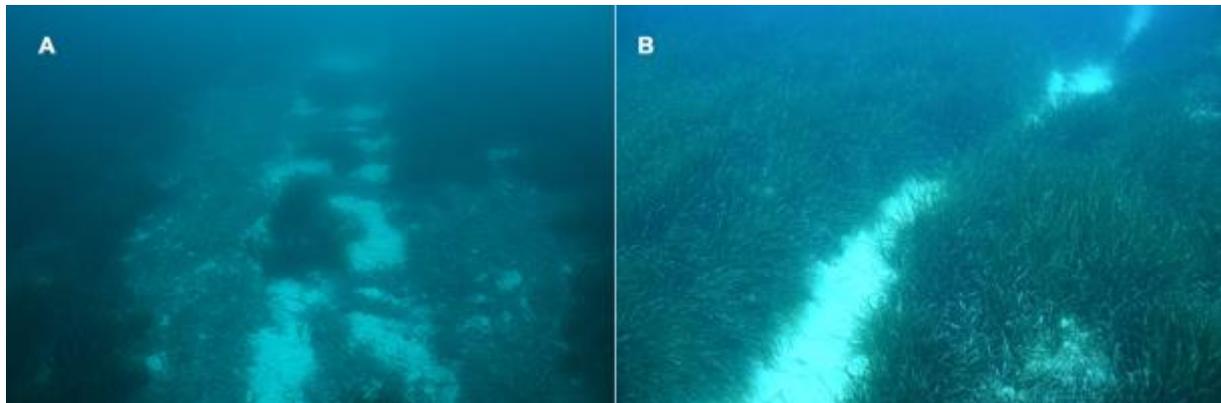


Figure 19 : A) Trace de chalutage en limite inférieure d'herbier sur le site « T38_LimInf ». B) Trace de mouillage dans l'herbier de posidonie en profondeur intermédiaire sur le site « Agriates_15m »

III.A.2. Évaluation écologique des sites en profondeur intermédiaire d'herbier de posidonie

- Agriates 15m

Ce site est à -15 m de profondeur sur un herbier sur roche dense avec quelques taches de sable grossiers. Quelques tombant de matre morte sont visibles (Figure 20). Comme évoqué précédemment, des traces de mouillage sont présentes sur ce site.

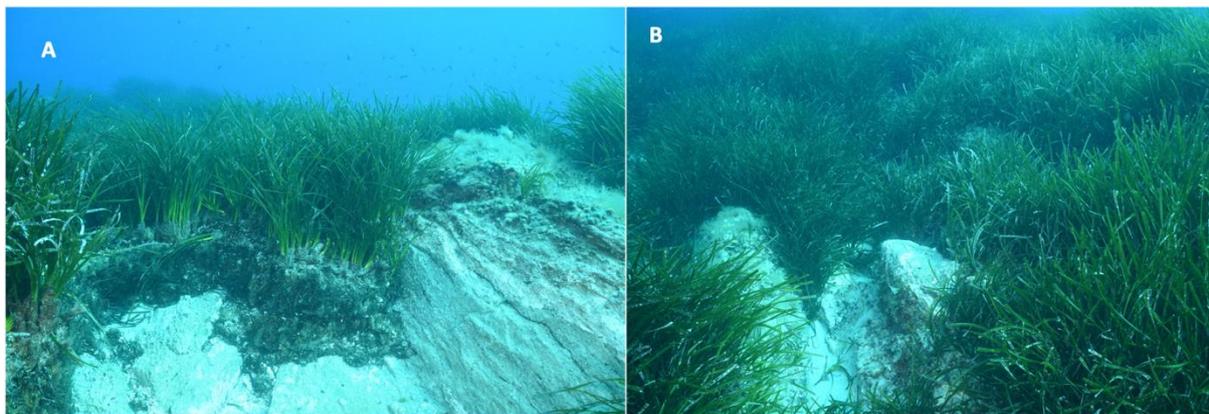


Figure 20 : Photos illustrations du site Agriates_15m. A et B) Herbier de posidonie dense sur roche.

- Anghone PI

Ce site se situe à -15 m dans un herbier dense avec quelques roches (Figure 21A). Les plongeurs y ont vu deux grandes nacres (*Pinna nobilis*) mortes, une seiche commune (*Sepia officinalis*) (Figure 21B), de nombreuses éponges et algues encroûtantes (*Phorbis tenacior*, *Crambe crambe*, *Mesohyllum sp.*).

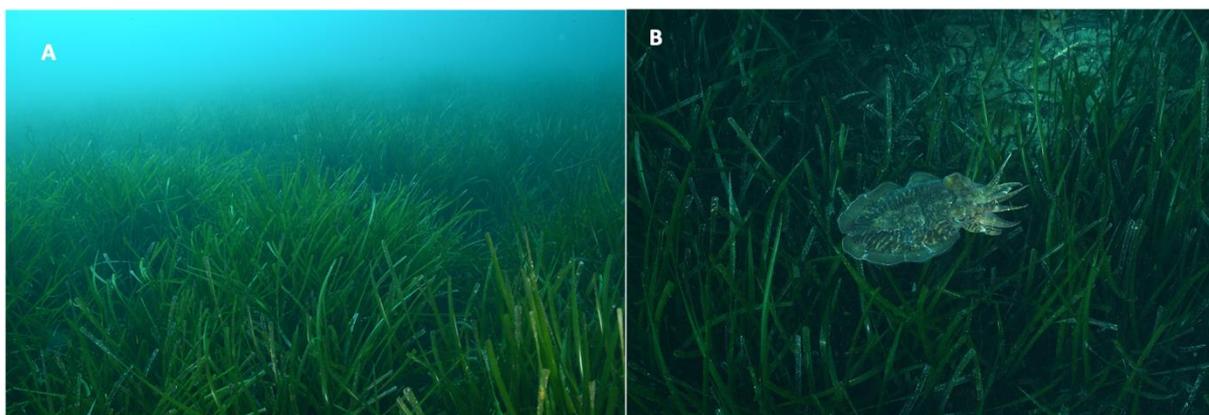


Figure 21 : Photos illustrations du site Anghone_PI. A) Herbier de posidonie dense et B) Seiche (*Sepia officinalis*) dans l'herbier de posidonie.

Aucune pression anthropique ou dégradation quelconque du milieu n'ont été observées sur ce site.

- **TaverneN PI**

Ce site se trouve également à – 15 m de profondeur à proximité d'une grande tache de sable bordée par un tombant de matie (Figure 22A). L'herbier y est plutôt dense. Une grande nacre (*Pinna nobilis*) morte y a été observée. Quelques roches sont présentes dans l'herbier sur lesquelles se sont développées des colonies de Cladocore en touffe (*Cladocora caespitosa*) (Figure 22 B et C). Une présence d'algues filamenteuses à également été noté par les plongeurs (Figure 22 D).

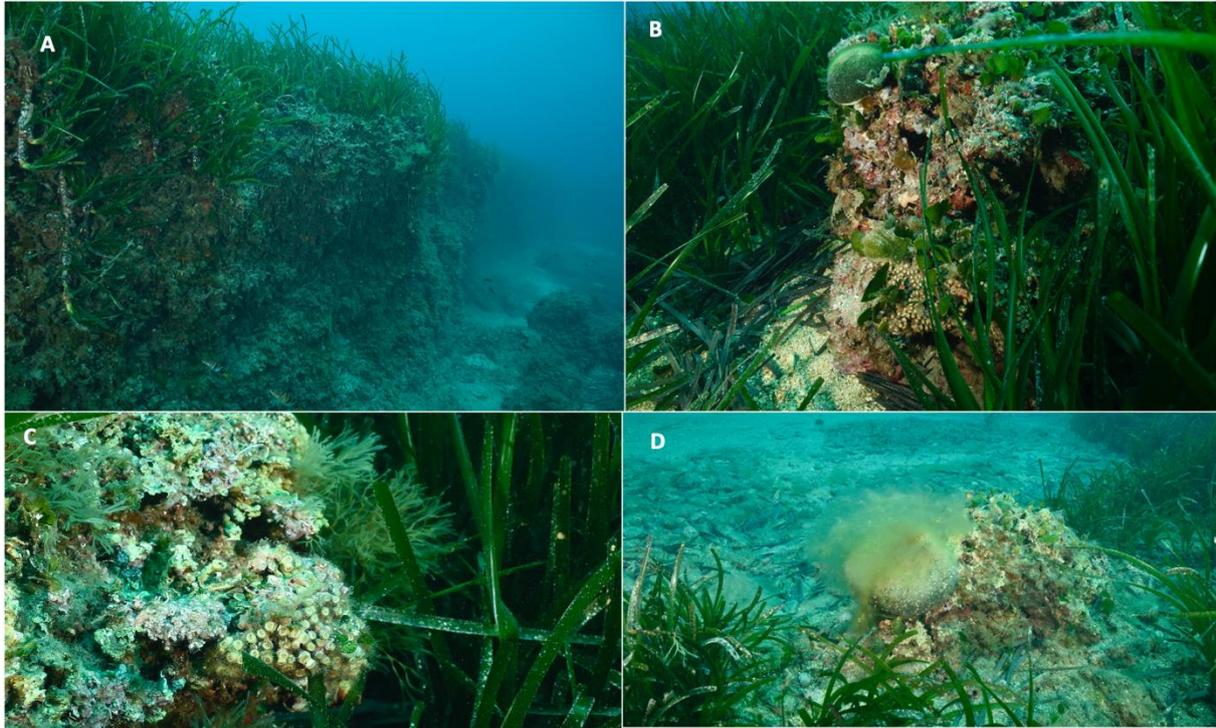


Figure 22 : Photos illustrations du site TaverneN_PI. A) Tombant de matie d'herbier de posidonie, B) Roche dans l'herbier de posidonie, C) Colonie de Cladocore en touffe (*Cladocora caespitosa*) et D) algues filamenteuses.

Aucune pression anthropique n'a été observée sur ce site.

III.A.3. Évaluation écologique des sites en limite inférieure d'herbier de posidonie

- **Agriates LimInf**

Ce site est sur une limite inférieure d'herbier de posidonie à – 37 m de profondeur. C'est une limite franche à fort recouvrement sur du détritique côtier grossier propre et à rodolithes (Figure 23A). La présence de roches et d'algues photophiles ont été observées. Une murène commune (*Muraena helena*) (Figure 23B), des gorgones blanches (*Eunicella singularis*) (Figure 23C), des sars à tête noire (*Diplodus vulgaris*) et un spirographe (*Sabella sp.*) (Figure 23D) ont été observés.

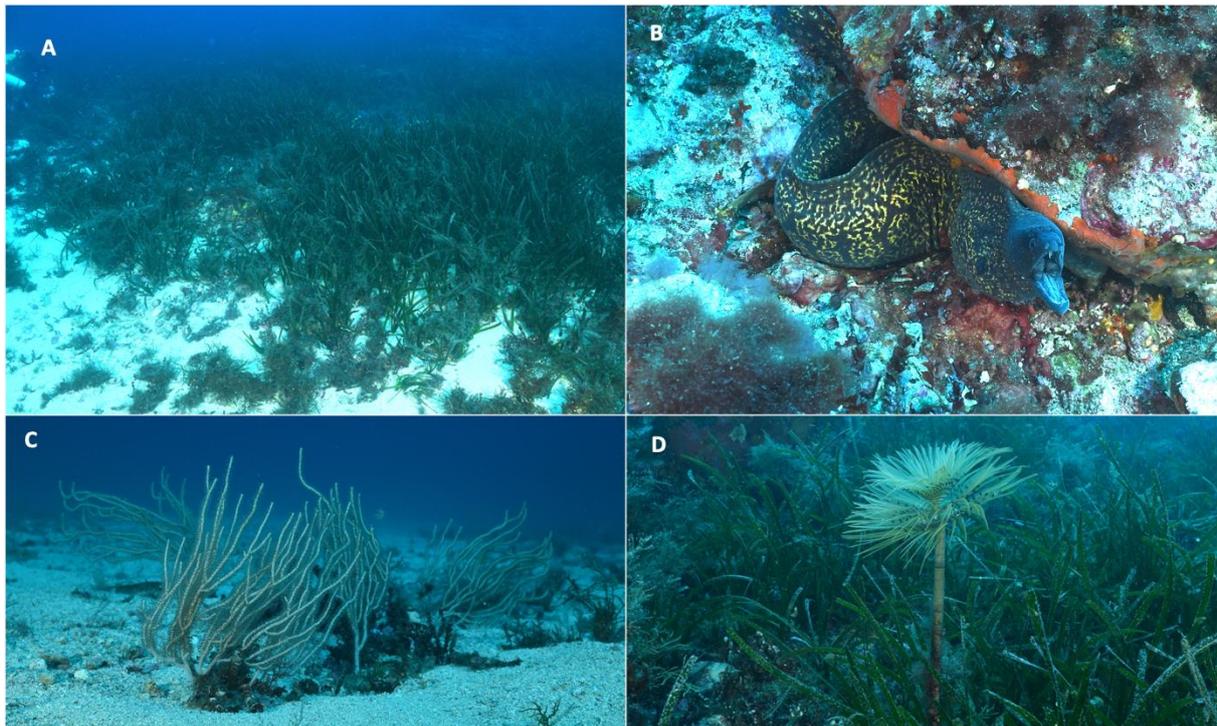


Figure 23 : Photos illustrations du site Agriates_LimInf. A) Limite inférieure franche à fort recouvrement de l'herbier de posidonie, B) Murène commune (*Muraena helena*), C) Gorgone blanche (*Eunicella singularis*), et D) Spirographe (*Sabella* sp.).

Aucune pression anthropique n'a été observée sur ce site.

- **T38_LimInf**

Ce site se situe à - 32 m avec une limite inférieure régressive (Figure 24A). Des traces de chalut sont présentes sur le site (Figure 24B). Les plongeurs ont pu observer une petite rousette (*Scyliorhinus canicula*).

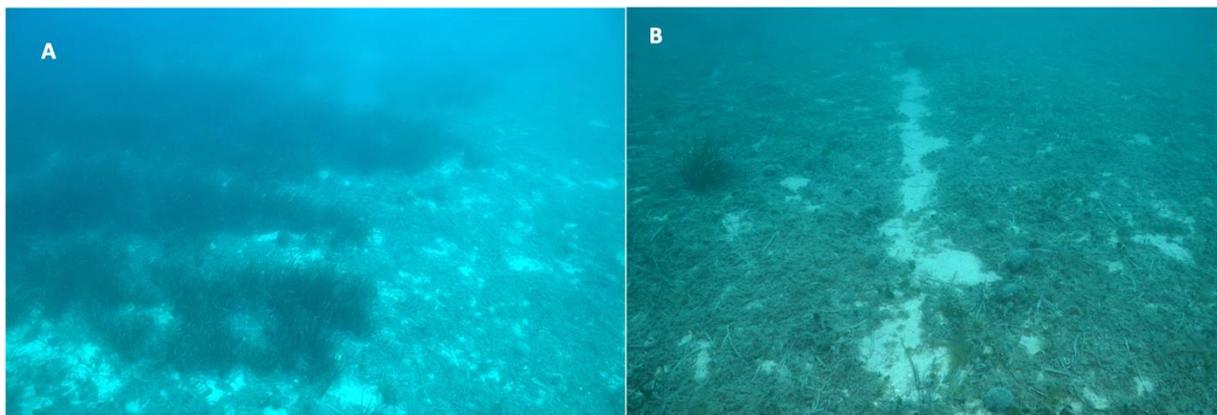


Figure 24 : Photos illustrations du site T38_LimInf. A) Limite inférieure régressive de l'herbier de posidonie, B) trace de chalut

- **Taverne LimInf**

Ce site se trouve à -40 m en limite inférieure clairesemée. Une arène de reproduction de picarels (*Spicara sp.*) était active lors de cette plongée. De nombreuses raies (*Raja sp.*) ont été observées (Figure 25). Le substrat est composé principalement de rodolithes qu'utilisent les picarels pour faire leur nid.

Une publication de type « short note » est en cours de rédaction et sera soumise début 2024 pour présenter ces écosystèmes temporaires qui attirent de nombreux prédateurs dont l'ange de mer commun (*Squatina squatina*).

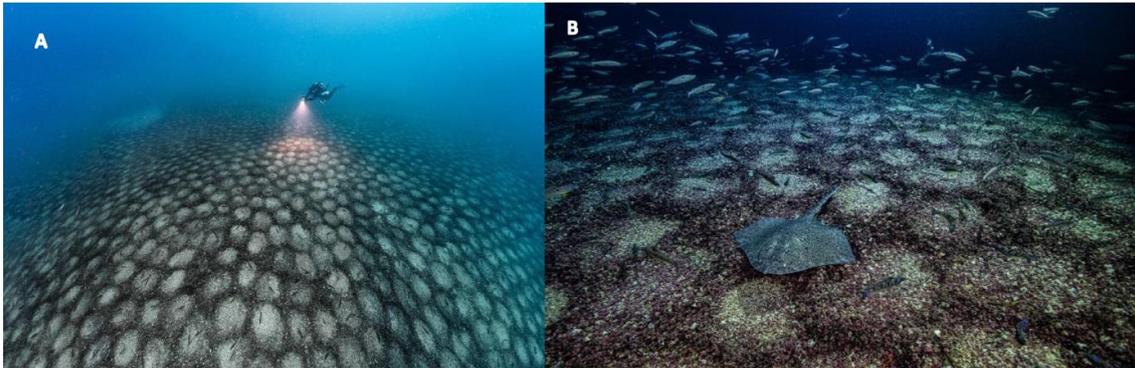


Figure 25 : Photos illustrations du site Taverne_LimInf. A) Nids de picarels (*Spicara sp.*), B) Raie lisse (*Raja brachyura*) sur les nids.

Aucune pression anthropique n'a été observée sur ce site.

III.A.4. Évaluation écologique des sites en substrat meuble

- **Agriates Meuble**

Ce site est à - 44 m de profondeur avec comme substrat du détritique côtier grossier à ripple mark de 50 cm (Figure 26A). Des zones d'accumulation de rodolithes et des algues écouvillons (*Osmundaria volubilis*) dans les ripple marks ont été observés (Figure 26B).

Un poulpe musqué (*Elodone moschata*) (Figure 26C) et une étoile de mer (*Astropecten sp*) (Figure 26D) ont été recensés.

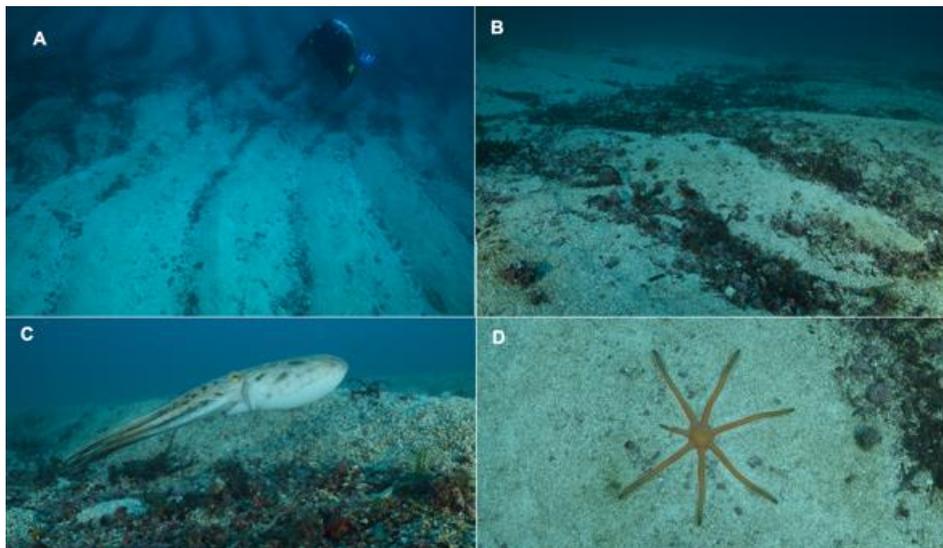


Figure 26 : Photos illustrations du site Agriates_Meuble. A) Ripple marks, B) les accumulations de rodolithes et d'*Osmundaria vubilis* C) un poulpe musqué (*Elodone moschata*), D) étoile de mer (*Astropecten* sp)

Aucune pression anthropique ou dégradation quelconque du milieu n'ont été observées sur ce site.

- **Solenzara_940**

Solenzara_940 est un site à – 50 m de profondeur. La nature du sol est un sable détritique côtier grossier composé de débris coquillers. Un envasement faible a été décrit avec un recouvrement de 50 % de rodolithes sur lesquels des *Osmundaria vobulis* sont fixées (Figure 27A). De la litière de posidonie (*Posidonia oceanica*) est également présente (Figure 27A).

Des oursin-lance rouge (*Stylocidaris affinis*) (Figure 27B), un grand bernard-l'ermite (*Dardanus arrosor*) (Figure 27C), des oursins de vase violet (*Spatangus purpureus*) (Figure 27D), et des ophiures ont été observés.

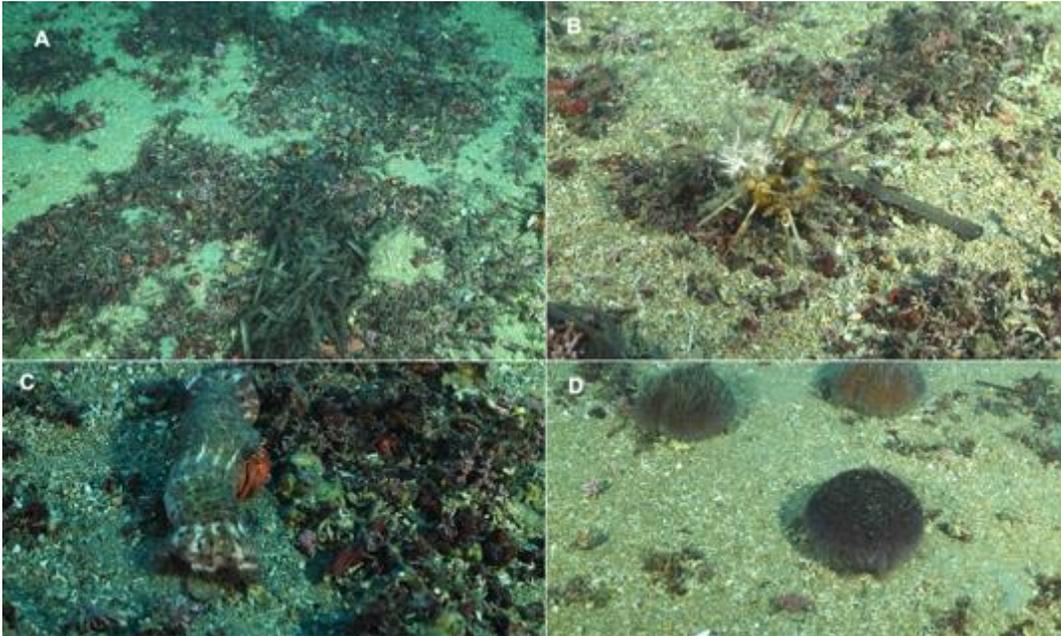


Figure 27 : Photos illustrations du site Solenzara_940. A) rodolithes avec *Osmundaria vubilis* et de la litière de posidonie *Posidonia oceanica*, B) Oursinlance rouge (*Stylocidaris affinis*) C) Grand bernard-l'ermite (*Dardanus arrosor*), D) Oursins de vase violet (*Spatangus purpureus*)

Aucune pression anthropique ou dégradation quelconque du milieu n'ont été observées sur ce site.

- **T46_Meuble**

Le site T46_Meuble est à – 41 m, la nature du fond est un sable détritique côtier avec un faible envasement et une couverture de rodolithe de 50 %. Des *Osmundaria vubilis* (Figure 28A) sont également présentes et fixées sur les rodolithes. Le paysage de ce site est similaire à Solenzara_940 avec des oursins de vase violet (*Spatangus purpureus*) (Figure 28B), des oursins crayon et des ophiures.

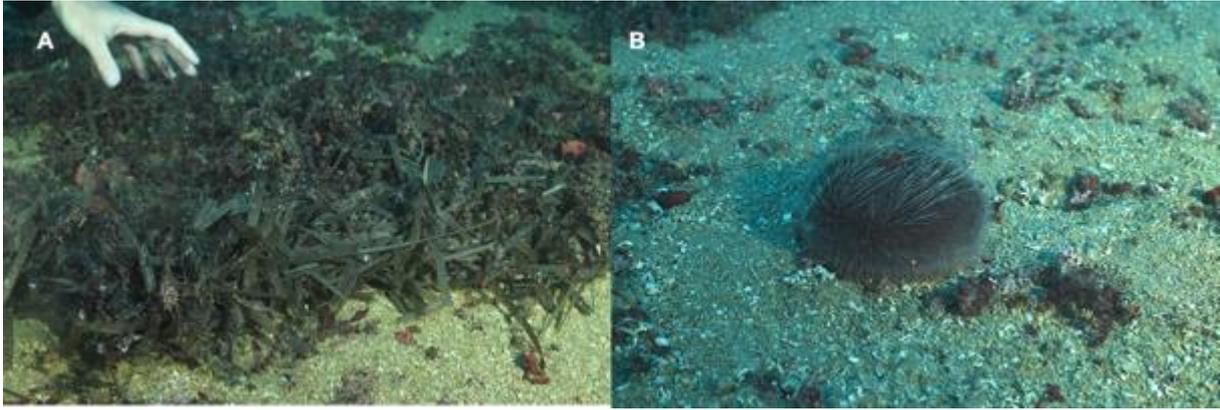


Figure 28 : Photos illustrations du site T46_Meuble. A) rodolithes avec *Osmundaria vubilis* et de la litière de *Posidonia oceanica*, B) Oursin de vase violet (*Spatangus purpureus*)

Aucune pression anthropique ou dégradation quelconque du milieu n'ont été observées sur ce site.

III.B. Inventaire et analyses des espèces associées à *Squatina squatina*

Au même titre que les tronçons positifs à la détection d'ADN de *Squatina squatina*, les indicateurs de biodiversité (voir o) ont été calculés pour les neuf sites de suivi écologique. Ces indicateurs ont été calculés avec :

- L'inventaire des poissons à partir d'ADNe par metabarcoding (Tableau 8A),
- L'inventaire des observations faites grâce aux caméras sur un temps de 5 h (Tableau 8B)
- Toutes les observations confondues (ADNe, Caméras et les observations des plongeurs) (Tableau 8C).

Au regard des courbes d'accumulations d'espèces, un temps de 5 h est suffisant pour inventorier les espèces présentes (ANNEXE 9). La liste des espèces recensées par site grâce à l'ADNe et aux caméras est disponible en ANNEXE 10. Il est à noter que ***Squatina squatina* a été détecté par ADNe metabarcoding seulement sur le site « T46_Meuble ».**

La plus grande richesse spécifique a été détectée par ADNe, elle est de 59 espèces sur le site « Agriates_LI ».

Toutes les richesses spécifiques calculées grâce à l'ADNe sont supérieures à celles calculées grâce aux observations caméras, excepté « Taverne_LI ». Si l'on s'intéresse au nombre de lectures du fragment d'ADN correspondant à chaque espèce, on remarque que l'ADN amplifié sur le site « Taverne_LI » est très majoritairement représenté par *Spicara smaris* qui était présent en très grand nombre sur ce site utilisé comme arènes de reproduction lors de l'étude (Figure 31). Cette très grande concentration d'une espèce, et donc de son ADN, pourrait peut-être « cacher » l'ADN d'autres espèces plus rares.

De plus, il est important de noter que l'indicateur « Crypto » calculé grâce aux observations caméras est de zéro pour tous les sites sauf « Agriates_Meuble » sur lequel un hippocampe (*Hippocampus guttulatus*) a été observé sur les vidéos. En parallèle, ce même indicateur varie de 1 à 19 espèces grâce à l'ADNe. Ces observations reflètent la **complémentarité de ces deux méthodes pour avoir un inventaire ichthyologique le plus exhaustif possible** d'un milieu.

En calculant les indicateurs de biodiversité avec les trois méthodes on obtient des résultats les plus exhaustifs possible (Tableau 8C). Les richesses spécifiques passent d'un intervalle de [9 : 59] à un intervalle de [19 : 66]. **Ceci indique, non seulement la complémentarité des différentes méthodes de suivi, mais également l'avantage de toutes les utiliser pour avoir une plus forte véracité des résultats.**

Les indicateurs de température (CTI) des sites de suivi écologiques pourront être mieux interprétés lorsque les capteurs de température seront récupérés : une comparaison pourra être faite entre la température de l'eau *in*

situ tout au long de l'année et la moyenne des températures optimales des espèces présentes sur les sites (indicateur CTI).

Aucune espèce exotique n'a été recensée quelle que soit la méthode utilisée.

L'indicateur « RedList » donnant la somme pondérée des statuts de conservation des espèces figurant sur la liste de rouge (IUCN) indique que le site « T46_Meuble » contient le plus d'espèces ayant un haut statut de vulnérabilité. Cela peut être dû au fait que c'est l'unique site ayant une détection de *S. squatina*.

Tableau 8 : Indicateurs de biodiversité calculés par les inventaires effectués grâce à l'ADNe (A), aux caméras (B) et avec les deux méthodes précédentes ainsi que des observations faites par les plongeurs (C) pour chaque site de suivi écologique. En vert les sites en profondeur intermédiaire d'herbier de posidonie (15m), en gris les sites en limite inférieure d'herbier et en orange les sites en substrat meuble.

A) Méthode : ADNe														
Sites	R	FD	LFI	Crypto	DP_B_ratio	CTI	Exo	RedList	Chondri	Trophic	Commercial	High_commerc	PD	Vulner
Agriates_15m	46	13	31	11	0,53	19,04	0	6	3	3,50	30	5	14,38	45,37
Agriates_LimInf	59	13	33	19	0,40	18,54	0	6	3	3,51	36	5	20,06	35,24
Agriates_Meuble	37	11	24	9	0,57	19,29	0	4	2	3,65	24	4	13,56	38,89
Anghone_PI	32	9	27	1	0,63	18,92	0	4	3	3,54	23	7	11,14	43,23
Solenzara_940	15	7	10	4	0,50	17,81	0	3	2	3,51	12	3	6,22	24,82
T38_LimInf	38	10	27	7	0,40	18,81	0	5	2	3,51	25	6	14,19	37,63
T46_Meuble	32	11	24	5	0,55	18,59	0	7	5	3,47	23	5	10,82	39,03
TarverneN_PI	31	9	21	6	0,43	19,36	0	3	2	3,49	19	5	10,39	39,34
Taverne_LI	9	6	6	2	0,67	17,76	0	0	0	3,54	8	0	4,51	0

B) Méthode : CAMERA 5h														
Sites	R	FD	LFI	Crypto	DP_B_ratio	CTI	Exo	RedList	Chondri	Trophic	Commercial	High_commerc	PD	Vulner
Agriates_15m	21	5	11	0	0,31	19,56	0	1	0	3,39	13	1	3,83	41,46
Agriates_LimInf	14	4	7	0	0,33	19,14	0	0	0	3,46	8	0	3,72	33,65
Agriates_Meuble	7	6	4	1	1	20,05	0	1	1	3,41	6	0	3,91	55,64
Anghone_PI	11	4	6	0	0,33	18,86	0	0	0	3,44	8	1	3,55	39,91
Solenzara_940	5	3	4	0	1,50	19,12	0	0	0	3,18	4	1	1,89	50,54
T38_LimInf	19	6	13	0	0,31	18,92	0	0	1	3,40	14	2	4,47	43,56
T46_Meuble	14	8	11	0	1,40	19,79	0	4	3	3,80	9	2	4,58	55,64
TarverneN_PI	24	8	17	0	0,41	18,91	0	0	0	3,50	19	2	5,27	42,40
Taverne_LI	10	6	7	0	0,43	18,83	0	0	2	3,57	8	1	4,34	38,53

C) Méthode : ADNe+ CAMERA+ OBSERVATIONS PLONGEURS														
Sites	R	FD	LFI	Crypto	DP_B_ratio	CTI	Exo	RedList	Chondri	Trophic	Commercial	High_commerc	PD	Vulner
Agriates_15m	57	13	33	11	0,49	19,06	0	7	3	3,51	36	5	14,76	45,37
Agriates_LimInf	66	13	35	19	0,42	18,62	0	6	3	3,50	41	5	20,33	35,24
Agriates_Meuble	41	12	25	10	0,67	19,37	0	4	2	3,62	28	4	15,08	38,89
Anghone_PI	36	9	27	1	0,59	18,94	0	4	3	3,53	27	7	11,31	43,23
Solenzara_940	22	8	14	4	0,46	17,84	0	4	3	3,63	16	3	7,35	24,82
T38_LimInf	44	10	28	7	0,44	18,88	0	5	2	3,48	29	6	14,38	37,63
T46_Meuble	40	13	29	5	0,80	18,96	0	8	6	3,56	28	6	12,22	44,65
TarverneN_PI	40	10	26	6	0,50	19,14	0	3	2	3,51	28	5	11,07	39,34
Taverne_LI	19	9	13	2	0,73	18,20	0	0	3	3,57	15	1	7,23	38,53

Il est difficile d'interpréter ces indicateurs sans état de référence ou de comparaison. Sur la plateforme MEDTRIX, il est possible de prendre comme échelle celle de la Méditerranée française pour sept de ces indicateurs (Tableau 9). Pour cette comparaison, les données du Tableau 8 C (i.e. les plus complètes) ont été utilisées.

Parmi tous les sites, seuls les sites « Solenzara_940 », « Taverne_LI » et « Anghone_PI » ont au moins un score des indicateurs suivants inférieurs à ceux de la Méditerranée :

- La Richesse spécifique (R),
- La Diversité Fonctionnelle (FD),
- Le Length Fish Index (LFI),
- Le nombre d'espèces cryptobenthiques (Crypto),
- La somme pondérée des statuts de conservations (RedList)

Le score de l'indicateur Redlist est de 1,31 à l'échelle de la mer Méditerranée. Seul le site « Taverne_LI » a un score RedList inférieur à cette valeur. Les scores élevés des autres sites peuvent être expliqués par la richesse spécifique qui est plus élevée et par le nombre élevé d'espèces à intérêt commerciales (de 15 à 38 espèces, Tableau 8C).

En utilisant comme comparaison la Méditerranée française, on se rend compte que les sites de suivi écologique figurent parmi les meilleurs sites. En effet, les indicateurs R, FD, LFI et Crypto sont de manière générale plus élevées sur les sites de suivi qu'en Méditerranée. Seul les scores de ces quatre indicateurs sur le site « Solenzara_940 » sont inférieurs aux scores de la Méditerranée.

Tableau 9 : Tableau de comparaison de sept indicateurs entre les sites de suivi écologique et la Méditerranée française. Ces valeurs sont calculées à partir de l'ADNe, les observations caméras et les observations des plongeurs. Les indicateurs sont la richesse spécifique (R), la diversité fonctionnelle (FD), le nombre d'espèces dont la taille du corps est supérieure à 20cm (LFI), l'indicateur crypto-benthique (Crypto), l'indicateur thermique des poissons (CTI), le nombre d'espèces exotiques (Exo) et la somme pondérée des espèces figurant sur la liste rouge (RedList). En vert les sites en profondeur intermédiaire d'herbier de posidonie (15m), en gris les sites en limite inférieure d'herbier et en orange les sites en substrat meuble.

Sites	Agriates_15m	Agriates_LimInf	Agriates_Meuble	Anghone_PI	Solenzara_940	T38_LimInf	T46_Meuble	TarverneN_PI	Taverne_LI	Echelle de comparaison Méditerranée
R	57	66	41	36	22	44	40	40	19	
FD	13	13	12	9	8	10	13	10	9	
LFI	33	35	25	27	14	28	29	26	13	
Crypto	11	19	10	1	4	7	5	6	2	
CTI	19,10	18,62	19,37	18,94	17,84	18,88	18,96	19,14	18,20	
Exo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
RedList	7	6	4	4	4	5	8	3	0	

Le diagramme de Venn de la Figure 29 indique le nombre d'espèces associées à chaque site. Il y a 41 espèces associées à tous les types d'habitat (soit 40,2 % du nombre total d'espèces). Seize espèces (15,7 % des espèces) ont uniquement été inventoriées en profondeur intermédiaire d'herbier, quatorze (13,7 % des espèces) pour les sites en limite inférieure d'herbier et six espèces (5,9 % des espèces) sont uniquement associées aux sites en substrat meuble. La richesse spécifique est plus importante en limite inférieure d'herbier (80 espèces). Les profondeurs intermédiaires ont une richesse spécifique de 68 espèces et les fonds meubles 61 espèces.

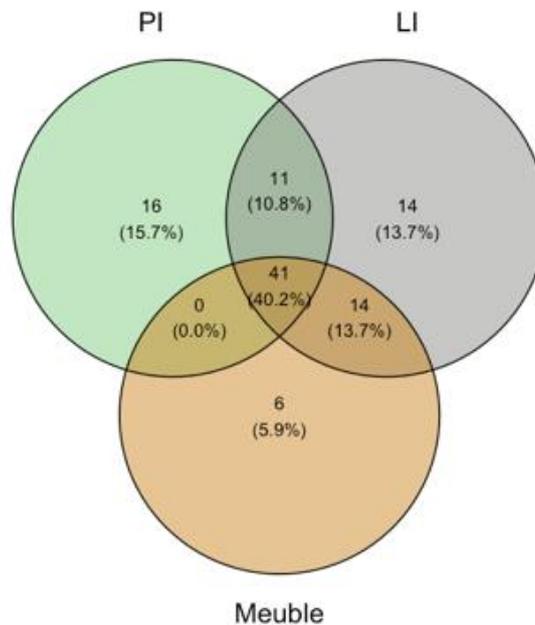


Figure 29 : Diagramme de Venn représentant les espèces rencontrées pour chaque habitat (PI, LI et meuble).

III.C. Analyse de l'abondance des espèces associées à la présence de *Squatina squatina*

Trois habitats (un site de suivi écologique par habitat) ont été traités au regard de l'abondance des espèces. Les trois sites traités sont les suivants :

- « TaverneN_Pi » à -15 m dans l'herbier de posidonie
- « Taverne_LimInf » à -49 m en limite inférieure d'herbier
- « Agriates_Meuble » à -44 m sur un substrat meuble

Ces abondances ont été calculées avec les observations faites grâce aux vidéos des caméras posées. Afin d'avoir le même effort d'échantillonnage, un temps d'acquisition de 5 h a été utilisé.

La richesse spécifique (R) est plus importante sur « TaverneN_15m » (R=33 ; Figure 30) que sur les deux autres sites (« Taverne_LI » : R=11, Figure 31 et « Agriates_Meuble » : R=7, Figure 32).

Le ratio de genres représentés sur le nombre d'espèces est plus important sur le site « Agriates_Meuble » (7 genres différents pour 7 espèces différentes). Ce ratio est de 0,39 pour le site en profondeur intermédiaire (PI) et de 0,82 pour le site en limite inférieure (LI). Les genres sur-représentés sont les genres *Symphodus sp* et *Diplodus sp* pour le site en PI et *Spicara sp* pour le site en LI. Pour rappel le site en LI était une arène de reproduction de *Spicara smaris*, en activité lors du suivi.

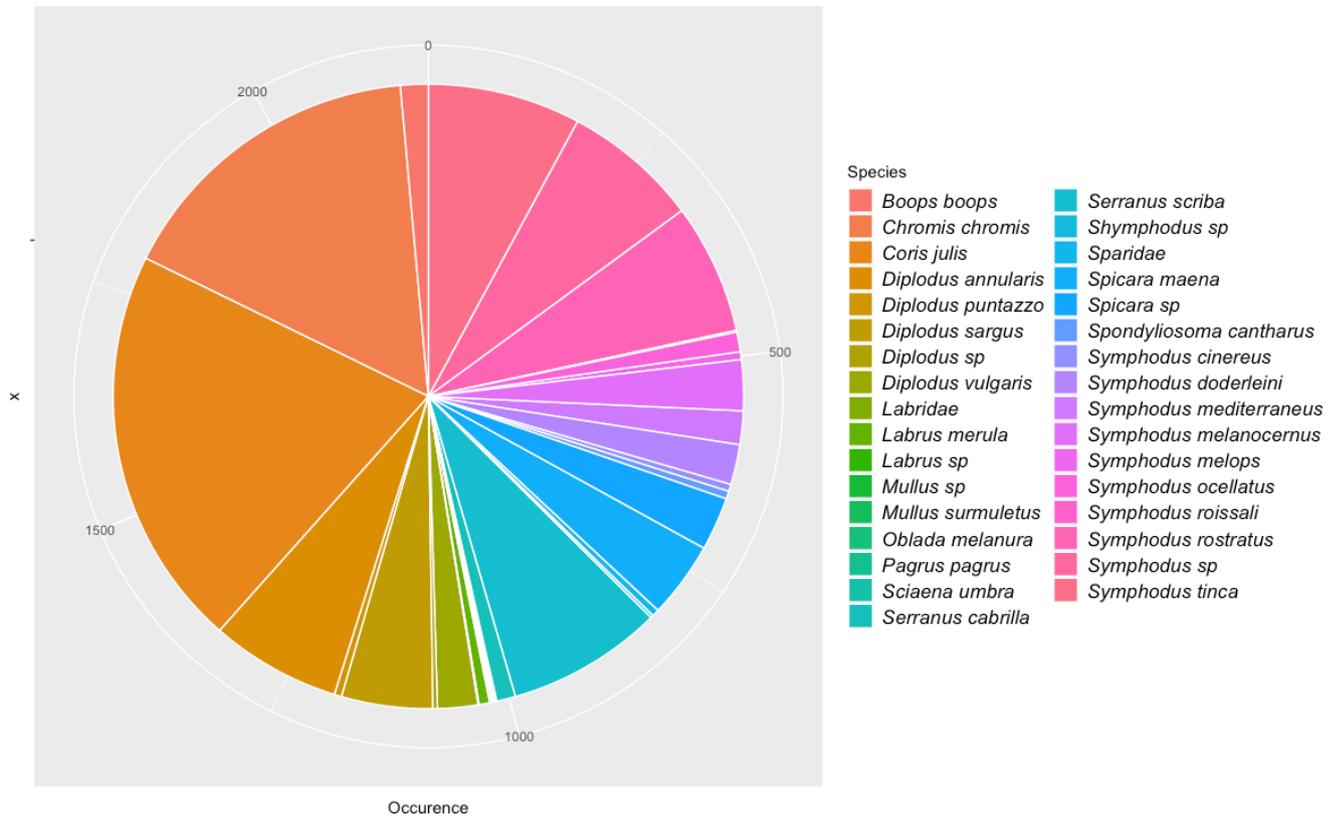


Figure 30 : Abondance en nombre d'observations faites grâce aux caméras posées des différentes espèces sur le site "TaverneN_15m" situé dans l'herbier de posidonie. La richesse spécifique est de 33 pour une acquisition vidéo de 5 heures.

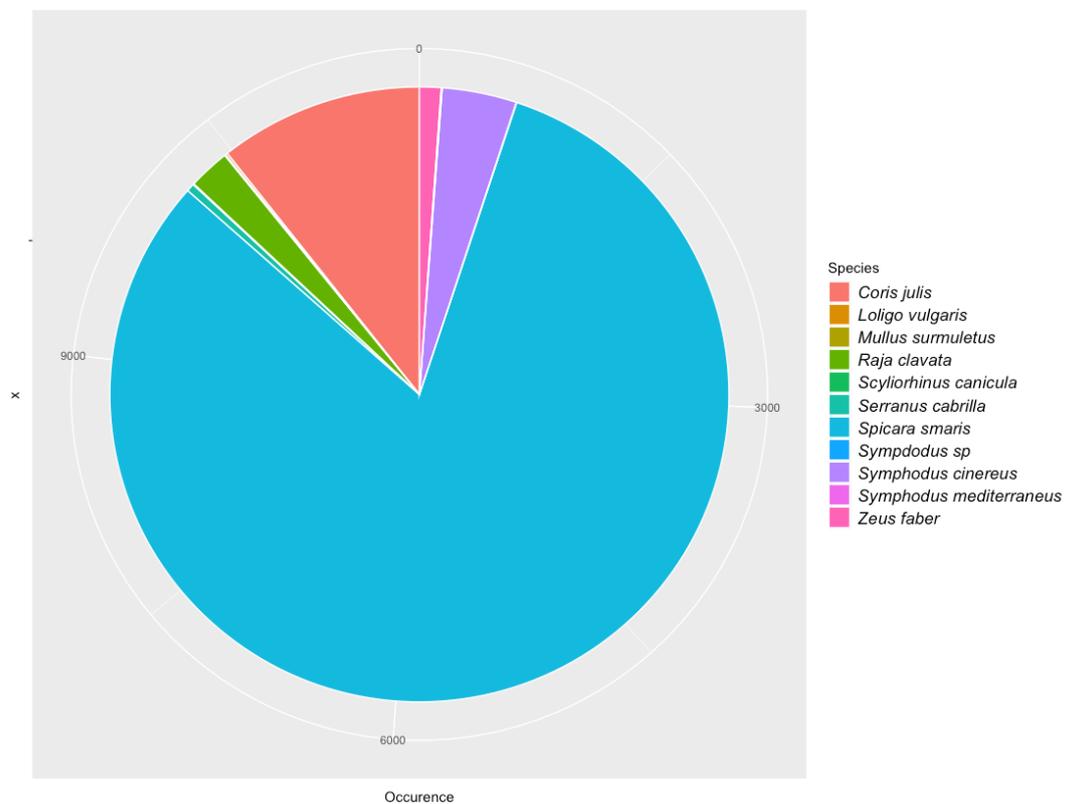


Figure 31 : Abondance en nombre d'observations des différentes espèces faites grâce aux caméras posées sur le site "Taverne_LimInf" situé à 49m sur un substrat meuble. La richesse spécifique est de 10 pour une acquisition vidéo de 5 heures.

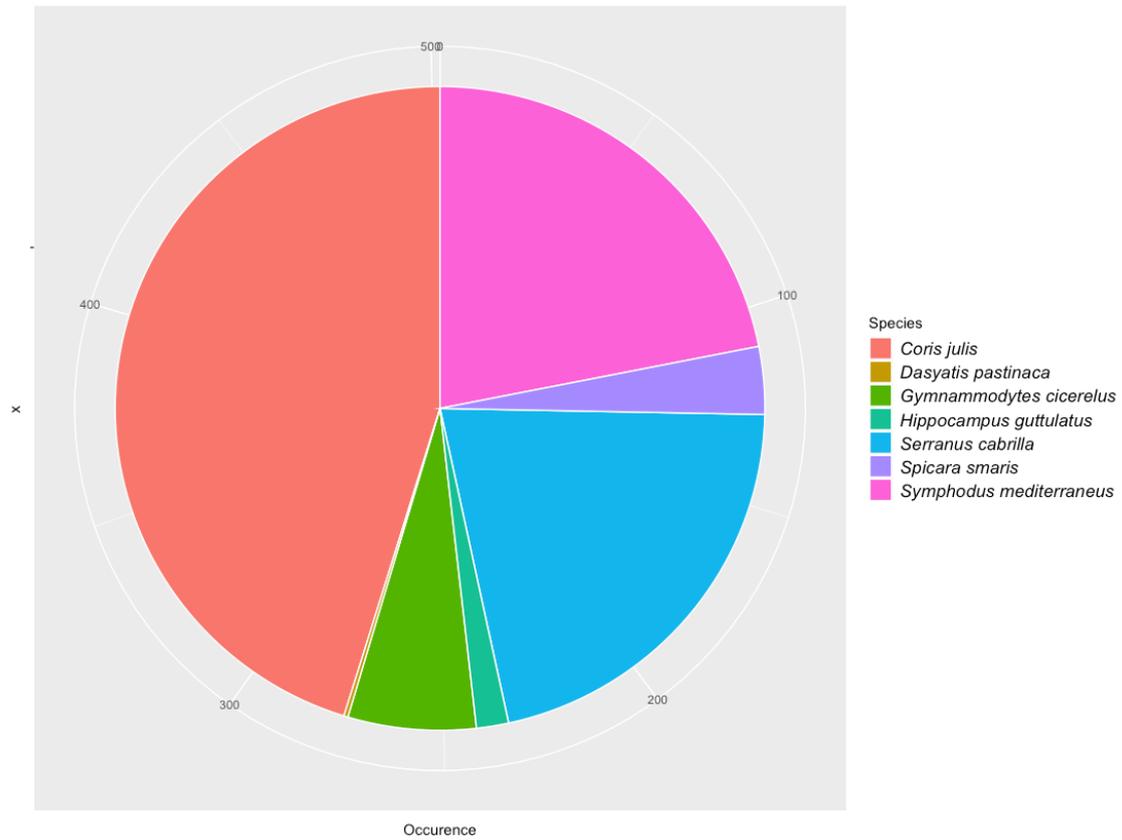


Figure 32 : Abondance en nombre d'observations des différentes espèces faites grâce aux caméras posées sur le site "Agiates_Meuble" situé à 44 m sur un substrat meuble. La richesse spécifique est de 7 pour un temps d'acquisition vidéo de 5 heures.

III.D. Suivi de la température de fond

Le premier capteur de température a été posé le 28/04/2021 sur le site Solenzara_940 (-49 m) avec un substrat meuble. Le second, posé le 1/05/2021, se situe en profondeur intermédiaire d’herbier de posidonie (-15 m) sur le site TaverneN_Pi. Pour finir, le troisième capteur de température a été posé le 2/05/2021 en limite inférieure d’herbier (-40 m) sur le site Taverne_LI.

Le capteur de température posé sur le site Solenzara_940 n’a pas été retrouvé. Les deux autres capteurs ont été remontés le 17 juin 2023.

La Figure 33 indique que les températures sur les sites de suivi écologique, TaverneN_Pi et Taverne_LI, sont semblables à la moyenne de températures enregistrées en hiver pour toute la Méditerranée française (Réseau CALOR). Cependant, lors des saisons estivales les températures enregistrées sur le site en profondeur intermédiaire d’herbier de posidonie peuvent être jusqu’à 15°C supplémentaires aux moyennes méditerranéennes. Les moyennes enregistrées sur le site en limite inférieure sont inférieures à celles du site TaverneN_Pi et se rapprochent des moyennes globales.

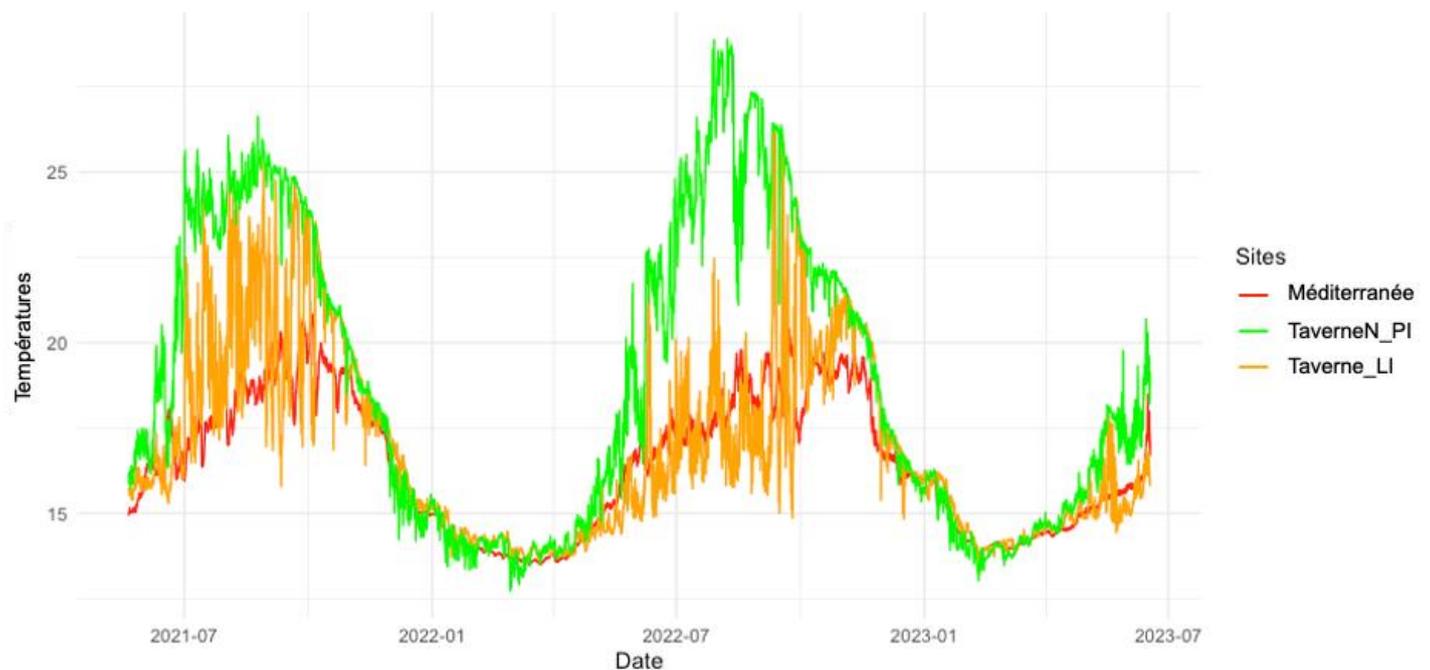
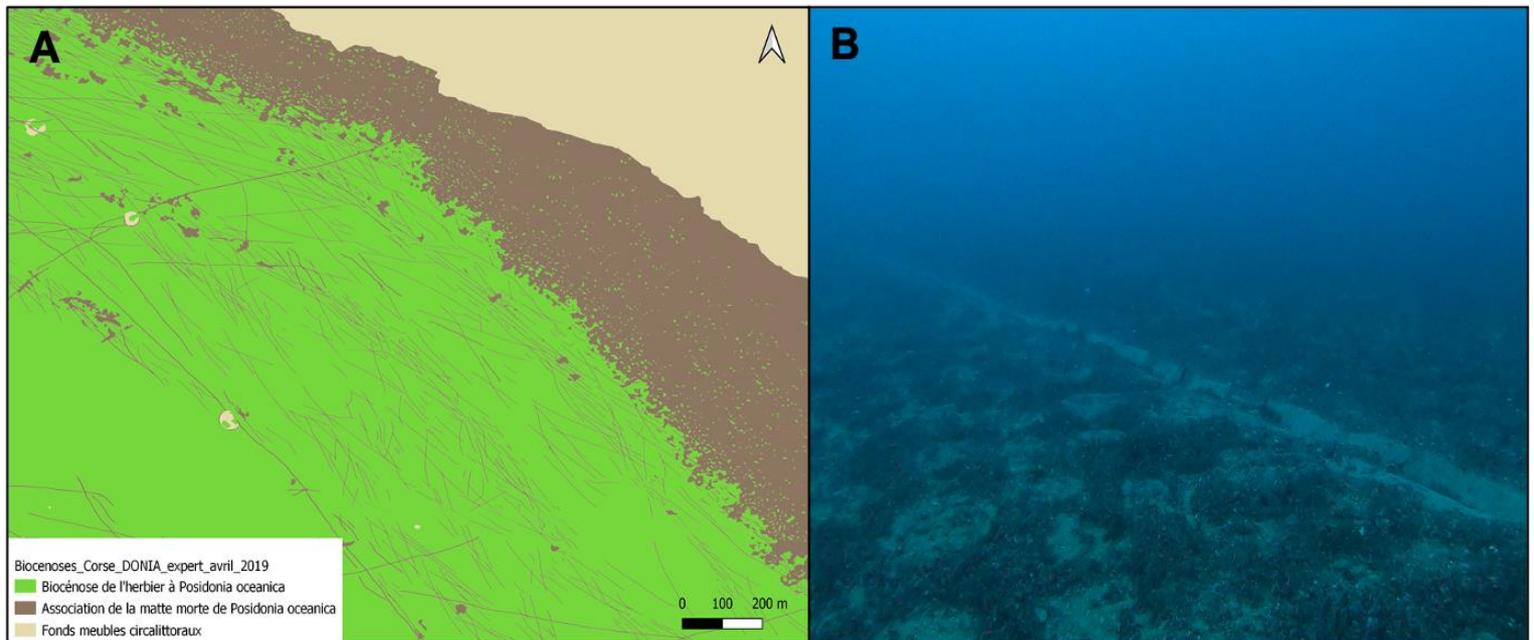


Figure 33 : Évolution des moyennes journalières des températures enregistrées sur les sites TaverneN_Pi à -15 m en profondeur intermédiaire d’herbier (en vert) de posidonie et Taverne_LI à -40 m en limite inférieure d’herbier de posidonie (en orange). En rouge est présente la courbe d’évolution des moyennes de températures enregistrées par le réseau CALOR (sur MEDTIX) dans toute la Méditerranée française.

IV. Analyse des pressions du réseau IMPACT

Grâce aux caméras tractées, au sonar et aux plongées ponctuelles, des pressions anthropiques ont été observées sur les tronçons. Par exemple, des **macrodéchets** (e.g. épaves de barques, filets de pêche, pneus, palme) ont été filmés grâce aux GoPro installées sur les pompes à ADN (Figure 34A, ANNEXE 10).

De nombreuses **traces de chaluts et de mouillage dans l'herbier** ont été recensées grâce au sonar (Figure 34A) et aux observations faites directement en plongée (Figure 34B).



IV.A. L'analyse des pressions cumulées le long des tronçons d'ADN environnemental et des sites de suivi écologique.

Trois catégories ont été faites à partir des scores des pressions cumulées :

	Faible	Moyen	Fort
Score des pressions cumulées	(0,001 : 0,294]	(0,294 : 0,587]	(0,587 : 0,882

Les scores des pressions cumulées sont annotés « pcum ».

IV.A.1. Tronçons d'ADN environnemental

La moyenne des scores des pressions cumulées pour les T_NEG (pcum = 0,09) est supérieure à celles de la majorité des tronçons positifs (Figure 35). Les scores des pressions cumulées sont compris entre 0,001 et 0,66 pour les tronçons positifs à la détection d'ADN de *Squatina squatina* et entre 0,001 et 0,0882 pour les tronçons négatifs. Le tronçon PIAF_53 dans le golf de Propriano a le score de pressions cumulées le plus important (0,66). Le tronçon au nord-est du cap corse dans le PNMCCA a également un score supérieur (0,18) à celui des T_NEG. L'analyse des pressions sur les tronçons effectués pour l'ADNe indique qu'il y a une **différence significative** (p-

value = 0,02) entre les tronçons positifs à la détection d'ADN de *Squatina squatina* et les tronçons négatifs à cette détection (T_NEG) (Figure 36).

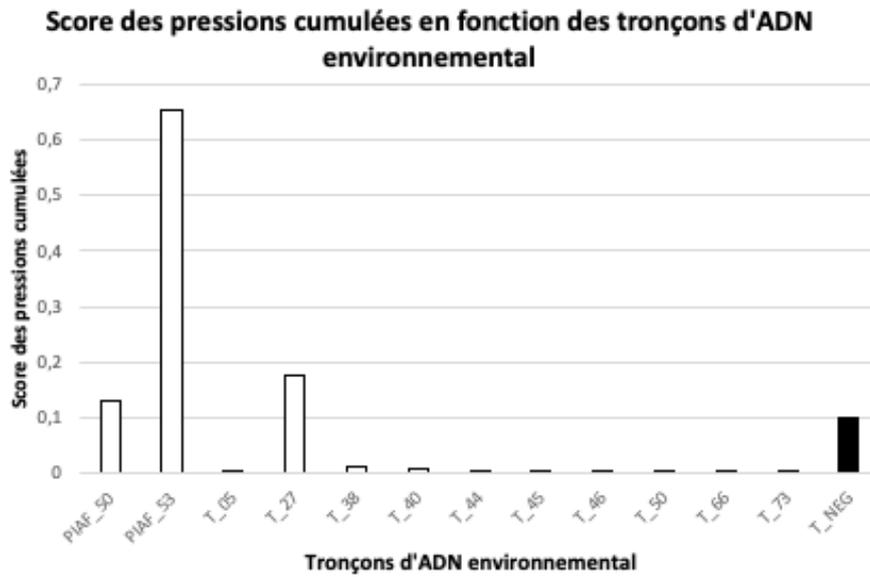


Figure 35 : Scores de pressions cumulées calculés à partir des données IMPACT (Medtrix) en fonctions des tronçons. En blanc le score des tronçons pour lesquels la détection d'ADN de *Squatina squatina* à l'ADNe a été testé positif, en noir la moyenne des scores des tronçons pour lesquels cette détection a été testée négative (T_NEG).

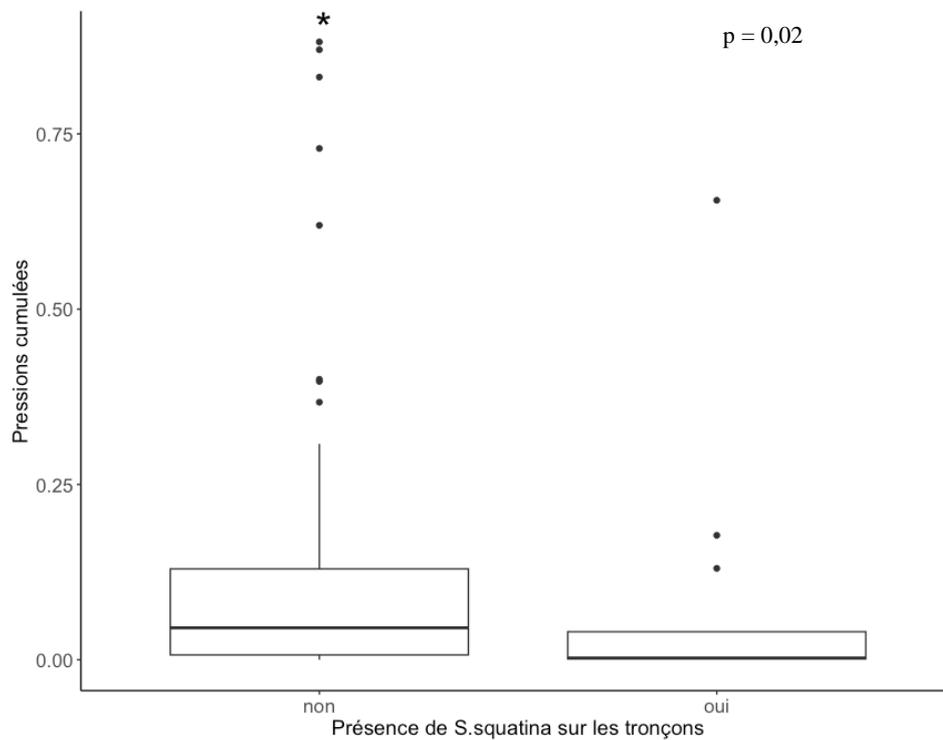


Figure 36 : Boxplot représentant les scores de pressions cumulées en fonction de la présence de *Squatina squatina* détectée ou non. La barre horizontale pour chaque boxplot correspond à la médiane. L'étoile indique une différence significative.

La différence significative entre les tronçons positifs et négatifs pourrait s'expliquer par les pressions suivantes : les aménagements, les rejets agricoles, la présence de cours d'eau, l'érosion, les mouillages, le tourisme balnéaire, la densité de population et les rejets industriels.

En effet, les scores de ces pressions pour tous les tronçons positifs à l'ADN de *Squatina squatina*, à l'exception de PIAF_50 et PIAF_53 sont de 0 alors qu'ils sont supérieurs à 0 pour les T_NEG. Ces derniers sont significativement plus impactés que les tronçons positifs par les pressions cumulées, les rejets agricoles, le déclin de l'herbier de posidonie et le trafic maritime (p -value < 0,05).

IV.A.2. Sites de suivi écologique.

La Figure 37 indique que tous les sites de suivi écologique en limite inférieure (LI) et sur fond meuble ont des scores de pressions cumulées correspondant à la catégorie « Faible ». En profondeur intermédiaire (PI), le score moyen des pressions cumulées correspond à la catégorie « Moyen » ($pcum = 0,38$).

Le site qui subit le plus de pressions est « TaverneN_PI » ($pcum = 0,68$). Le fort score de pressions cumulées de ce site s'explique par des scores supérieurs à tous les autres sites pour les pressions suivantes :

- Rejets agricoles ($ag = 0,28$),
- Densité de la population ($po = 0,08$), et
- Tourisme balnéaire ($to = 0,16$).

Seule la densité de la population pour le site « TaverneN_PI » est significativement supérieure aux autres sites (p -value = 0,017).

Le site en profondeur intermédiaire subissant le moins de pressions est le site « Agriates_15m » avec un score des pressions cumulées de 0,04.

Entre les trois sites en profondeur intermédiaire, la richesse spécifique (R) la plus élevée est sur le site dont le score des pressions cumulées est le plus petit. Cependant, cette variable n'explique pas les richesses spécifiques (p -value = 0,71).

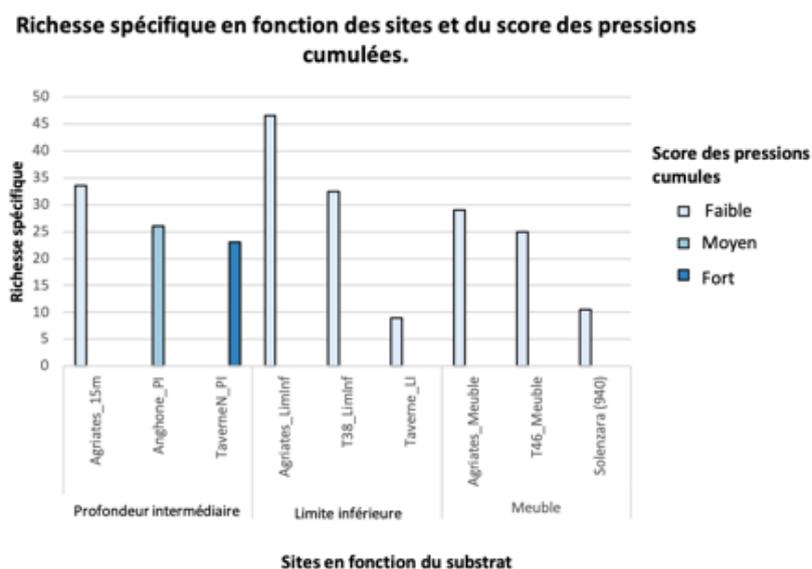


Figure 37 : Richesses spécifiques en fonction des sites et de leur substrat ainsi que leur score de pressions cumulées. Les trois catégories « Faible », « Moyen », « Fort » sont respectivement représentées du plus clair au plus foncé.

Seules deux pressions ont une variation significative entre les sites en profondeurs intermédiaires (PI) et les sites des autres substrats (en limite inférieure (LI) et meuble) : l'érosion (p-value=0,02) et le tourisme balnéaire (p-value= 0,02). Ces résultats s'expliquent par la plus grande proximité à la côte des sites en profondeur intermédiaire d'herbier qui sont par conséquent les plus impactés par l'érosion et le tourisme balnéaire.

IV.B. Analyse des distances aux ports des tronçons d'ADN environnemental et des sites de suivi écologique.

Les scores des distances aux ports les plus proches des sites sont exprimés en kilomètres (km). Trois catégories ont été faites à partir de ces scores :

	Faible	Moyen	Fort
Score des distances aux ports (en km)	(0,613 : 9,52]	(9,52 : 18,4]	(18,4 : 27,3]

Les scores des distances aux ports seront annotés « dist_ports ».

IV.B.1. Tronçons d'ADN environnemental

La Figure 38 indique que les tronçons positifs à la détection d'ADN de *Squatina squatina* sont plus éloignés des ports (médiane = 14,5 km) que les tronçons négatifs à cette détection (médiane = 8 km). Cette différence n'est cependant pas significative (p-value = 0,16).

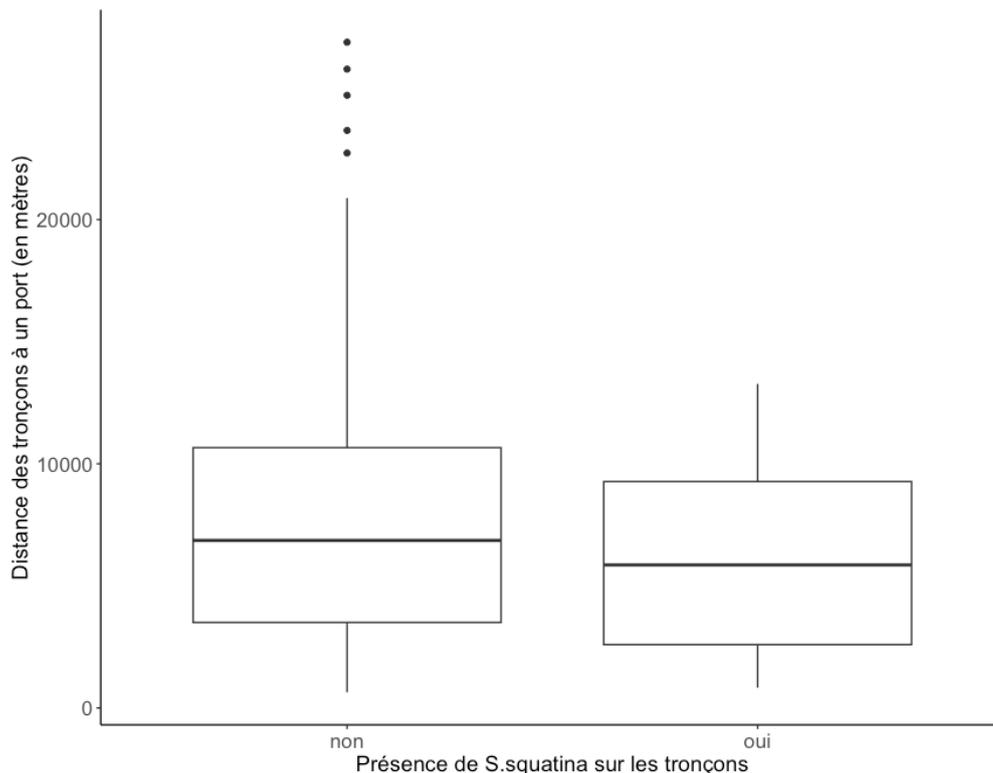


Figure 38 : Boxplot représentant la distance des tronçons d'ADNe à un port en fonction de la présence de *Squatina squatina* détectée ou non. La barre horizontale pour chaque boxplot correspond à la médiane.

IV.B.2. Sites de suivi écologique.

La Figure 39 représente les richesses spécifiques (R) des sites de suivi écologique en fonction des scores des distances aux ports (dist_land) pour chacun de ces sites. Les sites les plus proches des ports sont « Anghone_PI », « Taverne_LI » et « Solenzara_Meuble ». Ce sont également les sites avec les plus petites richesses spécifiques (R). Malgré une forte tendance observée des richesses spécifiques moins importantes sur les sites les plus proches des ports, il n'y a pas de différence significative (p-value = 0,06). A noter que « T46_Meuble », site sur lequel des traces d'ADN de *Squatina squatina* ont été détectées, a une distance éloignée des ports.

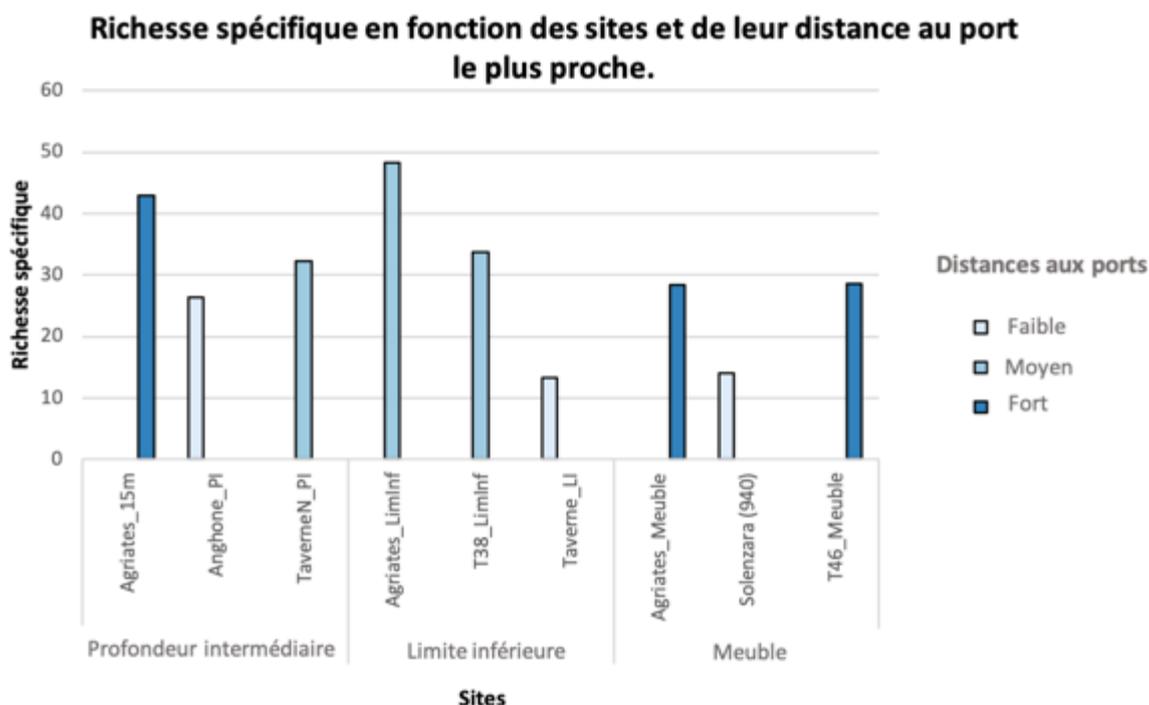


Figure 39 : Richesse spécifique des sites de suivi écologiques en fonction de leur distance aux ports. Les trois catégories « Faible », « Moyen », « Fort » sont respectivement représentées du plus clair au plus foncé.

IV.C. Analyse de la pression du trafic maritime sur les tronçons d'ADN environnemental et sur les sites de suivi écologique.

Les scores de pression du trafic maritime ont également été séparés en trois catégories :

	Faible	Moyen	Fort
Score du trafic maritime	(0,001 : 0,006]	(0,006 : 0,01]	(0,01 : 0,015]

Les scores du trafic maritime seront annotés « tm ».

IV.C.1. Tronçons d'ADN environnemental.

Tous les tronçons positifs à la détection d'ADN de *Squatina squatina* ont un faible score de trafic maritime (tm) à l'échelle de la Corse. Cette pression est calculée à partir des données AIS, elle prend donc en compte aussi bien les navires professionnels que la plaisance.

La Figure 41 indique que le score de cette pression varie entre 0,001 et 0,015 pour les tronçons négatifs à la détection d'ADN de *Squatina squatina* (T_NEG). Les tronçons positifs à cette détection ont un score qui varie entre 0 et 0,008. Il y a une différence significative entre les T_NEG et les tronçons positifs (p-value = 0,01).

Les richesses spécifiques ainsi que la présence de *Squatina squatina* ne sont pas influencées par le trafic maritime (p-value = 0,10).

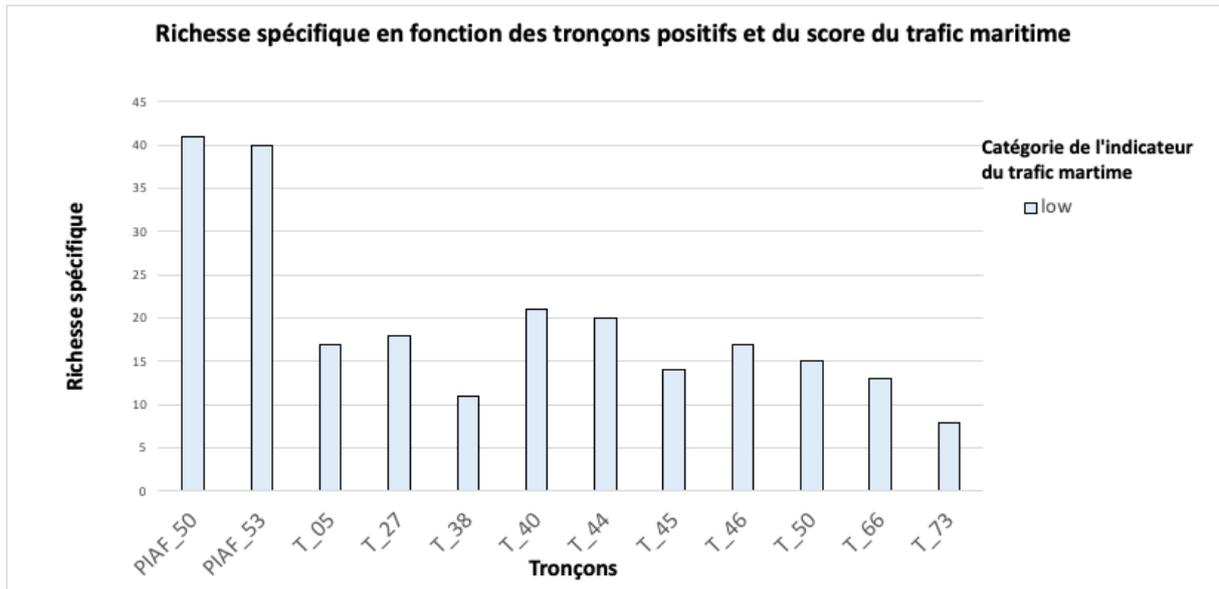


Figure 40 : Richesses spécifiques des tronçons positifs à la détection d'ADN de *S. squatina* en fonction des catégories des scores de pression du trafic maritime. Le bleu clair correspond à la catégorie « Faible ».

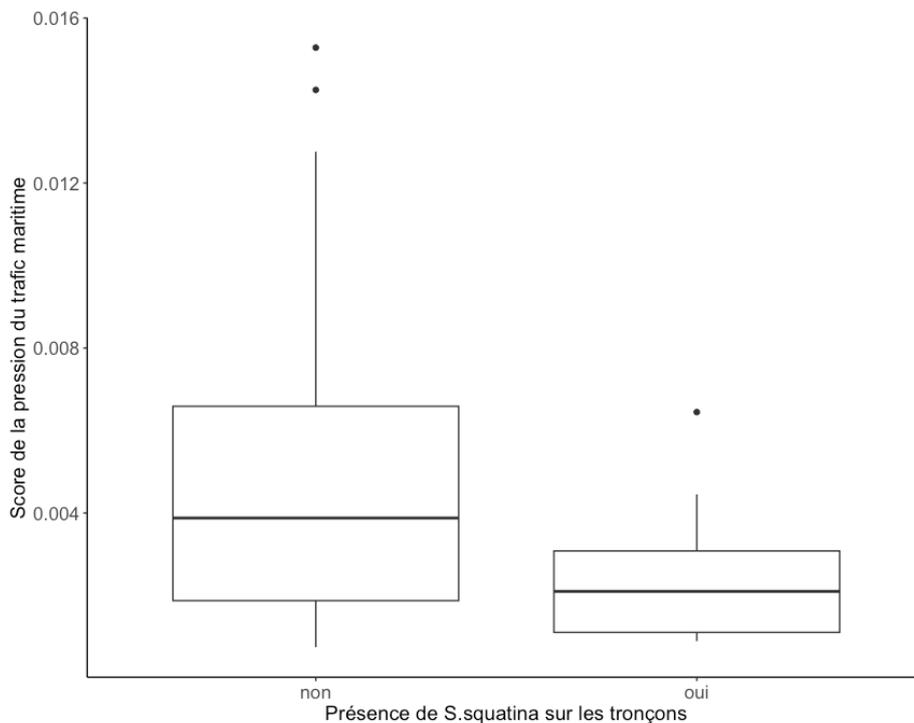


Figure 41 : Boxplot représentant les scores de trafic maritime des tronçons d'ADNe en fonction de la présence de *Squatina squatina* détectée ou non. La barre horizontale pour chaque boxplot correspond à la médiane.

IV.C.2. Site de suivi écologique.

La Figure 42 indique que seul le site « Agriates_15m », en profondeur intermédiaire (PI), a une pression du trafic maritime importante. Cependant, la richesse spécifique sur ce site reste élevée : 57 espèces contre une moyenne de 38 espèces dans les sites en PI avec un score de pression « Faible ».

La pression du trafic maritime n'explique pas la richesse spécifique des sites (p -value = 0,12).

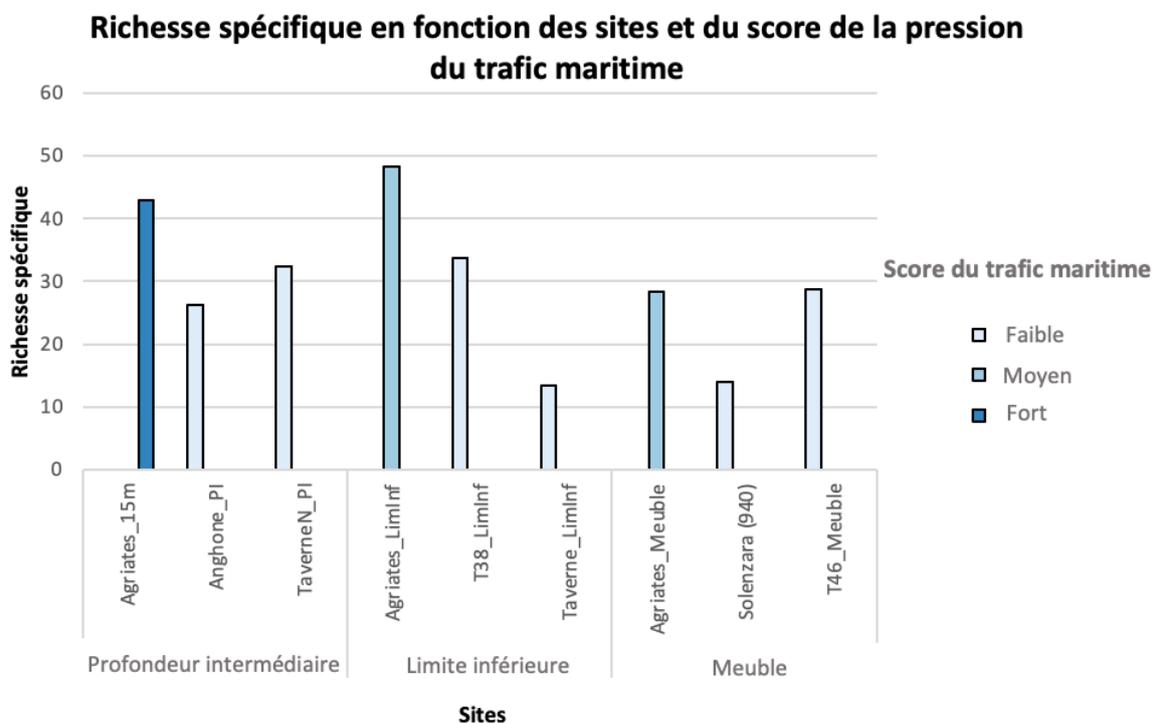


Figure 42 : Richesses spécifiques des sites de suivi écologique en fonction de leur substrat et de leur score pour la pression du trafic maritime. Les trois catégories « Faible », « Moyen », « Fort » sont respectivement représentées du plus clair au plus foncé.

La Figure 43 indique les scores de pression du trafic maritime en fonction des substrats des sites de suivi écologique. Les médianes (barres horizontale noire) sont supérieures pour les sites en LI et en substrat meuble. Il n'y a pas de différence significative entre les substrats (p -value = 0,67).

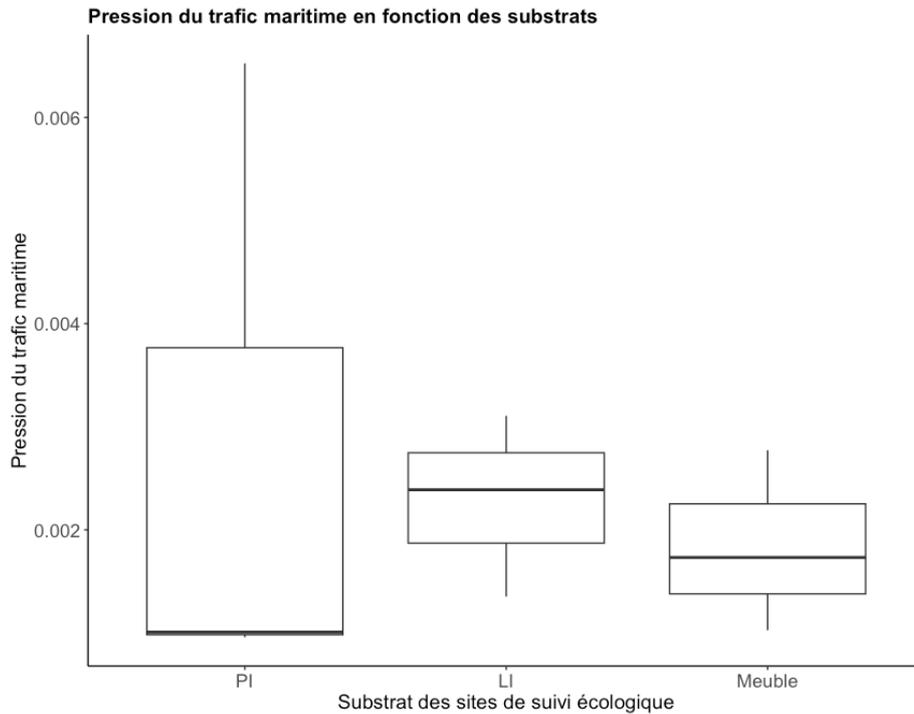


Figure 43 : Boxplot représentant les scores de trafic maritime des tronçons d’ADNe en fonction des substrats des sites de suivi écologique (PI = Profondeur Intermédiaire, LI = Limite Inférieure et Meuble). La barre horizontale noire pour chaque boxplot correspond à la médiane.

IV.D. Analyse de la pression de pêche sur les tronçons d’ADN environnemental et sur les sites de suivi écologique.

La pression de pêche prend en compte tous les bateaux de pêche professionnels équipés d’un dispositif AIS (Automatic Identification System). Les scores de cette pression ont également été séparés en trois catégories :

	Faible	Moyen	Fort
Score de la pression de pêche	$(0,693 \times 10^{-7}; 0,002]$	$(0,002 ; 0,005]$	$(0,005 ; 0,007]$

Les scores de la pression de pêche seront annotés « pe ».

IV.D.1. Tronçons d’ADN environnemental

Tous les tronçons positifs à la détection d’ADN de *Squatina squatina* ont un faible score (Figure 44). Il n’y a pas de différence significative pour cette pression entre les tronçons négatifs et positifs à la détection de *Squatina squatina* (Figure 45).

La Figure 41 indique que le score de cette pression varie entre 0 et 0,007 pour les tronçons positifs et négatifs à la détection d’ADN de *Squatina squatina* (T_NEG).

Les richesses spécifiques ainsi que la présence de *Squatina squatina* ne sont pas influencées par la pression de pêche sur le milieu (p -value = 0,20).

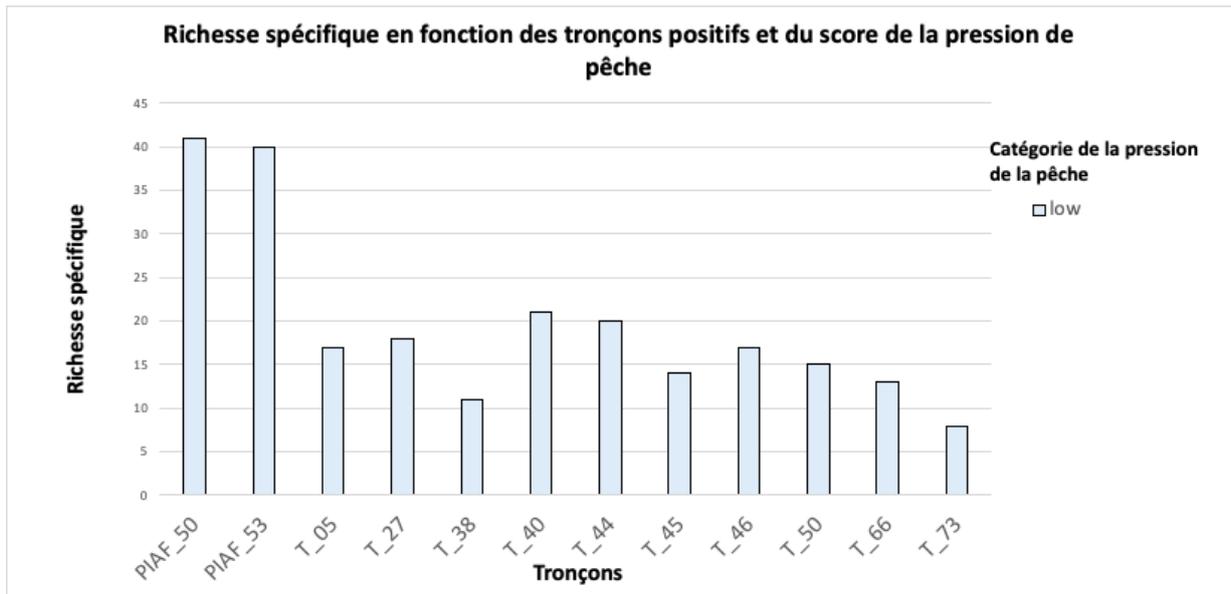


Figure 44 : Richesses spécifiques des tronçons positifs à la détection d'ADN de *S. squatina* en fonction des catégories des scores de la pression de pêche. Le bleu clair correspond à la catégorie « Faible ».

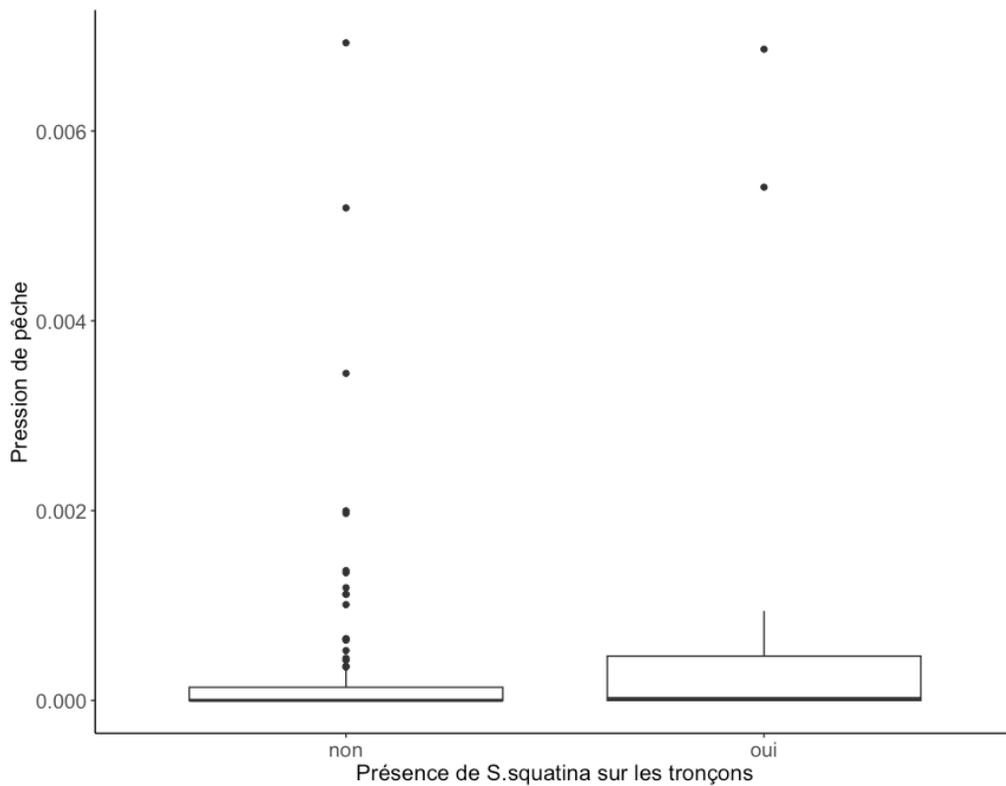


Figure 45 : Boxplot représentant les scores de pression de pêche des tronçons d'ADNe en fonction de la présence de *Squatina squatina* détectée ou non. La barre horizontale pour chaque boxplot correspond à la médiane.

IV.D.2. Sites de suivi écologique

Seul le site « T38_LimInf » en limite inférieure (LI) d’herbier a un score de pression de pêche correspondant à la catégorie « Fort » de cette pression (Figure 46).

Les richesses spécifiques des sites ne sont pas expliquées par la pression de pêche (p -value = 0,44).

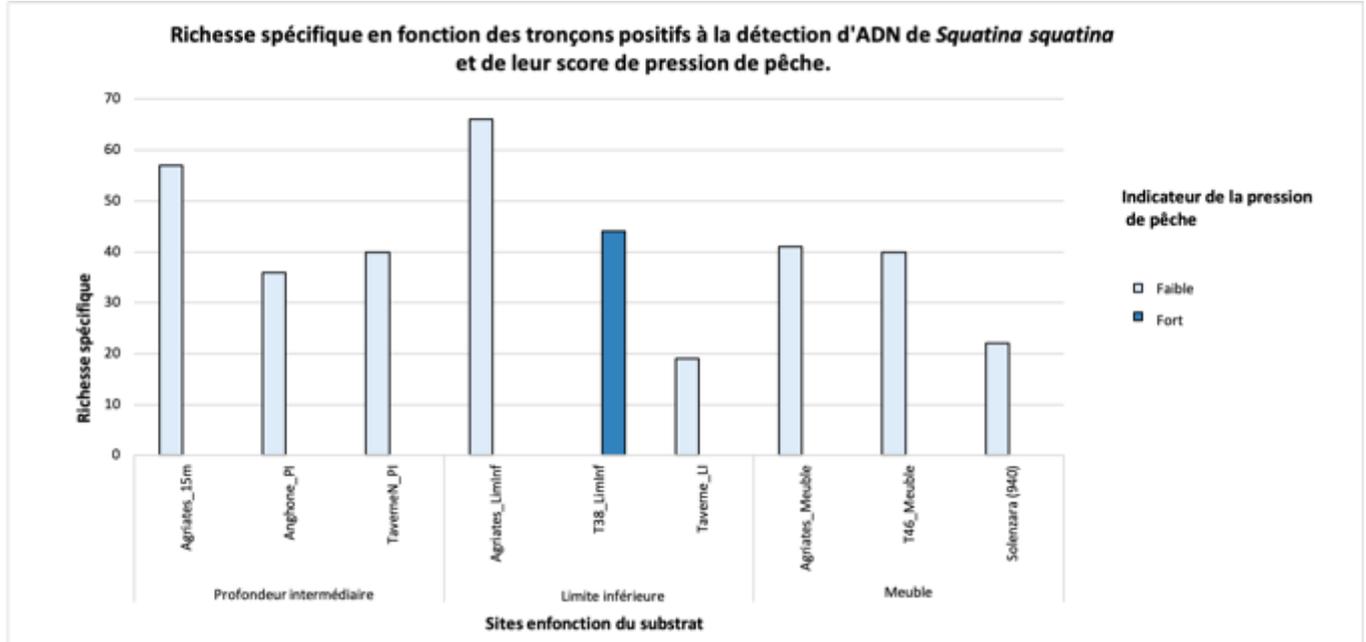


Figure 46 : Richesses spécifiques des sites de suivi écologique en fonction de leur substrat et de leur score de pression de pêche. Le dégradé de bleu correspond au plus clair à la catégorie « Faible » et au plus foncé la catégorie « Fort » de la pression de pêche

V. Résultats du questionnaire

La première réponse date du 22 février 2022 et la dernière réponse du 10 mars 2022. Au total, **19 personnes** ont répondu au questionnaire dont deux pêcheurs pratiquant le surf-casting qui attestent avoir pêché un *Squatina squatina* et un chasseur sous-marin indiquant une observation sur la côte continentale. Les 16 autres réponses sont des pêcheurs loisirs n'ayant jamais pêché/observé d'ange de mer.

S'ajoute aux réponses du questionnaire, le témoignage d'un plongeur qui a pu observer un jeune individu en Corse en juillet 2022. Les observations récoltées sont répertoriées sur la carte ci-dessous (Figure 47) :

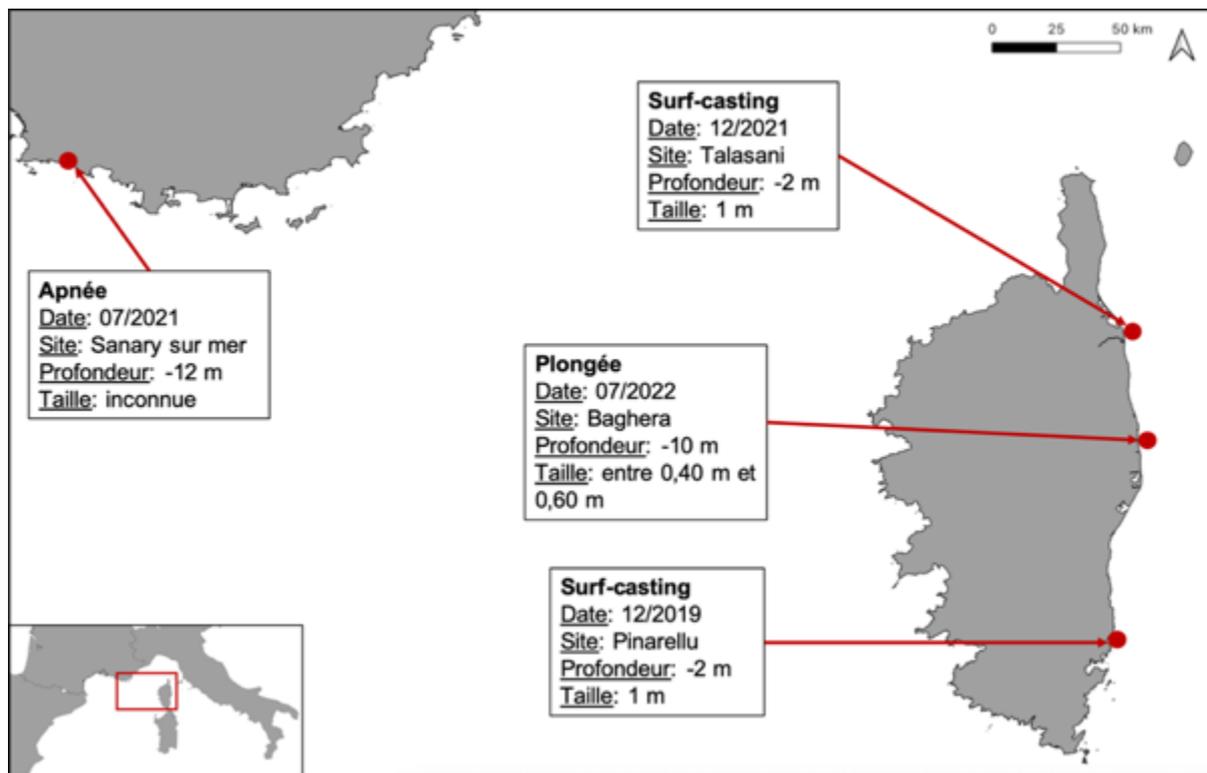


Figure 47 : Carte des observations d'ange de mer commun (*Squatina squatina*) récoltées grâce au questionnaire.

En plus de ces observations, une observation de **juvénile *Squatina squatina* a été faite en juin 2022 au large du Golo** par l'association AILERONS lors de la mission Raie'Spira. Un pêcheur professionnel a également témoigné d'avoir pêché un *Squatina squatina* pour **la première fois de son expérience professionnelle au nord-est du cap corse dans le PNMCCA en septembre 2023**. Cette prise a été réalisée à proximité du tronçon T_27 détecté positif à la détection de *Squatina squatina* par ADNe metabarcoding. En 2024, le plongeur Pierre-Jean Beaux a pu photographier une **femelle de 90 cm à 11 m de profondeur** au large de Furiani le **13/03/2024** et une autre **femelle de 35 cm dans 7 m de profondeur** au large de Borgo le **23/05/2024**.

De plus, L'association APECS (Association Pour l'Etude et la Conservation des Sélaciens) a relayé **trois observations de *Squatina squatina* du 21 avril 2022 au 18 juin 2022 en Bretagne**.

Les autres questions du questionnaire ont permis de récolter des données complémentaires. Deux personnes ont répondu avoir déjà pêché un *Squatina aculeata*. Selon leur réponse, ces personnes auraient capturé les individus en août et décembre 2021 sans précision concernant les lieux de captures ou les données biologiques des individus. Aucune réponse n'indique une capture ou une observation de *Squatina oculata*.

Douze personnes ont donné une année de début d'activité de pêche loisir, elles varient entre 1978 et 2021. Deux personnes ont répondu qu'elles pêchaient « depuis tout petit », une personne a répondu qu'elle ne pratique pas la pêche. La majeure partie des enquêtés sont donc des **personnes pratiquant la pêche depuis de nombreuses années**.

L'activité professionnelle la plus représentée parmi les réponses sont les professions libérales et autres métiers assimilés, au total 12 secteurs d'activités y sont représentés (Figure 48).

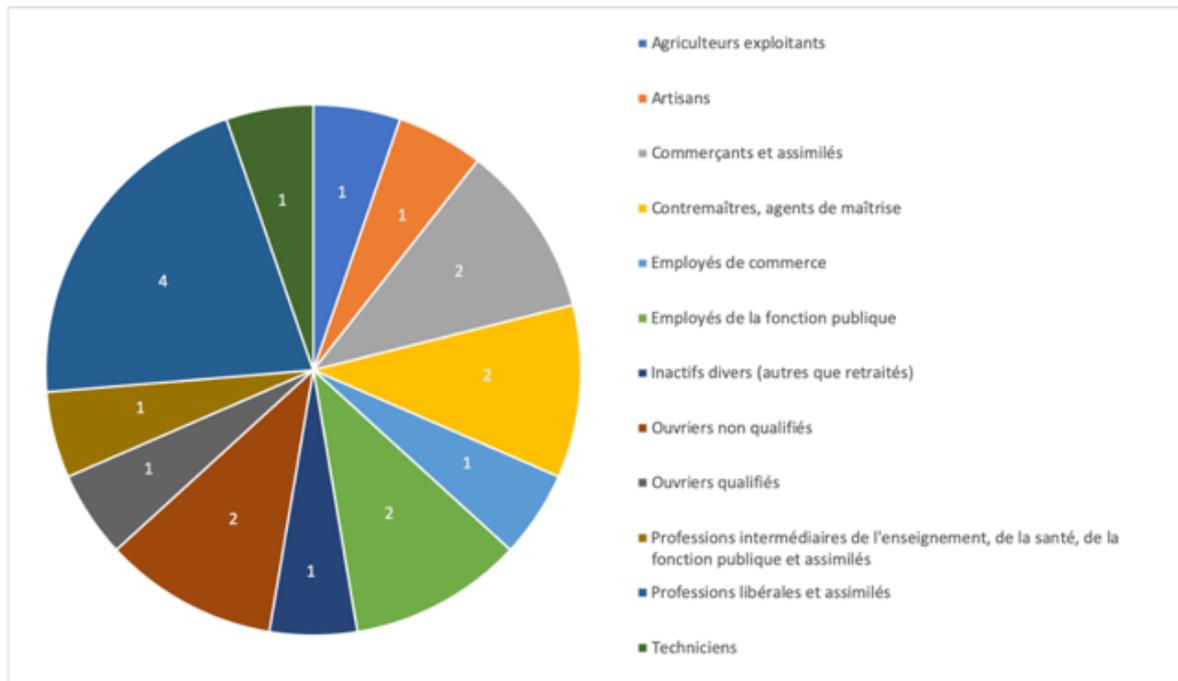


Figure 48 : Activités professionnelles des personnes ayant répondu au questionnaire.

Seulement trois personnes pêchent au sein d'une association ou une fédération.

Les techniques de pêche utilisées par les participants du questionnaire sont listées dans le Tableau 10. La technique de pêche la plus utilisée est la pêche à la traîne qui n'est pas la méthode la plus adéquate pour pêcher des *Squatina sp.* Pour rappel, les témoignages de captures/observations de *Squatina squatina* ne se sont faites qu'en apnée, plongée sous-marine et surf casting avec appâts.

Tableau 10 : Liste des techniques de pêche citées dans les réponses au questionnaire avec le nombre de personnes utilisant ces méthodes.

Méthode de pêche	Nombre de participants utilisant cette méthode :
Pêche à la traîne	10
Pêche en dérive	1
Pêche sous-marine	4
Palangre	1
Surf-casting	5
Pêche verticale	6

Tous les participants au questionnaire ont répondu « une remise à l'eau » ou « je ne prélève pas de raies ou requins » (pour les pêcheurs sous-marins) à la question « Que faites-vous quand vous attrapez ce poisson ? ».

Sept participants indiquent qu'ils pêchent entre 50 et 100 fois par an, deux disent faire plus de 100 sorties par an, deux autres sortent entre 31 et 50 fois, cinq entre 11 et 30 fois par an et trois pêchent moins de 5 fois par an. **Les personnes ayant participé au questionnaire sont donc principalement des habitués de la pêche** (i.e. onze participants pêchent plus de 30 fois par an).

Pour 19 réponses au questionnaire, seulement cinq personnes ne connaissaient pas l'ange de mer commun. A la question « Savez-vous que ce poisson a quasi disparu des côtes françaises ? et est en voie d'extinction en Méditerranée ? » 9 personnes ont répondu « Non » et 10 personnes ont répondu « Oui ». Cela fait prendre

conscience qu'il y a un véritable manque de communication et de sensibilisation autour de cette espèce en danger critique d'extinction (Figure 49 A et B).

À la question « A votre avis, pourquoi cette raréfaction (de *S. squatina*) ? », 16 réponses parlent de surpêche et plus précisément des techniques de pêche professionnelle (*i.e.* chaluts, filets). Deux personnes expliqueraient la disparition de l'ange de mer dû à un manque de proies pour ce dernier. Six réponses comprennent une notion de changement climatique/réchauffement des eaux et 3 réponses parlent de pollution sonore et pollution générale de la mer (Figure 49 C). **La destruction des habitats, deuxième cause du déclin de la biodiversité marine d'après l'IPBES, n'a pas été citée dans les réponses, montrant un manque de communication autour de cette menace.**

Afin d'augmenter les effectifs d'ange de mer, 10 personnes pensent qu'une des solutions est d'interdire la pêche de ce requin, de faire un moratoire (comme les corbs ou les mérus) et de protéger les zones de répartition de l'espèce. Trois personnes ont répondu que faire de la sensibilisation auprès des pêcheurs professionnels et loisirs pourrait avoir un impact positif sur l'augmentation de la population (Figure 49 D).

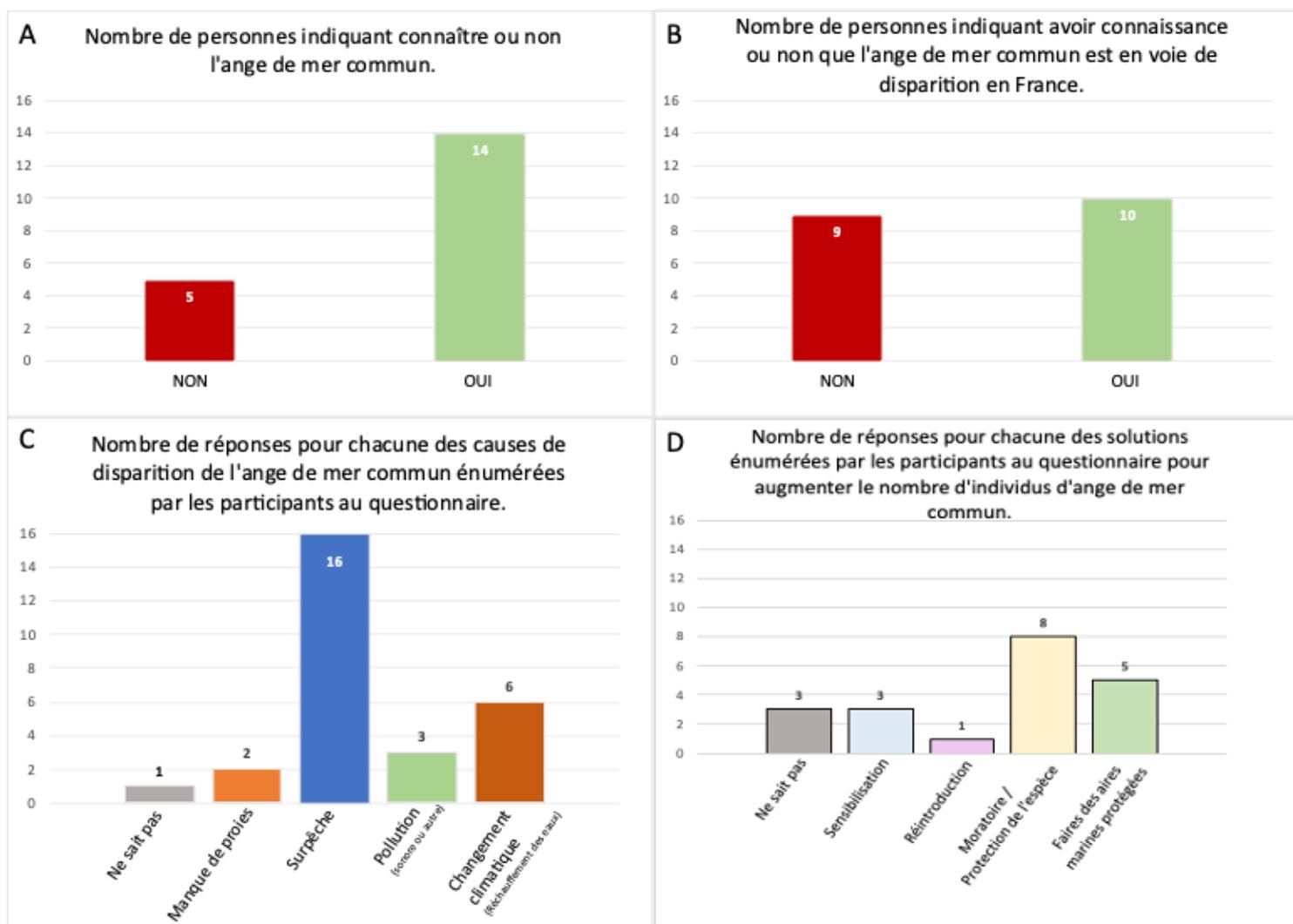


Figure 49 : Résultats aux différentes questions du questionnaire.

Les résultats de ce questionnaire confirment donc qu'il est rare de faire des observations de l'ange de mer commun (*Squatina squatina*) en Méditerranée française et qu'il existe un manque de connaissance concernant cette espèce (statut, menaces) même si cette espèce est relâchée. Les solutions proposées pour sa sauvegarde sont des mesures concernant la pêche. Une observation non attendue à Sanary sur mer a été donnée, il serait alors intéressant d'enquêter auprès des plaisanciers et professionnels de cette zone et/ou d'y

appliquer la même méthode de détection (ADNe) afin d’y confirmer ou non la présence d’une population de *Squatina sp.* Le projet [IPOCOM](#) (Inventaire des poissons côtiers de méditerranée Française continentale par ADN environnemental et sélectivité de la pêche artisanale) démarré en 2024 devrait justement apporter des réponses sur ce point. Sur quatre témoignages en Corse (trois via le questionnaire et un témoignage en communication personnelle), deux observations ont été faites proche des tronçons positifs à l’ADNe à l’embouchure du Golo et dans le PNMCCA.

VI. Témoignage de pêche 2023

En mars 2023, Jean Toussaint Lucchini, pêcheur professionnel a rapporté une pêche d’une centaine d’anges de mer au nord de Solenzara.

De plus, le 14 juin 2023 ce même pêcheur a remonté de ses filets **un ange de mer épineux (*Squatina aculeata*)**. L’individu est **une femelle adulte** de 151 cm de long pour 80 cm d’envergure (Figure 50). Elle a été prélevée par -32 mètres de profondeur sur un fond meuble. Des tissus de peaux ont été prélevés pour séquençage afin d’alimenter notre base de références génétiques. A notre connaissance **c’est la première fois que cette espèce est inventoriée en Corse.**



Figure 50 : Photos de la femelle ange de mer épineux (*Squatina aculeata*) pêchée en juin 2023.

VII. Mieux connaître la biologie de l'ange de mer commun *Squatina squatina*

VII.A. Prélèvements biologiques

Actuellement, 128 individus ont été échantillonnés pour 127 fragments de tissus, 36 prélèvements de mucus externes (ventraux et dorsaux) et 29 prélèvements cloacaux (Tableau 11).

Tableau 11 : Synthèse du nombre total d'individu échantillonné, par sexe, en fonction de la méthode d'échantillonnage. Chaque ligne correspond à une méthode d'échantillonnage (case verte = échantillonnage fait / case orange = échantillonnage non effectué).

INDIVIDUS				ECHANTILLONS				
Totaux	Nbr Mâle	Nbr Femelle	Nbr NA	Fragment peau	Swab dorsaux	Swab ventraux	Swab cloacaux	
6	4	2		6	6	6	6	
14	8	6		14	14		14	
9	3	6		9	9			
9	3	6		9			9	
89	9	8	72	89				
1		1			1			
Totaux	128	27	29	72	127	30	6	29

L'étude du microbiome à partir des échantillons de mucus prélevés a commencé en janvier 2024. Les résultats seront donc disponibles en fin d'année voire en 2025. Cette étude est menée en collaboration avec Jean-Christophe Auguet.

VII.B. Génétique des populations (stage de M2 de Nadia Faure)

VII.B.1. Structures familiales

Un total de 105 échantillons de tissus de *S. squatina* a été collecté en mer entre 2020 et 2022 sur la côte orientale de la Corse (Bastia et Solenzara) auprès des pêcheurs locaux qui capturent accidentellement des individus dans leurs chaluts ou filets. Malheureusement, le sexe n'a pas été déterminé pour tous les individus lors de l'échantillonnage (11 femelles, 14 mâles, 80 inconnus).

L'analyse de la parenté génétique entre les individus analysés par l'utilisation de SNPs (single-nucleotide polymorphism) a permis de détecter 41 paires d'individus apparentés, montrant des valeurs de parenté génétique $\geq 0,125$. Parmi ces 41 paires, **19 sont des individus étroitement apparentés**, avec des valeurs de parenté $\geq 0,25$ (c'est-à-dire des individus partageant $\frac{1}{4}$ de leur génotype). Ces 41 paires d'individus apparentés ont également été révélées grâce à l'analyse par la GRM (Genomic Relationship Matrix) (Figure 51). Parmi les 101 individus génotypés, des liens de parenté sont connus pour quatre individus de Solenzara car une mère a donné naissance à trois petits sur le bateau d'un pêcheur. L'analyse de parenté génétique a confirmé l'étroite similarité génétique entre ces individus apparentés, avec une valeur moyenne de parenté (coefficient Wang) de 0,46 (IC 95 % 0,427 - 0,497) entre la mère et ses progénitures (Tableau 1), ce qui correspond bien à la valeur de parenté attendue pour une relation parent-enfant, partageant 50 % de leur génotype. Ces valeurs de parenté connue ont permis d'identifier d'autres liens de parenté du même degré (parent-enfant, frère-sœur) parmi les paires d'individus détectées par l'analyse. Au total, 48 % des individus échantillonnés ont un lien de parenté fort avec au moins un autre individu échantillonné (48/101 individus).

(a) Network based on a genomic relationship matrix [Kamada-Kawai layout]

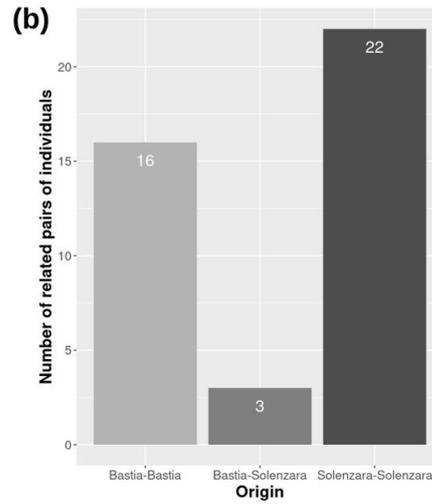
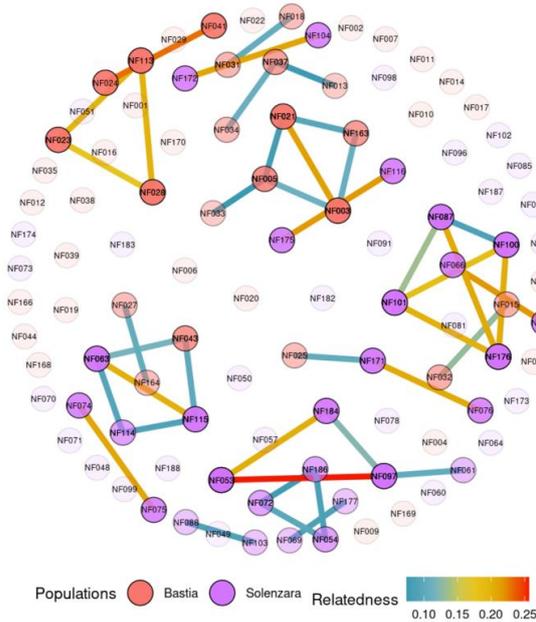


Figure 51 : (a) Structures familiales révélées par l’analyse de parenté génétique (Genomic Relationship Matrix) parmi les 101 individus *S. squatina*. On retrouve bien les liens de parenté observés sur le terrain pour la mère (NF176) et ses 3 petits (NF087, NF100, NF101). (b) Nombre de paires d’individus apparentés (pour lesquels la parenté génétique est $\geq 0,125$) en fonction de leur origine.

Tableau 12 : Valeurs de parenté génétique et intervalle de confiance à 95 % pour des paires d’individus dont la parenté est connue (mère et ses 3 juvéniles). Chaque valeur est comparée à la valeur de parenté génétique de référence.

Lien de parenté	Valeurs de parenté génétique (coeff. Wang)		Valeurs de parenté génétique (analyse GRM)	
	<i>S. squatina</i>	Valeur de référence	<i>S. squatina</i>	Valeurs de référence (Speed & Balding, 2015)
Clones	0.86* [0.782, 0.967]	1	0.437*	0.5
Parent-Enfants	0.462** [0.427, 0.497]	0.5	0.205**	0.25 [0.204, 0.296]
Frères & Soeurs	0.421*** [0.381, 0.429]	0.5	0.1859***	0.25 [0.204, 0.296]
Demi frères & soeurs	0.249**** [0.1820, 0.309]	0.25	0.112****	0.125 [0.092, 0.158]
Cousins germains	/	0.125	/	0.062 [0.038, 0.089]
Non apparentés	0	0	0	0

* moyenne des 33 paires d’individus dupliqués lors du séquençage
 ** moyenne obtenue grâce aux valeurs entre la mère (NF176) et ses 3 enfants (NF87, NF100, NF101)
 *** valeur entre les frères/soeurs NF100 et NF101
 **** moyenne obtenue pour les valeurs entre NF87-NF100 et NF87-NF101

VII.B.2. Un comportement sédentaire ?

Les résultats montrent que les valeurs de parenté génétique augmentent lorsque la distance géographique diminue entre les individus (Figure 52), ce qui pourrait signifier que les anges de mer auraient tendance à être **apparentés aux individus vivant sur le même site**. Les individus séparés par plus de 60 km (distance Bastia - Solenzara) ne partagent pas une grande proportion de leur génotype par rapport aux individus vivant sur le même site. Parmi les 41 paires d'individus apparentés, **seulement trois paires sont formées entre des individus de Bastia et Solenzara** (Figure 51b). Toutes les autres paires sont formées entre des individus d'un même site. Ces 3 paires d'individus apparentés, mais séparés de 65 km (Figure 52), pourraient par exemple résulter de la migration d'individus du sud vers le nord de la Corse (ou l'inverse), qui auraient donc été échantillonnés sur un site différent de leur site de "vie familiale". Cela pourrait aussi être expliqué par la migration d'un parent entre Bastia et Solenzara, qui se serait reproduit dans les deux endroits, créant des liens de parenté entre des descendants vivant à Bastia et d'autres vivant à Solenzara.

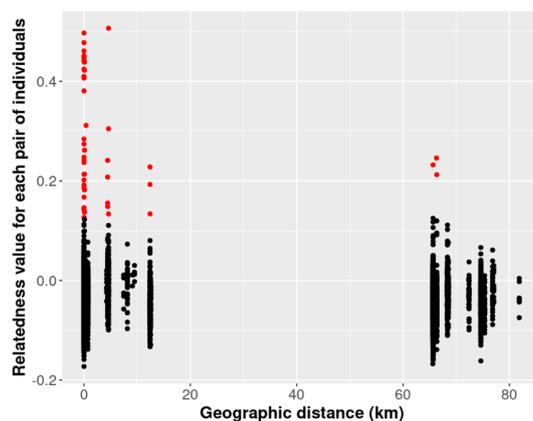


Figure 52 : Influence de la distance géographique sur la parenté génétique entre les 101 individus ange de mer. Les paires d'individus ayant un coefficient de parenté génétique Wang $\geq 0,125$ sont colorées en rouge.

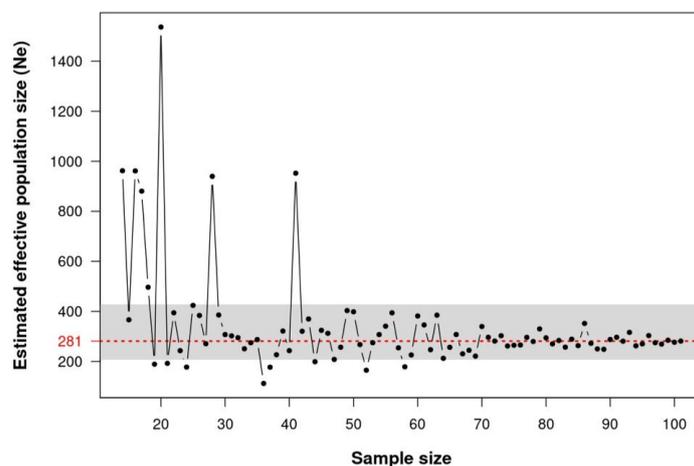


Figure 53 : Influence du nombre d'individus échantillonnés (sample size) sur la précision d'estimation de la taille efficace de la population (N_e). La valeur de N_e calculée pour 101 individus est notée en rouge. L'intervalle grisé correspond à l'intervalle de confiance à 95 % estimé par la méthode JackKnife pour le N_e obtenu avec 101 individus.

Par ailleurs, la taille efficace de la population (*i.e.* le nombre d'individus efficacement reproducteurs dans la population étudiée) a été **estimée à 281** (ICparametric 95 % : 280,3 - 282,1 ; ICjackknife 95 % : 205,9 - 428,9) pour la période d'échantillonnage 2020 - 2022. **Cette faible taille efficace indique une reproduction peu fonctionnelle et pourrait refléter l'épisode de réduction sévère des populations** (goulot d'étranglement) en raison de la surpêche au cours du 20^{ème} siècle, entraînant une réduction de la diversité génétique. Les résultats indiquent aussi qu'un échantillonnage de 60 individus serait suffisant pour, à l'avenir, estimer de nouveau la taille efficace de manière exacte et précise (Figure 53). Un suivi temporel de la taille efficace permettrait de déterminer si cette population tend à disparaître ou si elle repeuple progressivement les eaux Corses.

VII.C. Étude du microbiote cutané de l’ange de mer commun (stage de M2 de Frédéric Salasc).

L’analyse des séquences de microbiotes externes de nombreux élasmobranches a permis de constater une **diversité interspécifique plus importante qu’intraspécifique**, ce qui est fréquemment observé pour le microbiote cutané des animaux marins. Toutefois, aucune différence de diversité ou de structure entre les microbiotes des différents organes n’a été détecté, contrairement à ce qui a été trouvé plusieurs fois, notamment chez deux espèces de requins, *Carcharhinus plumbeus* et *Carcharhinus obscurus* (Bregman et al, 2023), et deux mammifères marins en captivité *Tursiops truncatus* et *Orcinus orca* (Chiarello et al, 2017).

Toutefois, la **région d’échantillonnage** joue un rôle significatif dans la composition et la diversité du microbiote cutané chez *Squatina squatina*. En effet, des différences significatives de la diversité alpha et la structure des communautés ont été observées entre les régions de Bastia et de Solenzara (Figure 54). Il s’agit du seul paramètre testé qui explique de manière significative la variabilité de la structure et de la diversité du microbiote de *Squatina squatina*. Cet effet de la localisation a été également observé chez deux espèces d’élasmobranches, *Urobatis halleri* et *Carcharhinus melanopterus* (Kerr et al, 2023 ; Pogoreutz et al, 2019).

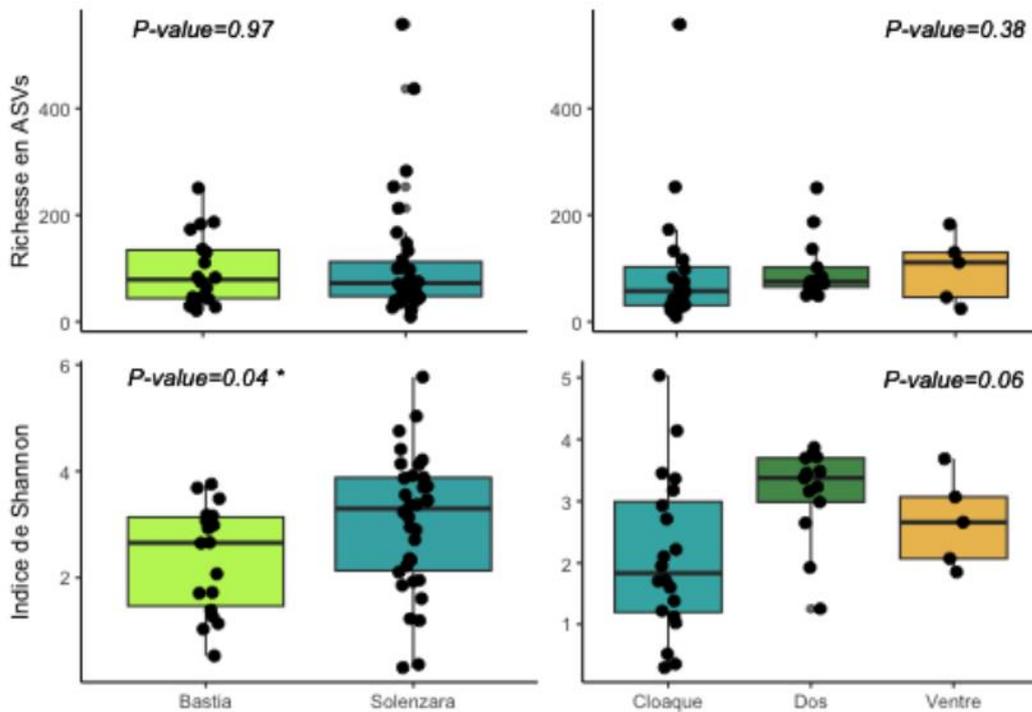


Figure 54 : Distribution de la diversité alpha selon la localisation et le site anatomique. Les ASV correspondent à chacune des différentes séquences identifiées par le séquençage. Les p-values correspondent au test de Kruskal-Wallis, et un astérisque indique une différence significative entre les groupes.

Tous les anges de mer échantillonnés en Corse ne forment qu’une seule population (voir Faure, 2023). L’analyse du lien entre la distance génétique et la dissimilarité des microbiotes externes ne montre **pas de corrélation, à l’exception de la matrice de dissimilarité d’UniFrac pondéré des microbiotes cutanés qui est corrélée à la distance génétique euclidienne entre les anges de mer**. Cette distance est en effet celle qui semble la plus sensible à détecter la phylosymbiose (Mazel et al, 2018). La proximité génétique des anges de mer échantillonnés ne rend pas compte de l’étendue de la variabilité génétique de l’espèce et limite l’analyse de la phylosymbiose à l’échelle intraspécifique. Étendre donc l’étude à d’autres populations de *Squatina squatina*, tel que celles aux Canaries et en mer d’Irlande (Hiddink et al, 2019 ; Meyers et al, 2016), pourrait permettre d’approfondir cette observation. Relativement peu d’études se sont intéressées à la phylosymbiose à l’échelle de la même espèce, voire de la même population ; parmi elles, Wood et al (2022) ont examiné le microbiote de

l'algue brune *Phyllospora comosa*, en prenant en compte des marqueurs génétiques, mais aussi divers traits phénotypiques et pour un effort d'échantillonnage étendu. La variabilité du microbiote de l'espèce est ainsi largement expliquée par le site géographique, et dans une moindre mesure le génotype et le phénotype des hôtes. Cela suggère que ce sont les conditions environnementales qui impactent le plus la variabilité des microbiotes à l'échelle d'une seule espèce, ce qui est conforme avec ce qui est observé pour les anges de mer. De la même façon, dans leur étude du microbiote de trois espèces d'éponges, Diez-Vives et al (2020) ont échantillonné des populations isolées et ont décelé l'existence de phylosymbiose au sein de chacune des espèces.

La dynamique des microbiotes est non seulement influencée par les facteurs abiotiques de l'océan, mais aussi par les communautés microbiennes environnantes (Bell et al, 2024 ; Kohl, 2020). Pour mieux comprendre les déterminants de microbiotes cutanés, il serait intéressant de les comparer aux communautés microbiennes de l'eau et des sédiments puisque *Squatina squatina* est un requin benthique, mais aussi aux paramètres physico-chimiques de l'eau. En effet, d'après la méta-analyse de Bell et al (2024), la concentration en dioxygène et dans une moindre mesure la salinité et le pH sont corrélés aux microbiotes cutanés de poissons téléostéens, ce qui pourrait potentiellement s'appliquer à d'autres organismes marins.

Dans cette même étude de Bell et al (2024), les microbiotes de téléostéens sont largement **dominés par les *Gammaproteobacteria***. Si cette classe de bactéries est largement répandue dans le milieu océanique, elle est particulièrement prédominante dans les microbiotes d'animaux marins (Chiarello et al, 2017 ; Chiarello et al, 2020 ; Doane et al, 2020 ; Sadeghi et al, 2023). Ce résultat est similaire avec ce qui a été trouvé pour l'ange de mer, mais aussi avec chez *Carcharhinus melanopterus* (Pogoreutz et al, 2019) et la plupart des espèces d'élaémobranches étudiées ici. Chez les espèces dont le microbiome est dominé par les *Gammaproteobacteria*, ce ne sont pas les mêmes familles bactériennes qui sont représentées : alors que dans le microbiote de *Squatina squatina* les ***Vibrionaceae* sont majoritaires**, il s'agit des *Peudomonadaceae* chez le requin-léopard *Triakis semifasciata* (Goodman et al, 2020). Le microbiote cloacal de *Squatina squatina* est encore plus enrichi en *Gammaproteobacteria*, ce qui est similaire avec ce qui a été trouvé chez *Carcharhinus plumbeus* et *Carcharhinus obscurus* (Bregman et al, 2023). En outre, des membres du règne des *Archaea* ont été trouvés, bien qu'en proportion très faible ; certains ont été précédemment identifiés dans le microbiote de requins et raies (Caballero et al, 2020 ; Goodman et al, 2020).

VII.D. Résultats des balises

Sur les quatre balises posées en 2023 sur des individus, une a été récupérée après décrochage rapide, deux n'ont jamais émis de signal et une est remontée et a émis comme prévu le 6 février 2023. Sa localisation très au large n'a toutefois pas permis de la retrouver. Le premier mâle balisé au large de Bastia à quant à lui été pris dans des filets de pêche et a été relâché vivant le 4/09/2023 à 3km du site de déploiement.

Le Tableau 13 synthétise les informations concernant les balises.

Tableau 13 : Date de déploiement des balises X-tags sur les différents individus.

Date	ID balise	Site de déploiement	ID individu	Sexe	Taille (cm)	Retour des balises après les déploiements	Commentaires
26/05/2021	209177	Estuaire du Golo 9 34,305 42 28,825	SSC20210506_1	Femelle	Longueur : 106 Largeur : 60	Émission de signal le 04/06/2021 Balise récupérée	Se détache à cause de la programmation : pression constante
26/05/2021	209176	Estuaire du Golo 9 34,305 42 28,825	SSC20210506_2	Mâle	Longueur : 108 Largeur : 63	Émission de signal le 29/05/2021 Balise récupérée	Se détache à cause de la programmation : pression constante
06/04/2022	209176	Large d'Aléria 9 34,1416 42 03,5994	SSC-06042022-01F	Femelle	Longueur : 110 Largeur : 69	Balise non récupérée. Localisation inconnue, pas d'émission de signal	
06/04/2022	209177	Large d'Aléria 9 34,1416 42 03,5994	SSC-06042022-01M	Mâle	Longueur : 110 Largeur : 68	Balise non récupérée. Émission de signal le 06/02/2023.	Données récupérées.
14/04/2022	209178	Large de Biguglia 9 35,018 42 35,401	SSC-11042022-02M	Mâle	Longueur : 70 Largeur : 38	Balise non récupérée. Localisation inconnue, pas d'émission de signal.	Pêché et remis à l'eau le 4/09/2022 à 3 km du site de déploiement
14/04/2022	209179	Large de Biguglia 9 35,018 42 35,401	SSC-11042022-02M	Mâle	Longueur : 70 Largeur : 38	Balise récupérée le 15/04/2023	La balise s'est détachée et a été récupérée sur le site le lendemain

VII.D.1. Résultats des premières balises posées en 2021.

Les premières balises posées en 2021 sur un mâle et une femelle se sont respectivement détachées au bout de 3 et 9 jours. Les détachements rapides des deux balises sont dus à la programmation d'un seuil de sécurité permettant d'éviter la perte de la balise (détachement en cas de profondeur constante sur trois jours, équivalent souvent à une mort de l'individu) mais qui s'est révélée non pertinente dans le cas de *Squatina squatina* par manque d'informations existant sur son comportement. Il est désormais clair que le requin ange peut rester immobile au moins trois jours, certainement embusqué dans l'attente d'une proie.

Les résultats de la balise étant restée le plus longtemps lors de la première pose (2021) indiquent des tendances sur le comportement de la femelle marquée. Sur la Figure 55 la **température semble rester constante** (environ

18°C) alors que la profondeur à laquelle varie l'individu est comprise entre **-25 et -60 mètres**. Ces observations sont cohérentes avec les autres études faites sur cette espèce dans les îles Canaries par Meyers et al. (2017).

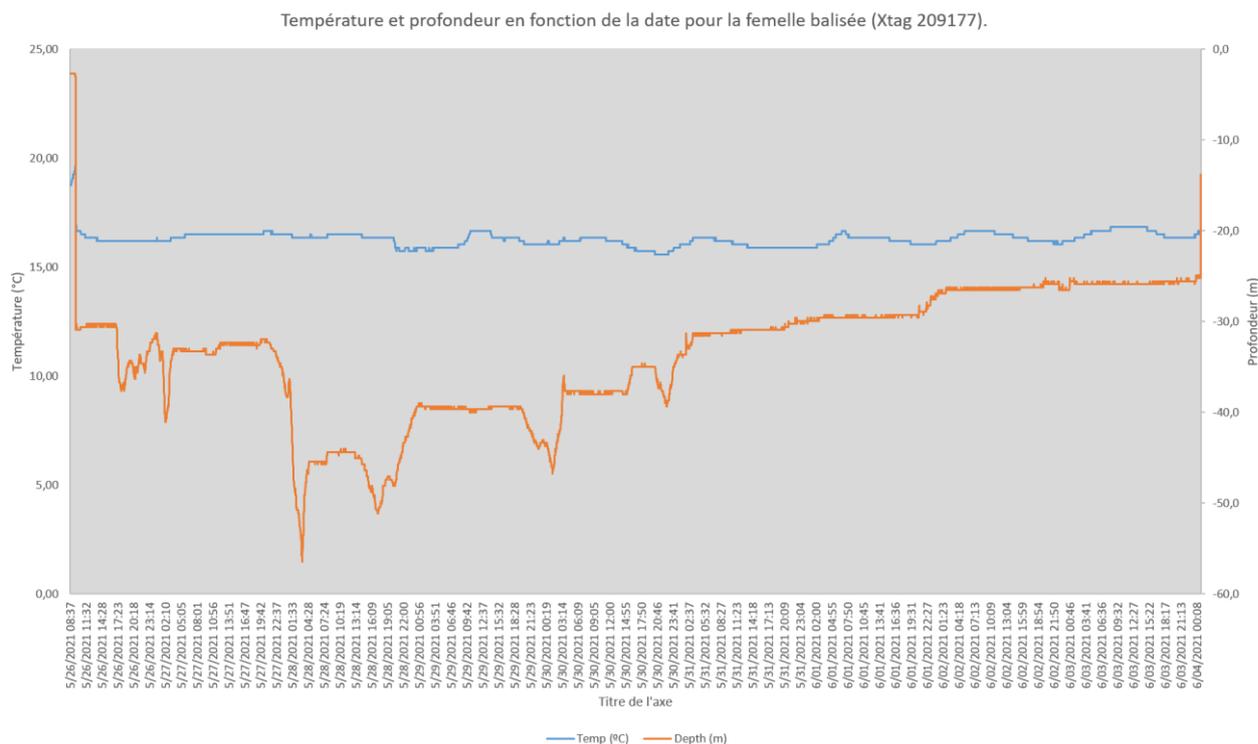


Figure 55 : Évolution de la température (en bleu) et de la profondeur (en orange) auxquelles la femelle marquée a évolué entre le 26 mai et le 4 juin 2021.

VII.D.2. Résultats des balises posées en 2022

Les balises ont de nouveau été fixées sur une femelle et trois mâles le 6 et 14 avril 2022, après une reprogrammation (enlèvement du seuil de sécurité). Une des balises posées sur un mâle a été retrouvée sur le site de marquage par des plongeurs de l'équipe.

Le 4 septembre 2022, un pêcheur professionnel de Bastia a capturé et relâché vivant un des *Squatina squatina* balisés en limite inférieure d'herbier à -34,5 m. Ce pêcheur a pu partager les coordonnées GPS du lieu de capture qui se trouve en limite inférieure d'herbier à 3 km du site de marquage et de relâché en avril 2022 (Figure 56). Cela confirme que la population de *Squatina squatina* en Corse semble être fidèle à une zone du printemps à l'automne.

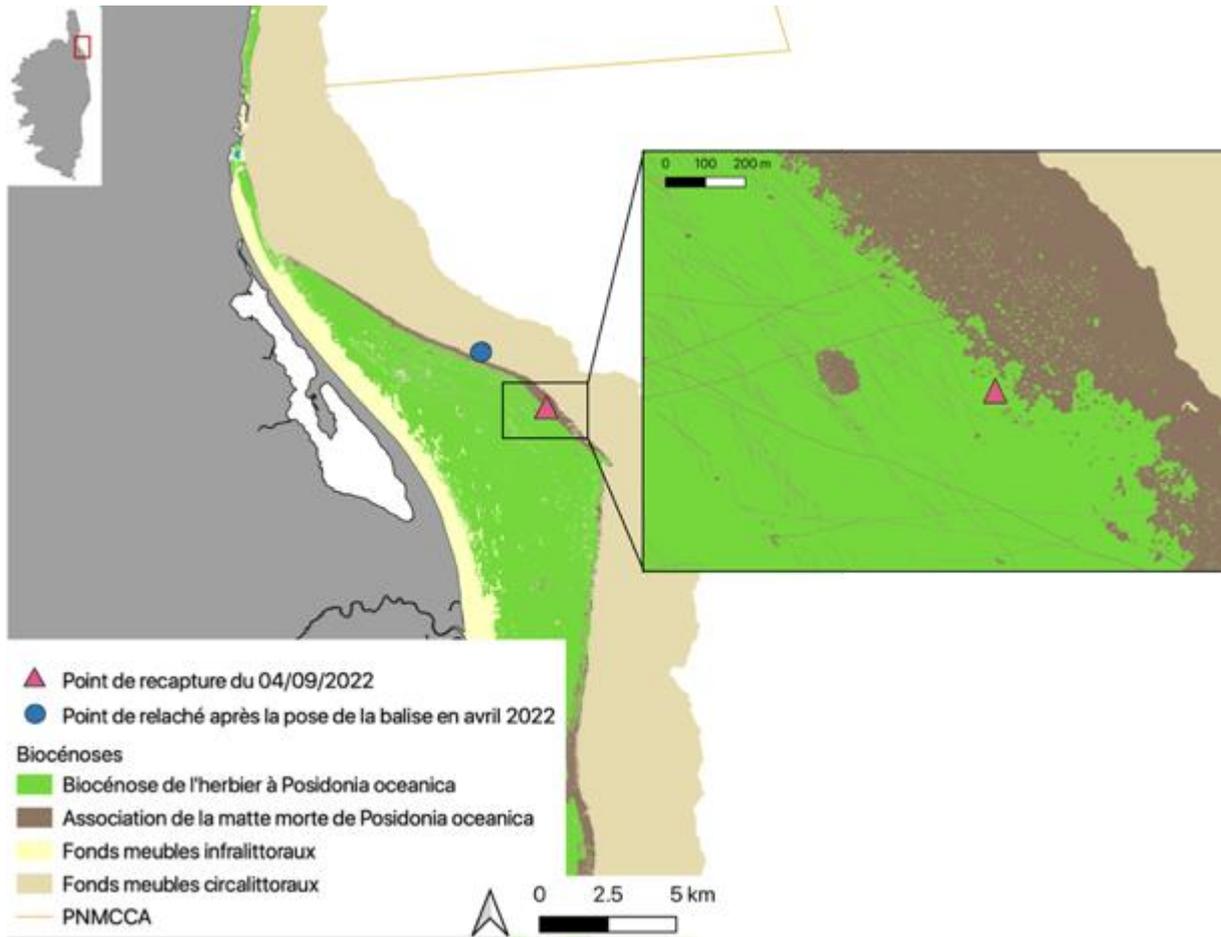


Figure 56 : Site de relâché des trois individus marqués en avril 2022 (rond bleu) et le site de recapture d'un de ces individus en septembre 2022 par un pêcheur professionnel (triangle rose). La nature des substrats y est également représentée (données Biocénoses de DONIA expert).

Seule la balise déployée le 06/04/2022 au large de Biguglia sur un **ange de mer commun mâle adulte de 110 cm de long et de 68 cm d'envergure** (N° d'identification de l'individu : SSC-06042022-01M) a émis 10 mois après son déploiement, le 06/02/2023. Géolocalisée très au large entre l'Italie et la Sardaigne, cette balise n'a pas pu être récupérée dans le temps d'émission que lui permettait sa batterie (2 semaines) en raison des conditions météorologiques.

Les données envoyées aux satellites CLS ont été récupérées. **Seulement 20% des données ont pu être récupérées**. Sur environ 750 messages transmis par la balise, près de 500 présentaient un certain degré de corruption. Microwave les a ensuite traitées et nettoyées pour nous permettre de les analyser.

Les enregistrements des mesures de profondeurs et de températures **ont commencé le 09/04/2022, soit trois jours après le déploiement de la balise**. D'après les enregistrements, la **balise s'est détachée de l'animal entre le 14/10/2022 et le 16/10/2022**. Les données enregistrées correspondent donc aux profondeurs et aux températures associées aux déplacements de l'ange de mer durant **6 mois et une semaine (33 semaines)**.

Localisation :

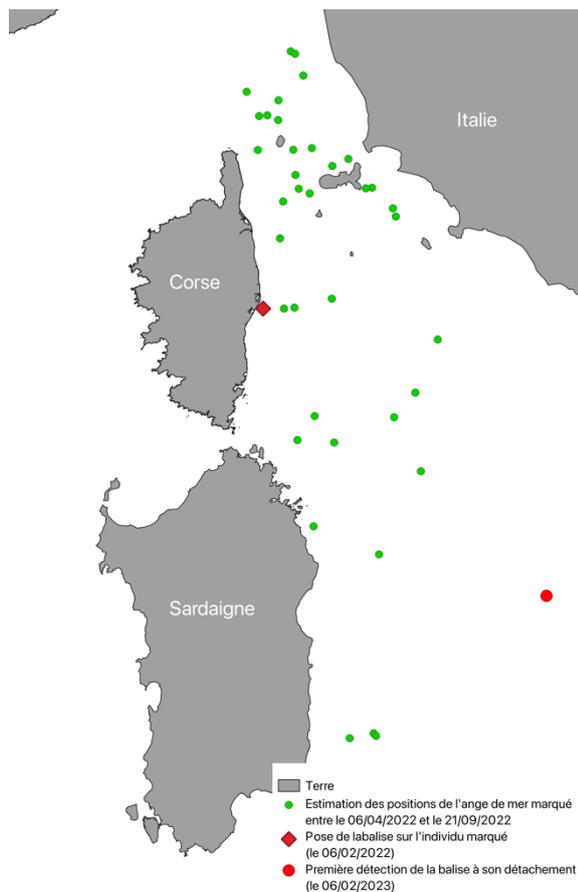


Figure 57 : En vert ce sont les positions estimées de l'ange de mer balisé entre le 06/04/2022 et le 21/09/2022. Le lieu de pose de la balise sur l'individu (losange rouge) et la point GPS où la balise a émis 10 mois après la pose (point rouge) y sont représentés.

La balise est conçue pour estimer des positions géographiques de l'animal à partir d'un algorithme calculant les heures de lever et de coucher du soleil. **Ces positions ne sont pas précises.**

En effet, les coordonnées GPS sont calculées en **fonction de la longueur du jour** (latitude) et **l'heure à laquelle la position du soleil est au midi** (longitude).

Cependant les longueurs du jour sont identiques aux équinoxes de printemps et d'automne. Par conséquent, les estimations de latitudes basées sur la lumière à proximité de l'équinoxe ne sont pas fiables. De plus, certains paramètres écologiques de l'espèce et des paramètres environnementaux peuvent altérer l'estimation des positions tels que la turbidité du milieu, les migrations verticales de l'individu marqué ou encore la période de l'année.

En général, l'estimation de la longitude est plus régulière et plus fiable que l'estimation de la latitude.

Compte tenu de la fréquence d'échantillonnage de deux minutes du X-Tag, les points de latitude et de longitude estimés **sont au mieux précis à $\pm 1^\circ$ pour la latitude et à $\pm 0,5^\circ$ pour la longitude.**

En connaissant l'écologie de l'ange de mer commun, il est clair que son mode de vie n'aide pas à la bonne réception des rayons lumineux car il reste sur le substrat à des profondeurs importantes où les rayons du soleil sont filtrés par la colonne d'eau.

Les positions estimées aberrantes ont été supprimées (e.g. certains points géographiques se trouvaient dans la Manche ou même sur terre). Malgré la faible certitude des positions GPS, la Figure 57 représente les positions estimées de l'individu marqué entre le 06/04/2022 et le 21/09/2022. **Les points y sont assez rapprochés et concentrés sur la partie est de la Corse, ce qui semble indiquer une certaine sédentarité de l'individu.**

Profondeur :

Entre avril et octobre 2022, le mâle SSC-06042022-01M a évolué entre -67 m et -20 m de profondeur en passant la majorité de son temps entre -30 et -40 m (Figure 58). Le milieu le moins profond (i.e. au-dessus de -30 m) est uniquement fréquenté durant l'été entre le 16/05/2022 et le 14/07/2022 hormis une brève incursion le 24/09/2022. La zone la plus profonde (i.e. au-delà de -50 m) est fréquentée après la pose de la balise (du 9/04/2022 au 23/04/2022) et plus tard, à partir du 11/09/2022. Les déplacements entre tranches de profondeurs se font généralement sur plusieurs jours (Figure 59). L'individu est également capable de faire une migration verticale en descendant de 10 m en maximum 1h. Par exemple, le 25/06/2022 la profondeur enregistrée par la balise à 10h30 est de -24,9 m et descend à -35 m à 11h30, puis l'ange de mer a continué sa descente jusqu'à -39,7 m (12h30).

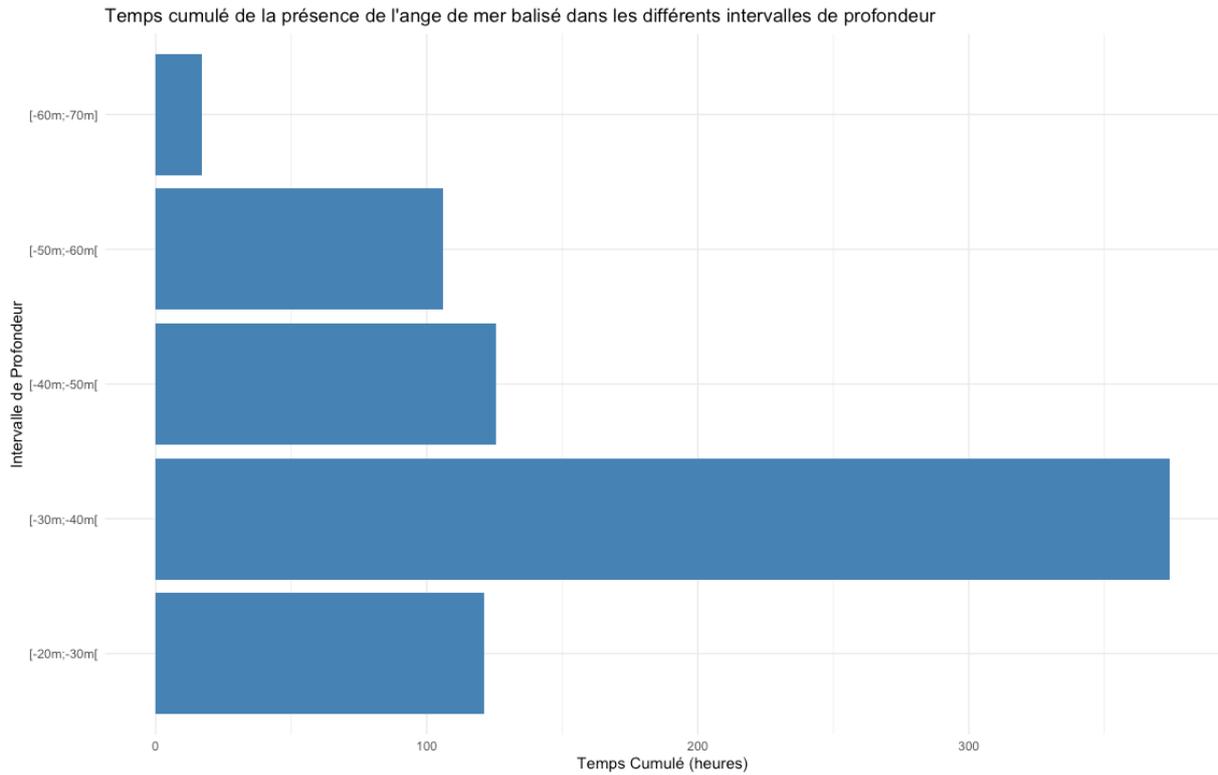


Figure 58 : Temps cumulé de la présence de l'ange de mer balisé dans chaque intervalle de profondeur. Il n'y a pas de différence significative ($p=0,4$).

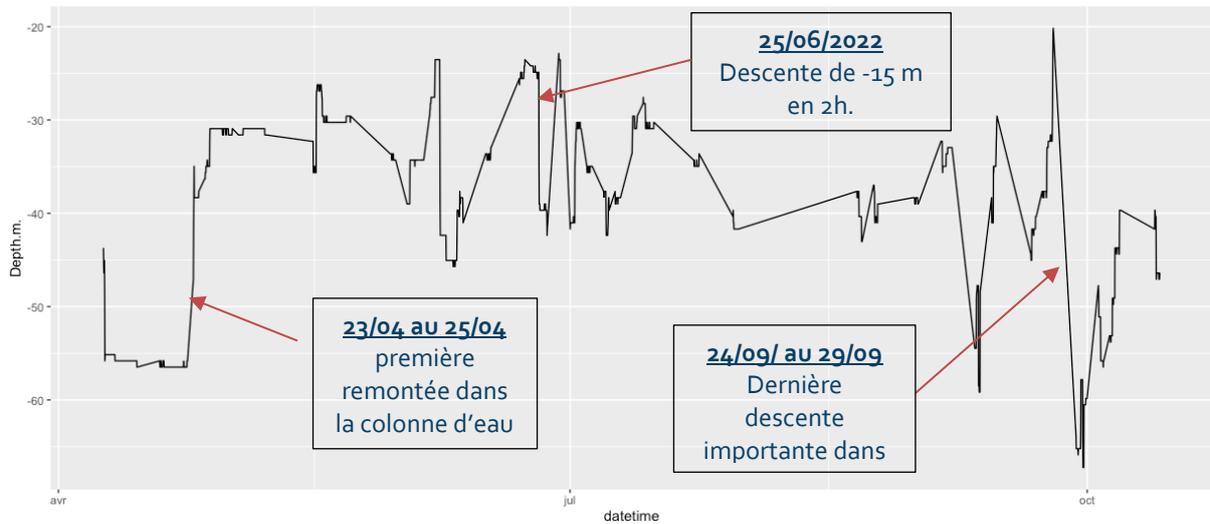


Figure 59 : Profondeurs enregistrées par la balise en fonction du temps.

Il n'y a pas d'effet de la tranche horaire sur la profondeur fréquentée par l'ange de mer ($p=0,92$) ; la médiane de profondeur jour et nuit est la même (de -35,6 m). Au crépuscule la médiane de profondeur est moins importante (-34,9) et à l'aube la profondeur médiane augmente à -36,6 m (Figure 60).

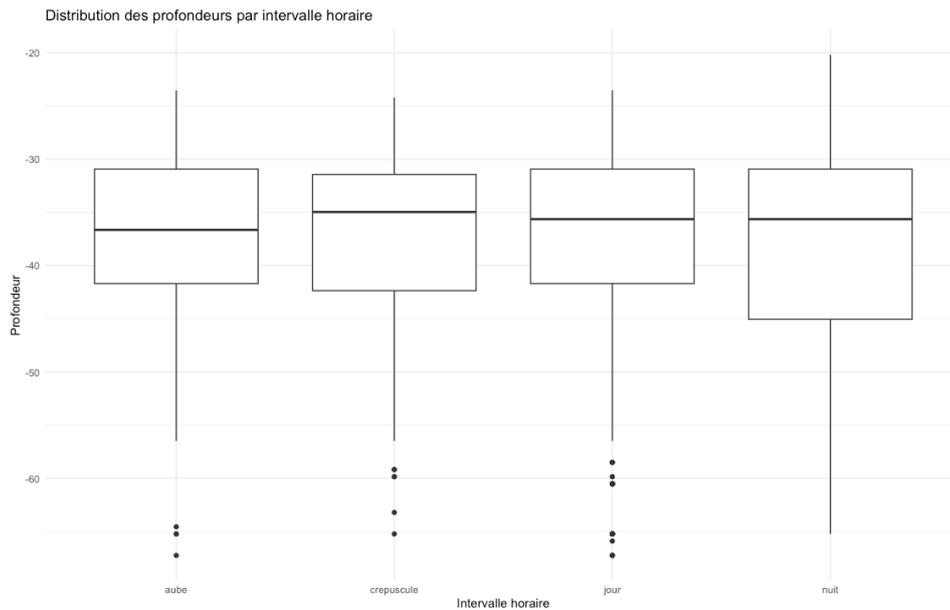
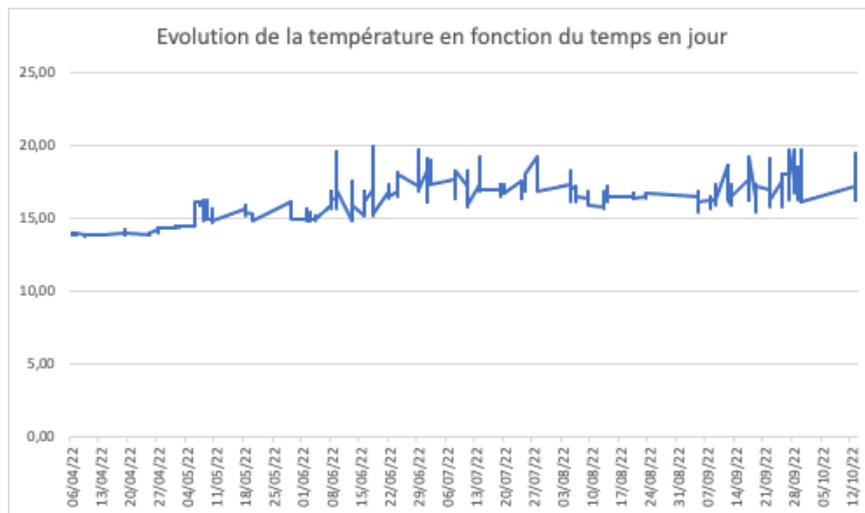


Figure 6o : Profondeurs enregistrées par la balise en fonction des intervalles de temps de 6h : de minuit à 6h, de 6h à 12h, de 12h à 18h et de 18h à minuit.

Bien que les balises de 2021 et 2022 ne soient pas restées sur l'animal pendant une même durée, les intervalles de profondeur occupés par les deux individus sont très proches. **Le mâle balisé en 2022 reste entre -67 m à -20 m et la femelle balisée en 2021 reste entre -60 m à -25 m.**

Température :

La **température médiane enregistrée est de 16,36°C** avec une **minimale de 13,69°C** et une **maximale de 19,68°C**. A partir de début mai, l'individu reste dans des eaux entre 15 et 18 °C avec une incursion à 20°C.



Aucune différence significative de température n'a été montrée ($p=0,33$) entre les moments de la journée (tranches horaires).

D'autres intervalles d'heures listées ci-dessous ont été testés :

- De minuit à 6hoo
- De 6hoo à 12hoo
- De 12hoo à 18hoo

- De 18h00 à minuit.

Le test de Kruskal indique qu'il y a une différence significative de température en fonction de ces quatre intervalles ($p=0,03$). Le test de Dunn montre que seul l'intervalle de minuit à 6h est significativement différent des intervalles de 12h00 à 18h00 ($p=0,02$) et de 18h00 à 00h00 ($p=0,001$) (Figure 61).

Les températures enregistrées entre minuit et 6h sont plus chaudes avec une moyenne de $16,28^{\circ}\text{C}$ contre $16,18^{\circ}\text{C}$, $16,11^{\circ}\text{C}$ et $16,01^{\circ}\text{C}$ pour les autres intervalles dans l'ordre chronologique.

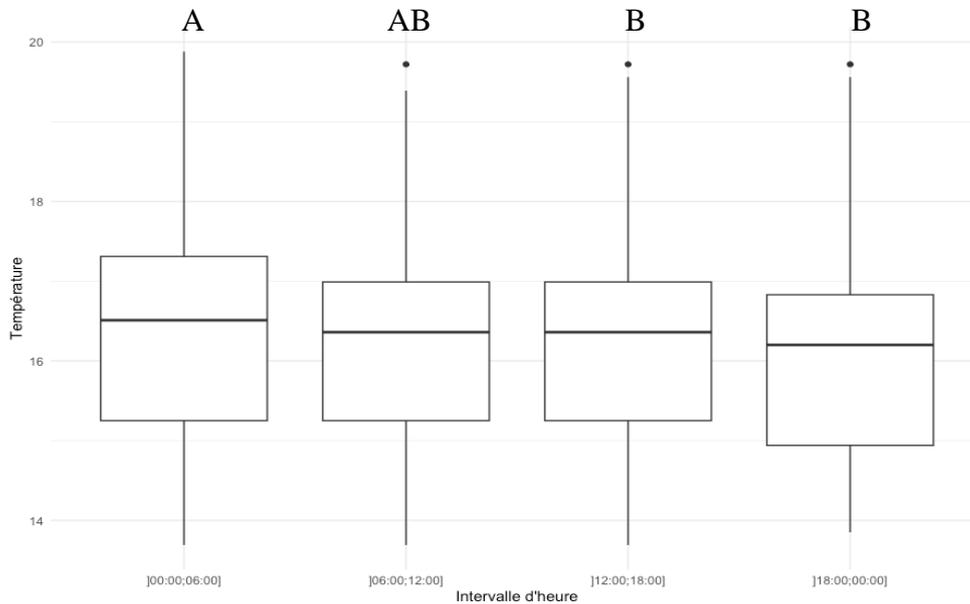


Figure 61 : Températures enregistrées par la balise en fonction des intervalles de temps de 6h : de minuit à 6h, de 6h à 12h, de 12h à 18h et de 18h à minuit. Les lettres A et B représentent un groupe d'intervalles significativement identiques.

La Figure 62 représente la température en fonction de la profondeur. Il n'y a pas de corrélation visible ($c=0,3$). Cela indique que l'ange de mer est actif dans la gamme de profondeur fréquentée, c'est « un choix de déplacement qu'il fait » pour rester dans sa gamme de préférence de température.

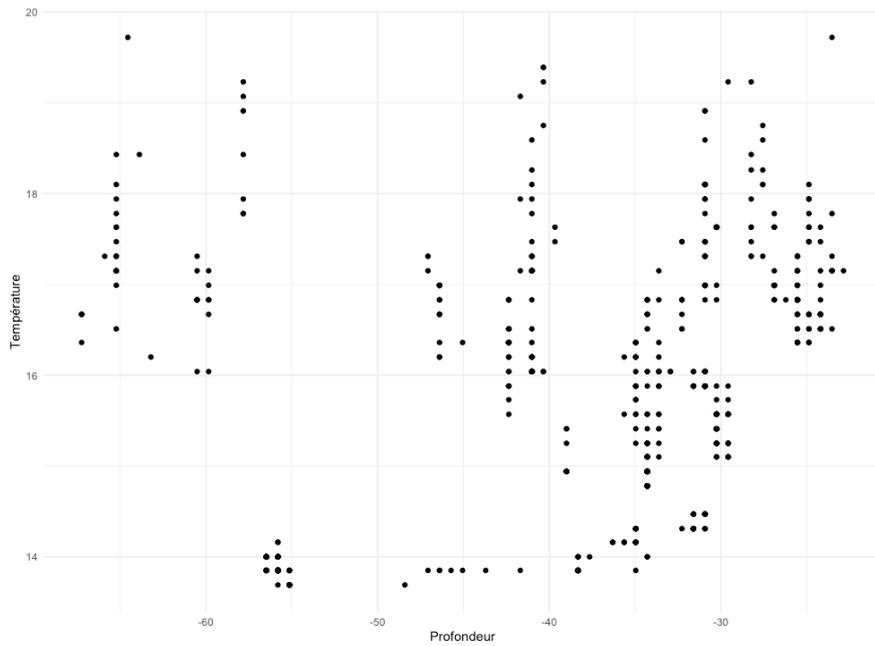


Figure 62 : Température en fonction de la profondeur.

La comparaison des trois variations de la température en fonction du temps permet d'observer que les températures enregistrées par la balise restent majoritairement entre 15°C et 20°C alors que les températures de fond et de surface augmentent dès le début de l'été (Figure 8).

Cela indique que l'optimum de température pour cet individu est entre 15°C et 20°C et qu'il se déplace dans la colonne d'eau et géographiquement pour rester dans cet optimum environnemental.

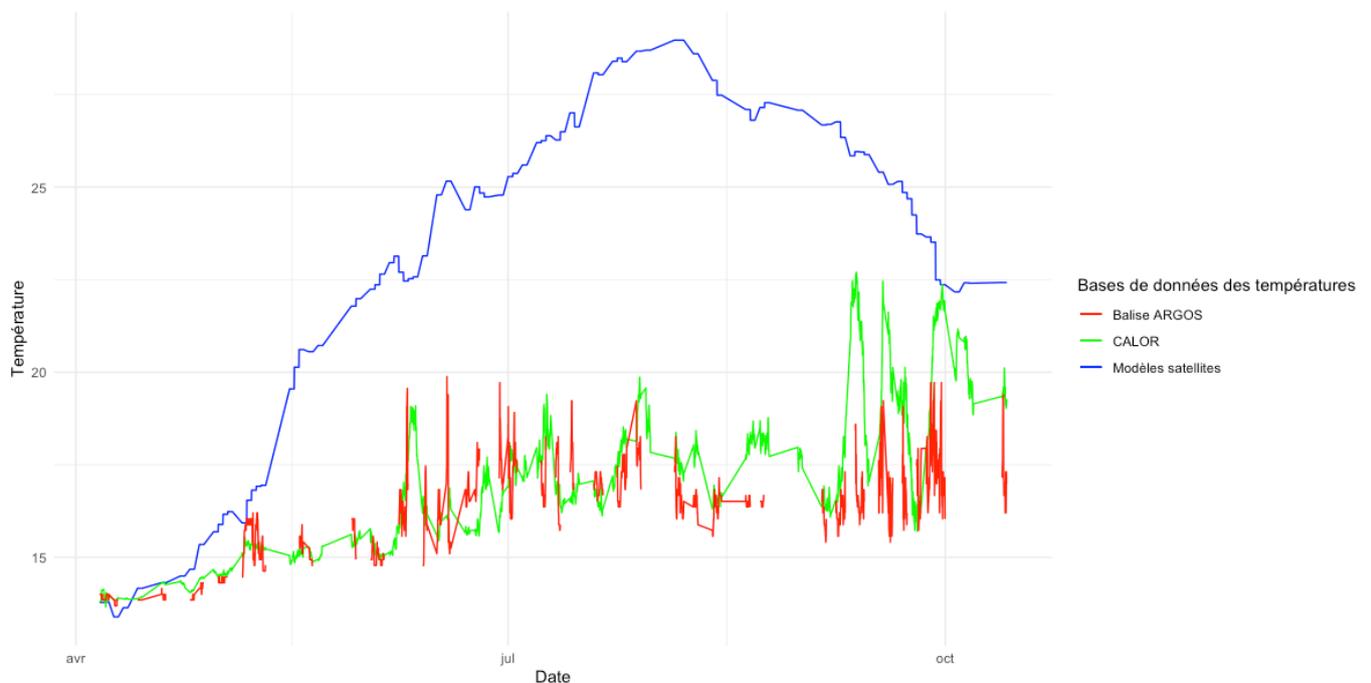


Figure 63 : Variations de la température issues des différents outils de mesure en fonction du temps. En rouge sont représentées les températures par heure mesurées par la balise ARGOS attachée à l'ange de mer. En vert sont représentées les moyennes par heure des températures enregistrées par le réseau de surveillance CALOR en limite inférieure d'herbier, coralligène et fond meuble. Enfin, les moyennes par heure des températures de surfaces issus des modèles satellites sont représentées en bleu.

Les médianes des températures enregistrées par les balises en 2021 et en 2022 sont identiques : 16,36°C. Les intervalles de température enregistrés par ces balises sont également très proches, de 15,57°C à 19,72°C en 2021 et de 13,69°C à 19,68°C en 2022.

Cette balise restée fixée durant 33 semaines en 2022 sur l'animal nous indique que **l'individu a évolué entre -20 m et -67 m de profondeur** en restant à une **température moyenne de 16°C**. Les grands deltas de profondeur se font sur plusieurs jours.

Ces résultats confirment les premiers résultats obtenus en 2021 : l'intervalle de profondeur occupé par les anges de mer commun en Corse est d'environ -65 m à -20 m avec une préférence de profondeur entre -40 m et -30 m et la température optimale pour cette espèce est de 16,36°C avec un intervalle de 13,69°C à 19,72°C.

Faire connaître l'ange de mer (objectif 3 du projet)



En plus de ce rapport détaillé et de l'enquête en ligne (ainsi que sa communication) qui a sensibilisé des pêcheurs loisirs, les travaux sont valorisés par des **publications scientifiques**, des **communications orales**, **des podcasts**, des **blogs Youtube** sur la chaîne de Gombessa expeditions, des articles dans des **cahiers de la surveillance MEDTRIX**, et la mise en ligne de certains résultats sur la plateforme MEDTRIX. Par ailleurs, la dernière campagne de terrain a bénéficié d'une **couverture médiatique** sur nos réseaux sociaux avec la diffusion d'un communiqué de presse. Plusieurs articles sont parus dans la presse. Deux **livrets pédagogiques scolaires** ont également été produits à destination des scolaires dans le cadre du projet (voir III).

Ces outils détaillés ci-après permettent d'informer les pêcheurs du statut de conservation de l'espèce et son interdiction de pêche, leur donner envie de faire remonter les témoignages d'observations, mais aussi informer les enfants et le grand public sur le rôle fonctionnel de cette espèce et ses menaces et tout simplement sensibiliser à la démarche scientifique.

Valorisation du projet et des données : synthèse des collaborations pédagogiques et des communications scientifiques

Quatre stages de master et deux stages volontaires ont été réalisés dans le cadre de ce projet :

- Adèle BARROIL, 2021. Étude cartographique et écologique de la dernière zone de présence de l'ange de mer commun (*Squatina squatina*) en Méditerranée française. Mémoire de stage de Master 2
- Nadia FAURE, 2021. Using environmental DNA to estimate the distribution of a critically endangered species in Corsica: the common angelshark (*Squatina squatina*). Mémoire de stage de Master 1
- Bastien MACE, 2021. Application de l'ADN environnemental à l'étude de la diversité génétique intraspécifique en milieu marin. Centre d'Écologie Fonctionnelle et Évolutive (CEFE), Montpellier.

- Marine LOISEL, 2021. Inventaire et comptage des espèces à partir de données vidéos pour le projet ANGE. MARBEC, Montpellier.
- Nadia FAURE, 2023. Genetic structure and diversity of Critically Endangered angelshark (*Squatina squatina*) populations revealed by genome-wide SNP markers, in the Canary Islands and Corsica. Mémoire de stage M2.
- Frederic SALASC, 2024. Caractérisation du microbiote cutané de *Squatina squatina* en Corse et de la phyllosymbiose aux échelles intra et interspécifique. Mémoire de stage M2.

Une **collaboration pédagogique** entre le master « gestion de l'environnement » de l'université de Montpellier et Andromède océanologie a initié un travail de médiation scientifique à destination d'élèves de niveau élémentaire et collège. Quatre étudiants ont participé au projet entre septembre 2021 et février 2022 : Chloé MERRIEN, Théo GRANIER, Mila TROTIER et Alice DE VILLENEUVE.

Deux **publications scientifiques** sont publiées ou prêtes à l'être (sous presse) :

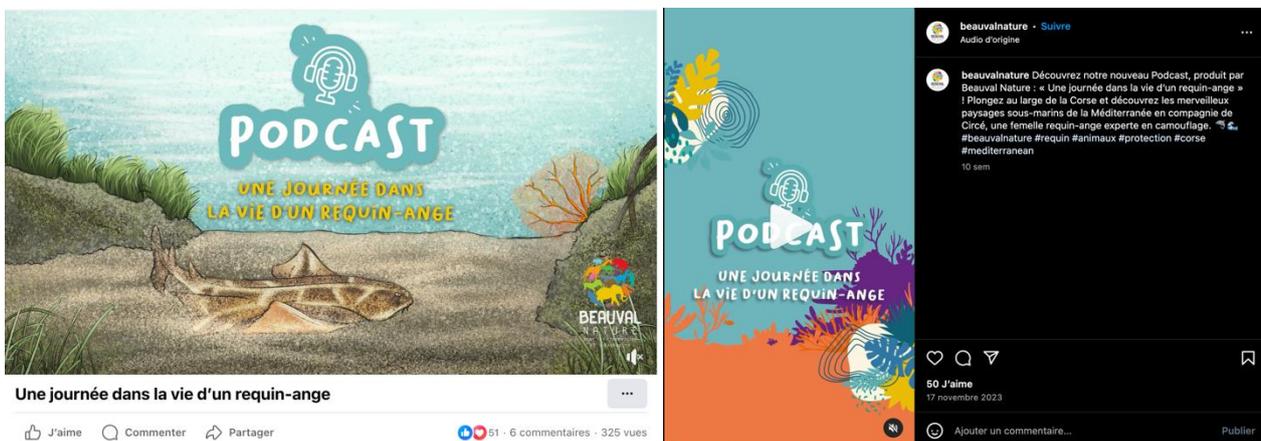
- Nadia FAURE et al, 2023. Rapid detection of the critically endangered angelshark (*Squatina squatina*) in Corsica by environmental DNA barcoding.
- Julie Deter et al, 2024. Gigantic picarel breeding colonies with male nest guarders discovered in the Mediterranean. (ANNEXE 12) -

Deux **publications scientifiques** sont en cours de rédaction :

- Eva K.M Meyers, *et al.*, Distinct management units for the Critically Endangered angelshark (*Squatina squatina*) revealed in the Canary Islands: implications for conservation. Cette publication sera soumise au journal Molecular Ecology en 2024.
- Nadia Faure, Julie Deter & Stéphanie Manel, Fine-scale genetic structure and effective population size of angelsharks (*Squatina squatina*) in Corsica.

Podcast du zoo de Beauval

Le zoo de Beauval a publié sur leur réseaux sociaux ([Facebook](#), 17k followers et [Instagram](#), 3017 followers) un podcast audio sur le l'ange de mer commun en vulgarisant les résultats de cette étude. Ce podcast nommé « Une journée dans la vie d'un requin ange » a été publié le 17 novembre 2023.



Cahier de surveillance MEDTRIX

Le projet ANGE a été présenté dans trois cahiers de surveillance MEDTRIX (envoyé à plus de 3000 utilisateurs). Le premier a été publié en Janvier 2021 dans une édition spéciale (Figure 64), le second publié en août 2022 (Figure 65) et le dernier en juin 2024 (Figure 66).



Figure 64 : Page 2 du cahier de surveillance MEDTRIX l'édition spéciale publiée en janvier 2021



Figure 65 : Page 4 du cahier de surveillance MEDTRIX publié en août 2022



Figure 66 : Page 5 du cahier de surveillance MEDTIRX publié en juin 2024

Livrets pédagogiques et bande-dessinée

Deux livrets pédagogiques spécifiques à l'attention des scolaires ont été créés (Figure 67). Ces livrets ont pour cible les niveaux primaires (ANNEXE 13) et collèges (ANNEXE 14). Leur diffusion est prévue à travers le parc marin (Aire Marine Éducative) ou des évènementiels ponctuels : conférence, exposition, diffusion de films courts...



Figure 67: Visuel du livret scolaire niveau collège

A ce livret pédagogique se rajoute **une bande-dessinée (BD)** (Figure 68) en lien avec l'article de Faure et al 2022. Cette BD (ANNEXE 15) peut être utilisée en versions française, anglaise et corse par des classes de collège et en français par des classes de primaire.

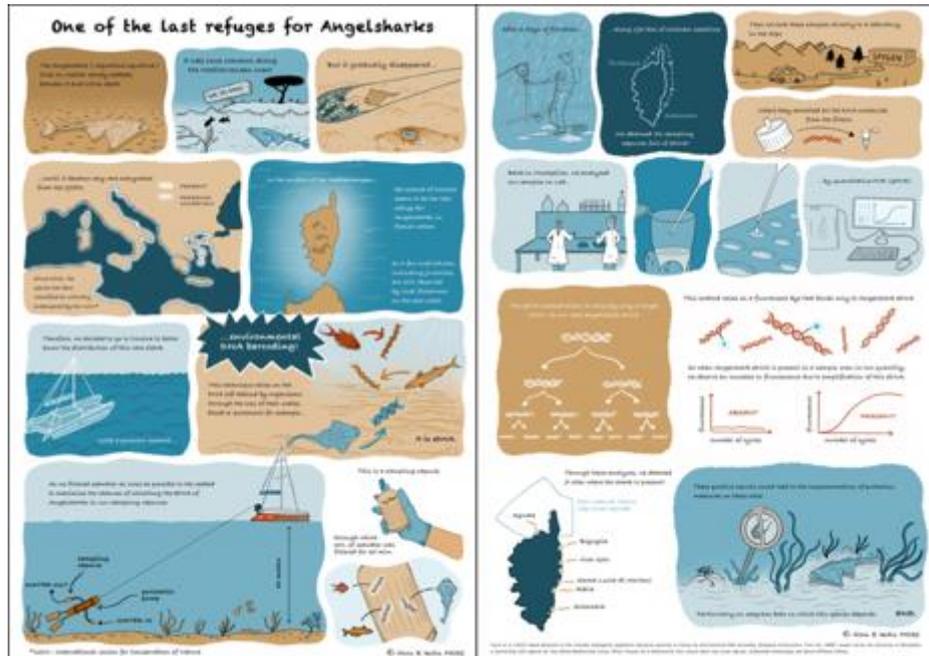


Figure 68 : Visuel de la bande-dessinée version anglaise

Présentations publiques et vidéos

Sept présentations publiques du projet ont déjà eu lieu :

- Présentation du projet par Céline van Klaveren (Gouvernement Monaco) à l'atelier de la CMS (**convention espèces migratrices**) sur les anges de mer le 15/04/21
- Présentation du projet par J. Deter au **AngelShark day** (26/06/21)
- Présentation des résultats ADNe par J. Deter à la **Journée ADNe en mer Méditerranée** organisée par le laboratoire commun DIAGADN à Montpellier (1/06/2022)
- Présentation des résultats par J. Deter au **AngelShark day** (26/06/23)
- Une présentation du projet et des premiers résultats a été réalisée au **Salon National des Professionnels de l'Ecologie et de la Biodiversité au parc des Expositions de Montpellier** (du 27 au 29 octobre 2022) (<https://salon-adnatura.com/>) (Figure 69), et un stand de sensibilisation a été effectué lors de ce salon en association avec l'association Ailerons.
- Une présentation des résultats de la publication de Nadia et al., 2023 par J. Deter au « **Joint meeting, International Conference on Ecological Sciences** » organisé par SFE² GFO EEF en novembre 2022 à Metz
- **Une rencontre avec deux classes de CM2** faite le 01/02/2024 à Sète pour une projection des vlogs au cinéma Comoedia.

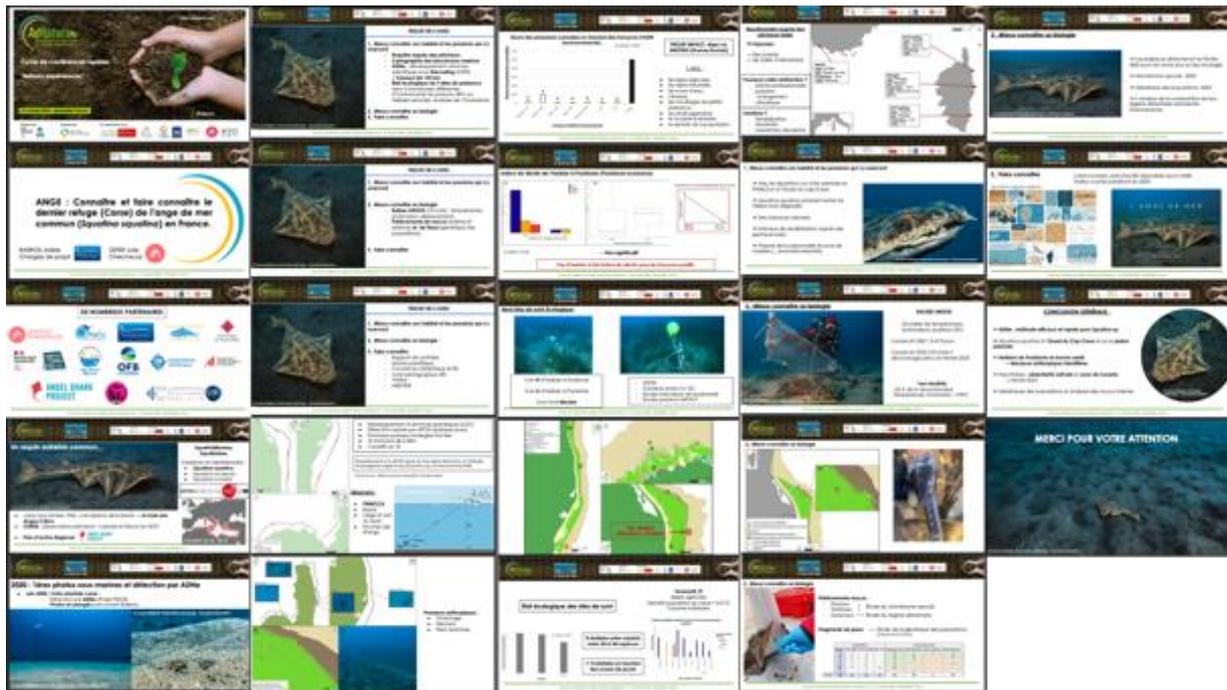


Figure 69 : Visuel du diaporama fait pour la présentation au Salon National des Professionnels de l'Ecologie et de la Biodiversité au parc des Expositions de Montpellier le 28 octobre 2022

Des interviews de pêcheurs et de scientifiques ont été réalisées en mars 2022 pour la réalisation de **5 vlogs dont un spécialement dédié au jeune public**. Ces derniers présentent le projet ANGE avec sa problématique, tout en expliquant les expériences faites sur le terrain. Les premiers résultats y sont également présentés. Cette série de vlog nommé « **Des anges et des nids** » est disponible sur la chaîne YouTube de [Gombessa expéditions](#) depuis Juin 2023 (Figure 70). La **série comptabilise au total 12 600 vues** (le 24/06/2024). Cette chaîne YouTube comptabilise 4 740 abonnements et avec un nombre maximum de 20 000 vues sur le teaser de Gombessa V.



Figure 70 : Série de 5 blogs « Des Anges et des nids » disponible sur la chaîne YouTube de Gombessa Expedition.

Valorisation médiatique

Un article sur l'ADNe dans le **journal Reporterre** est apparu en juin 2022 (<https://reporterre.net/L-ADN-environnemental-fascinante-technique-pour-decouvrir-des-especes-marines>). Dans cet article Julie Deter et David Mouillot expliquent ce qu'est l'ADN environnemental et les avantages de cette méthode en prenant notamment l'exemple du projet ANGE qui l'utilise pour détecter cette espèce rare et compliquée à observer.

De plus, le magazine « **Sauvons l'eau** » de l'agence de l'eau Rhône-Méditerranée-Corse a publié le 6 juillet 2022 un article sur le projet : « Exploration : les eaux corses, refuges des anges de mer et des picarels ». (https://www.sauvonsleau.fr/jcms/e_27583/exploration--les-eaux-corses-refuges-des-anges-de-mer-et-des-picarels#.YvOvLOxBwWp/).

The **Washington Post** a publié un article en septembre 2023 sur l'ADNe en mettant également les résultats du projet ANGE. (<https://www.washingtonpost.com/climate-solutions/interactive/2023/edna-angel-shark-biodiversity/>)

Julie Deter a été interviewée pour présenter cette étude en juillet 2022 pour France Bleu Corse (<https://www.francebleu.fr/infos/societe/des-balises-sur-4-requins-ange-de-mer-en-corse-une-espece-menacee-d-extinction-1656586487>) et en novembre 2022 pour la radio nationale allemande lors d'un reportage sur les requins.

Une participation à un documentaire sur les nouvelles technologies pour étudier la biodiversité est prévu en 2024 pour la chaîne télévision ARTE.



La mer sans les Hommes

Publié par l'Université de Montpellier UMC le 8 septembre 2020 - 4 min



Que se passe-t-il en mer quand l'Homme est chassé du littoral ? Une mission unique, menée par des chercheurs du **laboratoire Biodiversité marine, exploitation et conservation (MARSEC / Université de Montpellier, IRD, CNRS, Ifremer)**, doit permettre d'évaluer le retour de la faune marine en période de confinement.

Pas un bateau à portée de vue. Des plages désertées. Personne en mer. Personne sauf l'équipe de David Moullot et Julie Deser avec leurs chercheurs, techniciens et plongeurs. « Nous avons vécu des heures fatigantes, de fin du monde. Le littoral complètement vide, c'était du jamais vu », raconte le biologiste marin. Cette équipe fait partie des rares élus qui ont pu sillonner la Méditerranée pendant cette période très particulière du confinement. Objectif : étudier la biodiversité marine en l'absence de toute activité humaine.

État de référence

« C'était une formidable occasion d'évaluer un état de référence du milieu marin préservé temporairement de la présence humaine. Cette référence permettra notamment de mesurer plus précisément l'état de dégradation de la biodiversité marine et l'effet des pressions mises en place ». Avant ces épisodes de confinement, seuls les réseaux gouvernementaux d'avoir un aperçu de ce qu'est la mer sans les Hommes. « Un aperçu très approximatif car comme nous l'avons déjà mentionné, seuls les rares observateurs situés loin de l'Homme ont suffisamment égarés, les autres n'étaient qu'un pâle reflet de ce que serait la biodiversité en l'absence de présence humaine » souligne David Moullot.

En partenariat avec **Andromède Océanologie** et **SpyGen**, deux entreprises en lien direct avec l'UMC et MARSEC, le financement de l'Agence de l'Eau, et le feu vert de la préfecture maritime, une dizaine de scientifiques ont embarqué pendant 7 mois et demi pour une campagne d'observation unique. « Grâce aussi à l'implication et la stabilité de l'Université de Montpellier et de notre laboratoire qui nous ont soutenus dans ce projet audacieux ».

Un projet audacieux

Une fois en mer, l'équipe a déployé plusieurs types d'outils pour appréhender la diversité marine. « Des outils vivants d'une part, grâce aux plongeurs sous-marins qui ont filmé des images exceptionnelles ». Les chercheurs ont également utilisé des hydrophones pour écouter les bruits de la mer. « En temps normal ces enregistrements sont perturbés par les bruits humains comme les moteurs de bateau », explique David Moullot.

L'expédition a enfin utilisé un outil innovant développé avec la société SpyGen : l'analyse de l'ADN environnemental. Le principe : filtrer des échantillons d'eau afin de récupérer l'ADN qui y a été laissé par les organismes vivants. Cet ADN est ensuite comparé avec une base de référence afin de savoir à quelles espèces l'ADN se rapporte. « Cette technique permet de vérifier la présence d'espèces rares ou éphémères que l'on ne voit jamais en plongée, près des chercheurs. On pourra ainsi savoir si des espèces globalement présentes au fond ou au large se sont rapprochées lors du confinement, voire commencer à braver des changements de comportement ».

Des images exceptionnelles

Cet inventaire, cette même équipe l'avait déjà effectué en Méditerranée aux printemps 2018 et 2019, périodes auxquelles le confinement relevait encore de la science-fiction. « Une chance ! Nous allons ainsi pouvoir comparer vraiment l'état de la biodiversité marine à la même période avec ou sans activité humaine ».

S'il faudra attendre quelques temps avant d'avoir les résultats des analyses d'ADN environnemental, la mission a d'ores et déjà révélé une Méditerranée qui a bien profité de l'absence de l'Homme. En témoigne ce requin, l'ange de mer (*Squatina squattina*), évoluant tranquillement sous la caméra du plongeur Laurent Ballesta. « Une espèce qui n'avait pas été observée depuis des années en Méditerranée occidentale ! », s'enthousiasme David Moullot. Des premiers résultats qui en disent déjà long sur l'impact des activités humaines. « Pêcher, faire de la plaisance, mais aussi simplement se baigner, toutes ces activités ont des conséquences sur les habitants du littoral qui se sont sûrement déconfinés pendant notre confinement ».

De la crevette au cachalot, le chœur battant de l'océan

LES Océanographes ont découvert que les baleines à bosse, les cachalots et les baleines à bec ont des voix très variées, allant du simple « clic » au « clic » complexe, en passant par des « clics » complexes et des « clics » complexes.

Le homard bourdonne, le morse en rit et émet des sons de cloche, les baleines vocalisent... Quels messages cherchent-ils à transmettre ? Des chercheurs s'évertuent à traduire la faune sous-marine, menacée par le bruit des activités humaines.

Les baleines à bosse, les cachalots et les baleines à bec ont des voix très variées, allant du simple « clic » au « clic » complexe, en passant par des « clics » complexes et des « clics » complexes.



Quand l'homme disparaît, la faune s'en remet

Près de 100 jours de silence ont été observés au large de l'île de la Réunion, à l'occasion de la mise en place d'un parc national marin. Les chercheurs ont constaté que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Mais les scientifiques ont également constaté que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.



Après 100 jours de silence, les chercheurs ont constaté que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont constaté que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont constaté que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont constaté que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont constaté que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

EVENEMENT

Les géophysiciens ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les géophysiciens ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les géophysiciens ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les géophysiciens ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les géophysiciens ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les géophysiciens ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les géophysiciens ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les géophysiciens ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

«Songs of the Humpback Whale», cétacés cultes

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.



«Le son peut plonger dans l'océan et remonter 60 kilomètres plus loin»

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Les chercheurs ont découvert que la faune sous-marine s'est remise de la disparition de l'homme.

Sensibil

Des balises sur 4 requins "ange de mer" en Corse dernier refuge pour l'espèce menacée d'extinction

Mercredi 3 juin 2022 à 8:04 - Par Antoine Bustin, France Bleu 2022

Corse



Laurent Ballesta, le « plongeur des abysses » avait eu, il y a deux ans, la surprise de plonger avec ce requin que l'on pensait disparu sauf en Corse.



Photo d'archive: Ange de mer, Squatina squatina. Laurent Ballesta. Commission européenne, Association Océanologie

- « J'ai cherché l'ange de mer pendant 15 ans », disait il y a deux ans Laurent Ballesta, - le fa cherché en particulier dans cette baie des Anges entre Nice et Antibes, sauf que depuis 70 ans on n'en a jamais vu dans cette zone. Et puis c'est un enseignant chercheur de Bastia qui m'a indiqué qu'il avait fait des pêcheries sur la côte orientale de la Corse prenant ce poisson dans leurs filets. Je n'y croyais pas du tout, on y est allés, et très vite on a plongé avec l'Ange de Mer. Cela nous a permis à présent cette année une étude pour mieux comprendre la diversité de cette population présente semble-t-il seulement sur le littoral oriental de la Corse où il a trouvé peut être son dernier refuge. »



Ange de mer, Squatina squatina. Laurent Ballesta. Commission européenne, Association Océanologie

Cette fois l'équipe d'Andromède Océanologie veut en savoir plus sur la présence de ce requin sur la côte Est de la Corse, explique Julie Deter responsable scientifique de cette mission qui vient de débuter :

Deux requins suivis à Solenzara, deux autres sur Bastia

- « Pour la première fois, au mois de mai dernier, nous avons réussi à poser quatre balises sur le dos de quatre requins ange, trois mâles et une femelle. Ces balises vont nous permettre d'enregistrer déjà la profondeur à laquelle ils se baladent, mais également la température, la luminosité. En analysant tout ça, on pourra suivre leurs déplacements durant les dix prochains mois et au bout de dix mois, ces balises vont se décrocher toutes seules et remonter à la surface, il nous faudra les récupérer. Ce requin ange est une espèce en danger critique d'extinction, sa zone de distribution a fortement diminué. On en trouvait abondamment jusque dans les années 50, tout au long des côtes françaises. Et en fait actuellement, on n'en trouve plus qu'en Corse mais on ne sait pas encore exactement pourquoi. Alors il y a eu quand même là dernièrement, des observations exceptionnelles dans la baie de Douarnenez, en Bretagne, trois observations à la suite et ce n'était pas arrivé depuis des années et des années, mais sinon c'est en Corse seulement qu'on trouve cette espèce. »



La Corse le dernier refuge de l'ange de mer - gombessa squatinaria

Aucun danger pour l'homme

"Ce requin on peut le trouver dès la côte à de tout petits fonds, jusqu'à une centaine de mètres. Là où on les a relâchés, ils étaient autour de 40 mètres de fond. Après, il ne faut pas s'inquiéter outre mesure pour ceux qui se baignent, c'est un requin qui est au fond qui n'est pas dangereux pour l'homme, il chasse en embuscade, s'il vous voit il va s'en aller donc il ne représente aucun danger..."

- Sur ce même sujet : Laurent Ballesta à la recherche de l'Ange de Mer en Corse.

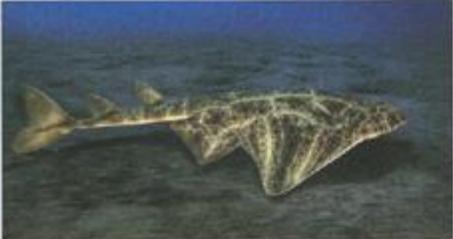


Julie Deter, responsable scientifique de la mission d'Andromède Océanologie



REFUGES DES ANGES DE MER

Inoffensif pour l'homme, le requin Ange de mer commun est aujourd'hui introuvable dans les eaux de la Côte d'Azur, autrefois sa zone de prédilection. La Corse semble être devenue son dernier refuge en Méditerranée française, selon les observations de la mission Ange.



Classés dans la liste des 100 espèces les plus menacées au monde par l'Union internationale pour la conservation de la nature (UICN), de rares requins *Squatina squatina*, appelés aussi Anges de mer, ont trouvé refuge au large des côtes orientales de la Corse. Une présence détectée par des pêcheurs locaux puis confirmée par l'équipe de biologistes de Marbec et d'Andromède Océanologie, qui a lancé au printemps 2021 une mission

Le requin Ange de mer commun a donné, au XVIII^e siècle, son nom à la Bata des anges près de Nice tellement sa présence y était commune.

côtes corses pourrait s'expliquer par la faible niveau de pêche et la présence de grandes zones de frayères des picarets, espèces très appréciées des grands prédateurs, que nous avons découvertes l'année dernière. Inaperçus jusqu'ici dans les eaux corses, ces poissons installent leurs nids et les surveillent sur des centaines d'hectares de fonds meubles, à la limite intérieure des herbiers de Posidonie et jusqu'à 60 mètres de profondeur ». Le rôle écologique de ces frayères suscite de nombreuses interrogations chez les biologistes et a donc incité à élargir le projet Ange aux jarrets, autre nom donné aux picarets (*Spicara smaris*). Durant deux ans, des plongées et des vidéos fixes exploreront ces zones de frayères afin de comprendre leur fonctionnement, leurs rôles écologiques et leurs caractéristiques. Le lien entre l'état de santé des herbiers de Posidonie et la nidification des picarets sera aussi passé au crible. Réponses attendues en 2023. 🌊

Partenaires : Parc naturel marin du Cap Corse et de l'Agriate, association Sestia Offshore Fishing

Sauvons l'eau/Juliet 2022

scientifique de trois ans baptisée Ange, dans le but de mieux connaître ce nouvel habitat, ainsi que la biologie et la reproduction de ce prédateur de fond.

« Victimes des pêcheurs et de leurs filets à grandes mailles, ces squalos sont devenus rares dans les eaux de la Méditerranée, explique Julie Deter, cheffe de projet R&D chez Andromède Océanologie et enseignante-chercheuse à l'Université de Montpellier. Leur présence le long des

Angel Shark day 2021

En amont de l'expédition, un vidéo blog sur la première rencontre avec l'ange de mer a été diffusé sur les réseaux sociaux. Chacune des publications identifiées grâce aux tags et # les partenariats en cours



Last French Angelsharks in Corsica: from opportunistic observations to launching a research project



Laurent Ballesta
Julie Deter
26th June 2021

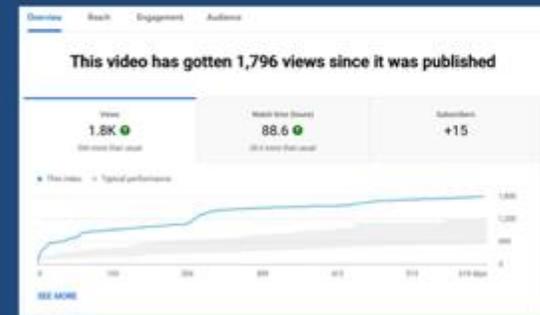
0:04 / 0:02

RESEAUX SOCIAUX

En amont de l'expédition, un vidéo blog sur la première rencontre avec l'ange de mer a été diffusé sur les réseaux sociaux. Chacune des publications identifie grâce aux tags et # les partenariats en cours



Publication	Date	Statut	Partenariat	Vues	Partages	Commentaires	Interactions
Rencontre sauvage : L'ange de mer de Méditerranée Rencontre sau...	07/12/2020 17:00	Publiée	Syl Vie	112 116	102 624	3 066	308
Rencontre sauvage : L'ange de mer de Méditerranée Rencontre sau...	07/12/2020 17:00	Publiée	Syl Vie	13 536	11 945	309	26
Rencontre sauvage : L'ange de mer de Méditerranée Rencontre sau...	07/12/2020 17:00	Publiée	Syl Vie	26 649	22 753	574	34



RESEAUX SOCIAUX

Partage de l'appel à témoignages sur nos différentes plateformes



	Appel à témoignages de rencontres avec des anges de mer en mé... Publiée Gombessa Expeditions	22/02/2022 15:38 Syl Vie		10 089	9 383
	Appel à témoignages de rencontres avec des anges de mer en mé... Publiée Andromede Oceanologie	22/02/2022 15:31 Syl Vie		+4,5x Hausse 10 641	10 275



Découverte organique

2 847
Impressions

1 606
Impressions uniques

Conclusion générale

Ce projet a permis de développer **une méthode efficace et rapide pour détecter la présence des trois espèces d'anges de mer de Méditerranée**, toutes en danger critique d'extinction. À la suite du transect de 551 km divisé en 156 tronçons réalisé le long de l'isobathe des - 40 m, nous avons **confirmé la présence de *Squatina squatina* sur la côte orientale Corse mais aussi** ajouté une présence **dans le Parc naturel Marin du Cap Corse et de l'Agriate**, à l'ouest et à l'est du Cap Corse, et **également au sud-ouest de la Corse. Cette aire de répartition ne s'arrête donc pas à la plaine orientale Corse, comme pouvait le suggérer l'absence d'observation directe de l'animal.**

La mise en lien avec la dernière mise à jour de la cartographie des biocénoses (2021) montre que *Squatina squatina* **semble fréquenter préférentiellement des herbiers de posidonie en bon état de santé** (*i.e.* bon indice de cohésion, faible indice de déclin et bon indice BiPo) et éviter les herbiers les plus dégradés.

L'analyse des pressions effectuée grâce au projet « IMPACT » montre que les tronçons sur lesquels *Squatina squatina* a été détecté (tronçons positifs) sont moins soumis aux pressions anthropiques que les tronçons négatifs. Les observations par caméra ont cependant montré des traces de pressions anthropiques sur les zones de présence de *Squatina squatina* avec la présence de macrodéchets (*e.g.* filets de pêche abandonnés) et des traces de chalutage.

Grâce au questionnaire, des observations de *Squatina squatina* ont été recensées, **notamment en hiver** (12/2019 et 12/2021), **y compris de juvéniles et de femelles pleines** ce qui laisse penser que la Corse comporte bien des **zones de nurserie pour cette espèce**. Selon une des réponses au questionnaire, un *Squatina squatina* aurait été observé sur la côte continentale (*i.e.* à Sanary sur mer). Grâce aux témoignages des pêcheurs une observation **d'une autre espèce d'ange de mer a été recensée**. En effet, une femelle adulte **ange de mer épineux (*Squatina aculeata*)**, également en danger critique d'extinction a été remonté dans un filet au large de Solenzara.

L'analyse des données des balises posées sur des individus (9 jours et 33 semaines) montrent un **positionnement thermique stable autour de 18°C**, de longues périodes d'immobilité et de faibles déplacements **entre -20 et -60 mètres de profondeur**. La **sédentarité estivale** semble se confirmer avec un individu recapturé par un pêcheur 6 mois après la pose à 3 km de son site de relâché sur des profondeurs similaires.

Sur la base des prélèvements effectués par les plongeurs et transmis par des pêcheurs, une **étude génétique de la population a pu confirmer cette hypothèse de sédentarité des individus**. En effet, de **forts liens de parentés** sont détectés entre les individus d'un même site (Bastia ou Solenzara). De plus, **la taille de population efficace est estimée à 281 individus**. **L'étude du microbiome prélevé sur les individus d'ange de mer commun indique que la localisation influe significativement sur la diversité des bactéries associées à chaque individu**. Cependant, la distance génétique entre les individus n'est pas corrélée avec la dissimilarité entre les microbiotes : **cela suppose que les conditions environnementales, tel que les paramètres physico-chimiques et les communautés microbiennes environnantes influencent la distribution des microbiotes**.

Des échantillons de mucus internes et externes sont en cours d'analyse afin de décrire pour la première fois les communautés microbiennes qui leurs sont associées.

Des livrets scolaires sont disponibles pour faciliter la sensibilisation de plus jeunes. Un **podcast** et de **courtes vidéos** publiés sur Youtube et les réseaux sociaux permettent également de sensibiliser le grand public.

Le projet apporte des **bases solides pour faciliter la gestion et la protection de l'ange de mer commun (*Squatina squatina*) en Corse**.

Des études complémentaires pourraient également être faite sur l'ange de mer épineux (*Squatina aculeata*) en Corse dont la taille de la population ou même la distribution géographique n'est pas connue à ce jour.

Remerciements

dans le cadre des expéditions GOMBESSA d'Andromède Océanologie soutenues par :



BIBLIOGRAPHIE

- ADLOFF, F., SOMOT, S., SEVAULT, F., JORDA, G., AZNAR, R., DEQUE, M., ET AL. (2015) Mediterranean Sea response to climate change in an ensemble of twenty first century scenarios. *Climate Dynamics*, 45, 2775–2802.
- BAINO, R., SERENA, F., RAGONESE, J. & RINELLI, P. (2001) Catch composition and abundance of elasmobranchs based on the MEDITS program. In p. 234 pp. *Rapp. Comm. Int. Mer. Medit.*
- BARROIL, A. (2021) Etude cartographique et écologique de la dernière zone de présence du requin-ange de mer commun (*Squatina squatina*) en Méditerranée française. *Satge Master 2*.
- BARROIL A., BOCKEL T., DELARUELLE G, FAURE N., GINS N., GUELLATI. N., LE BRAS Stéven, Hocdé R., HOLON F., MAURON Stephen, MOUILLLOT., PITIE N, VELEZ L, ZAJDEL V. et DETER J. 2023. PIAF : Poissons des fonds meubles, inventaire par ADN environnemental. Rapport intermédiaire. Appel à projets « Renforcer la connaissance des habitats de fonds meubles en Méditerranée » cofinancé par l'Agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse, l'Office Français de la Biodiversité et l'Office de l'Environnement de la Corse. 42 pages.
- BIANCHI, C.N. & MORRI, C. (2000) Marine biodiversity of the Mediterranean Sea: situation, problems and prospects for future research. *Marine Pollution Bulletin*, 40, 367–376.
- BINDOFF, N.L., CHEUNG, W.W.L. & KAIRO, J.G. (2019) Changing Ocean, Marine Ecosystems, and Dependent Communities. In IPCC Special Report on the Ocean and Cryosphere in a Changing Climate p.
- BOUDOURESQUE, C.-F. (2004) Biodiversity in the Mediterranean: status of species, populations and communities. *Scientific Reports of Port-Cros National Park*, 20, 97–146.
- BOULANGER, E., LOISEAU, N., VALENTINI, A., ARNAL, V., BOISSERY, P., DEJEAN, T., ET AL. (2021) Environmental DNA metabarcoding reveals and unpacks a biodiversity conservation paradox in Mediterranean marine reserves. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 288, 20210112. Royal Society.
- CHIN, T.M, J. VAZQUEZ-CUERVO, and E.M. ARMSTRONG. 2017. A multi-scale high-resolution analysis of global sea surface temperature, *Remote Sensing of Environment*, 200. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2017.07.029>
- COLL, M., PIRODDI, C., ALBOUY, C., BEN RAIS LASRAM, F., CHEUNG, W.W.L., CHRISTENSEN, V., ET AL. (2012) The Mediterranean Sea under siege: spatial overlap between marine biodiversity, cumulative threats and marine reserves: The Mediterranean Sea under siege. *Global Ecology and Biogeography*, 21, 465–480.
- COLL, M., PIRODDI, C., STEENBEEK, J., KASCHNER, K., BEN RAIS LASRAM, F., AGUZZI, J., ET AL. (2010) The Biodiversity of the Mediterranean Sea: Estimates, Patterns, and Threats. *PLoS ONE*, 5, e11842.
- COSTELLO, M.J., BOUCHET, P., BOXSHALL, G., FAUCHALD, K., GORDON, D., HOEKSEMA, B.W., ET AL. (2013) Global coordination and standardisation in marine biodiversity through the World Register of Marine Species (WoRMS) and related databases. *PLoS one*, 8, e51629.
- DALONGEVILLE, A., BOULANGER, E., MARQUES, V., CHARBONNEL, E., HARTMANN, V., SANTONI, M.C., ET AL. (2022) Benchmarking eleven biodiversity indicators based on environmental DNA surveys: More diverse functional traits and evolutionary lineages inside marine reserves. *Journal of Applied Ecology*, n/a.
- DIFFENBAUGH, N.S. & GIORGI, F. (2012) Climate change hotspots in the CMIP5 global climate model ensemble. *Climatic Change*, 10.
- DULVY, N.K., FOWLER, S.L., MUSICK, J.A., CAVANAGH, R., KYNE, P.M., HARRISON, L.R., ET AL. (2014) Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays John A Musick, Rachel D Cavanagh, Peter M Kyne, Lucy R Harrison, John K Carlson, Lindsay NK Davidson, Sonja V Fordham, Malcolm P Francis, Caroline M Pollock, Colin A Simpfendorfer, George H Burgess, Kent E Carpenter, Leonard JV Compagno, David A Ebert, Claudine Gibson, Michelle R Heupel, Suzanne R Livingstone, Jonnell C Sanciangco, John D Stevens, Sarah Valenti, William T White. *eLife*, 3, e00590.

- FAURE, N. (2021) Using environmental DNA to estimate the distribution of a critically endangered species in Corsica: the common angelshark (*Squatina squatina*). Stage de Master 1, .
- FAURE, N. (2023) Genetic structure and diversity of Critically Endangered angelshark (*Squatina squatina*) populations revealed by genome-wide SNP markers, in the Canary Islands and Corsica. Manuscript in prep. Stage M2.
- FAURE, N., MANEL, S., MACE, B., ARNAL, V., PICHOT, F., HOLON, F., ET AL. (2022) Rapid detection of the critically endangered angelshark (*Squatina squatina*) in Corsica by environmental DNA barcoding. Soumis à Aquatic Conservation en octobre 2022.
- FERRÀ, C., TASSETTI, A.N., GRATI, F., PELLINI, G., POLIDORI, P., SCARCELLA, G. & FABBI, G. (2018) Mapping change in bottom trawling activity in the Mediterranean Sea through AIS data. *Marine Policy*, 94, 275–281.
- GAG, F. & ARNULF, F. (1985) Nice as the days and seasons. In p. 314 pp. Alp'Azur Publishing.
- GOLANI, D., ORSI-RELINI, L., MASSUTI, E., QUIGNARD, J. P., & BRAND, F. (2002). CIESM Atlas of exotic species in the Mediterranean: Vol 1: Fishes.
- GORDON, C.A., HOOD, A.R., AL MABRUK, S.A.A., BARKER, J., BARTOLI, A., BEN ABDELHAMID, S., ET AL. (2019) Mediterranean Angel Sharks: Regional Action Plan. In p. 36 pp. The Shark Trust, United-Kingdom.
- HALPERN, B.S., FRAZIER, M., AFFLERBACH, J., LOWNDES, J.S., MICHELI, F., O'HARA, C., ET AL. (2019) Recent pace of change in human impact on the world's ocean. *Scientific Reports*, 9, 11609.
- HALPERN, B.S., FRAZIER, M., POTAPENKO, J., CASEY, K.S., KOENIG, K., LONGO, C., ET AL. (2015) Spatial and temporal changes in cumulative human impacts on the world's ocean. *Nature Communications*, 6, 7615.
- HALPERN, B.S., WALBRIDGE, S., SELKOE, K.A., KAPPEL, C.V., MICHELI, F., D'AGROSA, C., ET AL. (2008) A Global Map of Human Impact on Marine Ecosystems. *Science*, 319, 948–952.
- HOLON, F., MOUQUET, N., BOISSERY, P., BOUCHOUCHA, M., DELARUELLE, G., TRIBOT, A.-S. & DETER, J. (2015) Fine-Scale Cartography of Human Impacts along French Mediterranean Coasts: A Relevant Map for the Management of Marine Ecosystems. *PLOS ONE*, 10, e0135473.
- IPBES (2019) IPBES: Global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. S. Brondizio, J. Settele, S. Díaz, and H. T. Ngo (editors). IPBES Secretariat, Bonn, Germany.
- JPL MUR MEaSURES Project. 2015. GHRSSST Level 4 MUR Global Foundation Sea Surface Temperature Analysis. Ver. 4.1. PO.DAAC, CA, USA. Dataset accessed [2023-08-22] at <https://doi.org/10.5067/GHGMR-4FJo4>
- KATSANEVAKIS, S. (2013) Invading European Seas: Assessing pathways of introduction of marine aliens. *Coastal Management*, 11.
- KUMMU, M., DE MOEL, H., SALVUCCI, G., VIVIROLI, D. & WARD, P.J. (2016) Over the hills and further away from coast: global geospatial patterns of human and environment over the 20th-21st centuries. *Environmental Research Letters*, 11, 1.
- LAPINSKI, M. & GIOVOS, I. (2019) New records of the critically endangered *Squatina squatina* (Linnaeus, 1758) from Corsica, France, 6.
- LOPEZ Y ROYO, C., CASAZZA, G., PERGENT-MARTINI, C., PERGENT, G., (2010) A biotic index using the seagrass *Posidonia oceanica* (BiPo), to evaluate ecological status of coastal waters. *Ecological Indicators*, 10, 380–389.

- LOPEZ Y ROYO, C., PERGENT, G., ALCOVERRO, T., BUIA, M.C., CASAZZA, G., MARTINEZ-CREGO, B., ET AL. (2011) The seagrass *Posidonia oceanica* as indicator of coastal water quality: Experimental intercalibration of classification systems. *Ecological Indicators*, 11, 557–563.
- MCCAULEY, D.J., PINSKY, M.L., PALUMBI, S.R., ESTES, J.A., JOYCE, F.H. & WARNER, R.R. (2015) Marine defaunation: Animal loss in the global ocean. *Science*, 347, 1255641–1255641.
- MCGILL, J.M., DORNELAS, M., GOTELLI, N.J. & MAGURRAN, A. (2015) Fifteen forms of biodiversity trend in the Anthropocene. *Trends in Ecology & Evolution*, 30, 104–113.
- MEYERS, E.K.M., TUYA, F., BARKER, J., JIMÉNEZ ALVARADO, D., CASTRO-HERNÁNDEZ, J.J., HAROUN, R. & RÖDDER, D. (2017) Population structure, distribution and habitat use of the Critically Endangered Angelshark, *Squatina squatina*, in the Canary Islands. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 27, 1133–1144.
- MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT MEA (2005) Ecosystem and Human Well-Being, General Synthesis. Island Press, Washington D.C.
- MORA, C., TITTENSOR, D.P., ADL, S. & WORM, B. (2011) How Many Species Are There on Earth and in the Ocean? *Plos Biology*, 9, e1001127.
- O'HARA, C.C., VILLASEÑOR-DERBEZ, J.C., RALPH, G.M. & HALPERN, B.S. (2019) Mapping status and conservation of global at-risk marine biodiversity. *Conservation Letters*, 12.
- PEREIRA, H.M., LEADLEY, P.W., PROENÇA, V., ALKEMADE, R., SCHARLEMANN, J.P.W., FERNANDEZ-MANJARRES, J.F., ET AL. (2010) Scenarios for Global Biodiversity in the 21st Century. *Science*, 330, 1496–1501.
- POLOCZANSKA, E.S., BURROWS, M.T., BROWN, C.J., GARCÍA MOLINOS, J., HALPERN, B.S., HOEGH-GULDBERG, O., ET AL. (2016) Responses of Marine Organisms to Climate Change across Oceans. *Frontiers in Marine Science*, 3.
- TITTENSOR, D.P., MORA, C., JETZ, W., LOTZE, H.K., RICARD, D., BERGHE, E.V. & WORM, B. (2010) Global patterns and predictors of marine biodiversity across taxa. *Nature*, 466, 1098–1101.
- VALENTINI, A., TABERLET, P., MIAUD, C., CIVADE, R., HERDER, J., THOMSEN, P.F., ET AL. (2016) Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*, 25, 929–942.
- WWF (2019) WWF Mediterranean Marine Initiative report 2019. Sharks in Crisis: A call to action for the Mediterranean. Based on data contained in: Bartolí, A., Polti, S., Niedermüller, S.K. & García, R. 2018. Sharks in the Mediterranean: A review of the literature on the current state of scientific knowledge, conservation measures and management policies and instruments. In p. 40 pp.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Tableau des objectifs du plan d'actions régional pour les requins-anges en Méditerranée (Gordon et al., 2019).

GOAL 1		By who?*	SubRAP specific?***
Fisheries-based angel shark mortality is minimised in the Mediterranean.			
Objective 1.1	Reporting and monitoring in all segments of Mediterranean fisheries, including recreational, is improved for the three species of angel shark.		
Action 1.1.1	Produce identification materials featuring the three species of angel sharks and lookalike/similar species (e.g. guitarfishes) so species-specific reporting is improved.	ASCN	
Action 1.1.2	Develop guidance documents for reporting procedure in line with GFCM Recommendations for data recording and ensure the document is accessible to industry.	GFCM Governments Fishing industry NGOs	
Action 1.1.3	ASCN Angel Shark Sightings Map widely advertised through social media to encourage submissions from recreational anglers.	ASCN	
Action 1.1.4	Engage with regional observer programmes to ensure collation of angel shark records.	NGOs ASCN RAC/SPA	
Action 1.1.5	Comply with existing GFCM and national reporting procedures.	Fishing industry Governments	
Objective 1.2	Incidental catch of angel sharks by all segments of Mediterranean fisheries is minimised.		
Action 1.2.1	Collate data on incidental catch to inform management measures (liaise with programmes such as the Med Bycatch Project).	GFCM NGOs	
Action 1.2.1	Ascertain the level of bycatch and incidental catch by gear type in order to inform further necessary action.	Governments Fishing industry NGOs	✓
Action 1.2.2	Map hotspots for bycatch of angel sharks (spatially and temporally).	NGOs ASCN Researchers	✓
Action 1.2.3	Secure spatial/temporal management and gear restrictions based on collated data.	Governments ASCN NGOs GFCM	✓
Objective 1.3	Retention is reduced, and post-release survival enhanced, through information, training, and education for fishers.		
Action 1.3.1	Develop angel shark handling guides for fishers to improve post-release survival in the Mediterranean (using existing guidance materials as a basis).	ASCN	
Action 1.3.2	Identification (see Action 1.1.1) and handling guides (see Action 1.3.1) to be disseminated amongst fishing industry, recreational anglers, enforcement bodies, fish markets, governments etc..	NGOs GFCMs Governments	
Action 1.3.3	Develop training programmes to educate fishers about conservation status and prohibited status of angel sharks, as well as best practice handling techniques.	Governments NGOs	✓
Action 1.3.4	Ascertain other drivers to angel shark retention to inform actions.	NGOs ASCN	✓

GOAL 1 (continued) Fisheries-based angel shark mortality is minimised in the Mediterranean.		By who?*	SubRAP specific?***
Objective 1.4	The extent of interaction between marine recreational fishing activities and angel sharks is ascertained and minimised.		
Action 1.4.1	Quantify the level of recreational fishing activity in the Mediterranean, guided by GFCM recreational fisheries handbook.	GFCM Governments	(GFCM hand-book in prep.)
Action 1.4.2	Collate information on whether licence systems are in force in each subregion and what requirements are stipulated.	NGOs ASCN	✓
Action 1.4.3	Determine how often recreational fishers encounter angel sharks (contemporary and historical records).	GFCM NGOs ASCN	✓
Action 1.4.4	Create recreational fishing best practice guidelines specific to the three <i>Squatina</i> species in the Mediterranean drawing on existing recreational guidelines where available.	NGOs ASCN	
Action 1.4.5	Identify angling clubs/shops in each region where guidelines can be distributed.	NGOs ASCN	✓
Action 1.4.6	Encourage participation of recreational fishers in data collection.	NGOs ASCN	✓

GOAL 2		By who?*	SubRAP specific?***
Angel shark habitat is identified and protected.			
Objective 2.1	Angel shark distribution is better understood.		
Action 2.1.1	Increase the profile of three species to encourage public reporting to ASCN Angel Shark Sightings Map, complementing fisheries data.	ASCN NGOs	
Action 2.1.2	Liaise with scientific surveys operating throughout the Mediterranean and encourage engagement with this RAP (e.g. through data provision, assessments etc.).	ASCN NGOs Researchers	
Action 2.1.3	Use fisheries data and other reporting methods to improve spatial data on distribution.	GFCM Governments Fishing industry	
Objective 2.2	The impact of non-fishing activities on angel sharks in the Mediterranean is better understood.		
Action 2.2.1	Engage dive clubs across the Mediterranean to look out for signs of presence (e.g. angel shark 'beds').	ASCN NGOs	✓
Action 2.2.2	Identify and map popular beaches and dive sites and compare with sightings data.	Researchers NGOs ASCN	✓
Action 2.2.3	Investigate the impact of beach users at tourist hotspots near CASAs.	Researchers NGOs ASCN	
Action 2.2.4	Confirm if noise impacts angel sharks and if there are ways this can be mitigated.	Researchers ASCN	
Action 2.2.5	Identify if areas with high levels of pollution (plastics, agriculture etc.) overlap with important areas for angel sharks.	Researchers	
Objective 2.3	Angel shark habitat is identified, specifically Critical Angel Shark Areas (CASAs).		
Action 2.3.1	Determine general features of potential CASAs based on those habitats in which angel sharks have been sighted on previously.	Researchers	
Action 2.3.2	Based on Action 2.3.1, examine models to predict potential CASAs.	Researchers	
Action 2.3.3	Increase engagement with SPA/RAC habitat mapping programmes to identify potential CASAs.	NGOs SPA/RAC Governments	
Action 2.3.4	Evaluate spatial distribution of threats and existing conservation measures (e.g. MPAs, Natura 2000).	Researchers	
Action 2.3.5	Identify key habitats that are not protected/not sufficiently protected and make suggestions for improved management of areas (with involvement from stakeholders).	Researchers	
Action 2.3.6	Identify activities and develop management plans aiming to conserve and restore CASAs in CMS Range States, in line with CMS Appendix I obligations.	CMS Parties	

GOAL 2 (continued) Angel shark habitat is identified and protected.		By who?*	SubRAP specific? **
Objective 2.4	Angel shark habitat is reflected in marine spatial planning and coastal development.		
Action 2.4.1	Engage with Environmental Impact Assessment (EIA) process prior to coastal developments near CASAs.	Governments Wider industry NGOs	✓
Action 2.4.2	Monitor coastal developments near CASAs and mitigate impacts where possible.	Governments Wider industry NGOs	✓
Action 2.4.3	Identify what spatial/temporal management measures would be most appropriate according to each subarea.	GFCM Governments Input from NGOs	✓
Action 2.4.4	Include CASAs in MPA processes and EIA to ensure these areas are managed sustainably, that important habitat features are conserved and maintained or re-established and that impacts on angel sharks are kept at acceptable levels.	Governments	

* Broad categories have been used here to give an indication of who will be involved. Actions have not been assigned to specific stakeholders (e.g. reference to GFCM could include actions of the Secretariat and/or the Parties) at this level and details will be drawn out in the SubRAP process with input from regional authorities and collaborators.

** While most actions will be relevant across the Mediterranean, those identified with a tick are particularly applicable at a subregional level and more detailed actions should be developed.

ANNEXE 2 : Informations sur le sonar Klein 3900

Fréquences	445 kHz / 900 kHz	
Faisceau	Horizontal: 0.21° à 900 kHz, 0.21° à 445 kHz; Vertical : 40°	
Inclinaison du faisceau	5, 10,15, 20, 25° vers le bas, ajustable	
Profondeur maximale	200m	
Largeur de fauchée	150 mètres à 445 kHz; 50 mètres à 900 kHz	
Longueur	122 cm de long, 8,9cm de large	
Poids	29 kg	
Système d'exploitation	VxWorks®	
Sorties	00 Base-Tx, Ethernet LAN, w/ LAN	
Alimentation	NMEA 0183	
Puissance	120 watts à 120/240 VAC, 50/60 Hz	

ANNEXE 3 : Questionnaire pour but de collecter des témoignages d'observations d'ange de mer en Méditerranée française.

Questionnaire publié entre en février 2022 afin de collecter des témoignages d'observations / captures d'ange de mer commun *Squatina squatina*



ENQUÊTE AUPRES DES PECHEURS LOISIR EN MEDITERRANEE

Bonjour,

Nous menons une enquête dans le cadre d'un projet de recherche sur une espèce de requin en danger critique d'extinction d'après l'Union International pour la Conservation de la Nature (IUCN). Les témoignages que nous récolterons grâce à ce questionnaire nous permettront de connaître l'aire de répartition de l'espèce ciblée et d'avoir une idée de la raréfaction de l'espèce. Par la suite, un travail de sensibilisation sera fait auprès des usagers de la mer.

Nous avons besoin d'un maximum de témoignages concernant l'espèce de poisson ciblée par notre étude (photo plus bas). Ce questionnaire (30 questions) est entièrement anonyme.

C'est une étude menée par l'université de Montpellier, Andromède océanologie et Bastia Offshore, soutenu par l'Agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse, le Parc Naturel Marin du Cap Corse et Agriate, l'Office Français de la Biodiversité, la fondation Albert II, et les explorations de Monaco et Blancpain.

Merci d'avance pour votre collaboration
Contact : adele.barroil@umontpellier.fr

Connaissez-vous ce poisson ? Si oui, quel est son nom ? *



Votre réponse _____

Que représente ce poisson pour vous en 3 mots clefs ?

Votre réponse _____

En avez vous déjà pêché ? *

Oui

Non

Mois, année et lieu (site approximatif) de la plus récente prise de cette espèce.

Votre réponse _____

Savez-vous que ce poisson a quasi disparu des côtes françaises ? et est en voie d'extinction en Méditerranée ? *

Oui

Non

A votre avis, pourquoi cette raréfaction ? *

Votre réponse

A votre avis, pourquoi en reste-t-il en Corse ? *

Votre réponse

Que faudrait-il d'après vous pour que les effectifs remontent ? *

Votre réponse

Seriez-vous intéressé(e) pour participer à une étude scientifique en récoltant des données ? *

Oui

Non

Que votre réponse de la question précédente soit positive ou négative expliquez nous les raisons. *

Votre réponse

Quelle(s) récompense(s)/valorisation(s) souhaiteriez vous en échange d'une collaboration avec des scientifiques (pour la transmission de données de pêche ou des prélèvements de tissus par exemple) ?

Votre réponse

Avez-vous déjà pêché cette autre espèce ? *

▼ *Squatina aculeata* caught in Greece © iSea



- Oui
 Non

Si oui, pouvez-vous nous donner la date et le site de pêche ?

Votre réponse

Avez vous pêché cette autre espèce ? (bis) *

▼ *Squatina oculata* caught in Cyprus © iSea



- Oui
 Non

Si oui, pouvez-vous nous donner la date et le site de pêche ?

Votre réponse

Suivant



Page 1 sur 3

Effacer le formulaire

N'envoyez jamais de mots de passe via Google Forms.

Ce contenu n'est ni rédigé, ni cautionné par Google. [Signaler un cas d'utilisation abusive](#) - [Conditions d'utilisation](#) - [Règles de confidentialité](#)

Google Forms



ENQUÊTE AUPRES DES PECHEURS LOISIR EN MEDITERRANEE

 adelebarroil@gmail.com (non partagé) [Changer de compte](#) 

*Obligatoire

Questions diverses

Les questions suivantes sont à titre informatif. Elles serviront pour les statistiques (effort de pêche, méthodes les plus utilisées,...). Les réponses aux questions sur les fédérations et/ou associations permettront de cibler les organismes cités pour la sensibilisation à la fin de notre étude. Cela nous permettra de communiquer au maximum sur la vulnérabilité de l'espèce et de protéger au mieux celle-ci.

Age *

Votre réponse

Activité professionnelle *

Sélectionner 

En quelle année avez vous commencé l'activité de pêche loisir ? *

Votre réponse

Pêchez-vous dans le cadre d'une association/fédération de pêche ? *

- Oui
- Non

Si oui laquelle ?

Votre réponse _____

Quel(s) type(s) de pêche pratiquez-vous ? *

- Pêche à la traine
- Pêche sous-marine
- Surf-casting
- Casiers
- Palangre
- Autre : _____

Si vous partez en bateau, quel(s) type(s) de bateau utilisez vous ?

Votre réponse _____

Si vous partez en bateau, quel est le nombre de personnes à bord ? *

- Entre 1 et 5
- Entre 6 et 10
- Entre 11 et 15
- Plus de 15
- Autre : _____

Si vous partez en bateau, quel est le nombre de personnes à bord ? *

- Entre 1 et 5
- Entre 6 et 10
- Entre 11 et 15
- Plus de 15
- Autre : _____

Combien de sorties par an faites-vous ? *

- Moins de 5
- Entre 5 et 10
- Entre 11 et 30
- Entre 31 et 50
- 50 et +
- Autre : _____

[Retour](#)

[Suivant](#)

Page 2 sur 3

[Effacer le
formulaire](#)



ENQUÊTE AUPRES DES PECHEURS LOISIR EN MEDITERRANEE

adelebarroil@gmail.com (non partagé) [Changer de compte](#)

*Obligatoire

Explication de l'étude et consentement.

Les poissons que vous avez vus en photo sont dans l'ordre de présentation : l'ange de mer commun (*Squatina squatina*), l'ange de mer épineux (*Squatina aculeata*) et l'ange de mer à ocelle (*Squatina ocellata*). Ces petits requins côtiers vivent sur le fond et sont inoffensifs pour l'Homme. Les trois espèces sont sur la liste rouge des espèces menacées, classées "en danger critique d'extinction" par l'IUCN. L'ange de mer commun était autrefois abondant le long de toutes les côtes françaises mais on l'observe désormais seulement en Corse. Actuellement, sa pêche, sa conservation, son transbordement et son débarquement sont interdits aux navires. Le projet de recherche "ANGE : connaître et faire connaître le dernier refuge (corse) du Requin-Ange en France " porté par David MOUILLOT et Julie DETER, vise à mieux connaître l'ange de mer commun et mieux le faire connaître. Merci pour votre participation. Si vous souhaitez en savoir plus et/ou nous donner des informations complémentaires, écrivez nous à adele_barroil@umontpellier.fr. Aucune des données personnelles concernant la deuxième partie du questionnaire ne seront partagées.

En cochant cette case, je confirme avoir lu et compris les informations concernant l'étude. J'accepte également de manière libre et éclairée de participer à ce projet de recherche. *

Oui j'ai lu et j'accepte.

[Retour](#)

[Envoyer](#)

Page 3 sur 3

[Effacer le
formulaire](#)

ANNEXE 4 : Listes de pêcheurs directement contactés par téléphone pour répondre au questionnaire.

Nom	Entreprise/Asso/Boîte	Lieu
PRO MONITEURS GUIDE PRO		
TAMBURINI LORIS	L'ESCALE	TIZZANO
DI GIACOMI ANGEL NOEL		TIZZANO
LEROY RAPHAEL	RAPH FISHING	AJACCIO
PICCOLI PHILIPPE	CORSE FISHING	CANARI (CAP CORSE OUEST)
CALIENDO FRED		SAINT FLORENT
CASTELLANI FRED	ALPANA	PORTO PIANA SCANDOLA
AMATEURS REFERENTS		
BENJAMIN LAFABRE	AMATEUR	ILE ROUSSE-CALVI
PASCAL TROJI	AMATEUR	AJACCIO
GREGORY LEPICIER	COMMERCANT PECHEUR	ALERIA - Ghisonaccia- solenzara

ANNEXE 5 : Structure génétique fine et taille de la population de requins anges de mer (*Squatina squatina*) en Corse. Nadia Faure, 2023



Projet ANGE – Résumé des analyses génétiques, partie 2 :

Structure génétique fine et taille efficace de la population de requins anges de mer (*Squatina squatina*) en Corse

Nadia Faure – Novembre 2023

encadrée par Stéphanie Manel (EPHE, UMR CEFE) et Julie Deter (UMR MARBEC & Andromède Océanologie)

Contexte scientifique

L'ange de mer, *Squatina squatina*, est un requin démersal côtier qui est devenu rare en Méditerranée, en raison des pêcheries côtières ciblant cette espèce et des captures accidentelles par les chaluts de fond. Dans les eaux françaises, la Corse semble être l'un des derniers refuges pour cette espèce, classée en danger critique d'extinction par l'UICN. Or, cette population qui persiste en Corse est mystérieuse ; la structure génétique, la taille de cette population et le comportement des individus reste encore inconnu.

Problématiques

Peut-on décrire des structures familiales au sein de la population d'ange de mer corse ? Les anges de mer montrent-ils un comportement sédentaire ? Est-ce que la distance géographique séparant les individus a une influence sur leur apparentement génétique ? Quelle est la taille efficace de la population ?

Matériels & Méthodes

Compte tenu de la difficulté d'observer ce requin, qui se camoufle sous le sable, nous avons employé des méthodes génétiques pour mieux comprendre les dynamiques de cette population. Les captures accidentelles d'ange de mer par les pêcheurs locaux ont permis de génotyper des milliers de marqueurs génétiques *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) pour 101 individus échantillonnés sur la côte orientale de la Corse. Pour répondre aux questions posées, des analyses de parenté génétique ont effectuées ainsi qu'une estimation de la taille efficace de la population via la méthode de *Linkage Disequilibrium*.

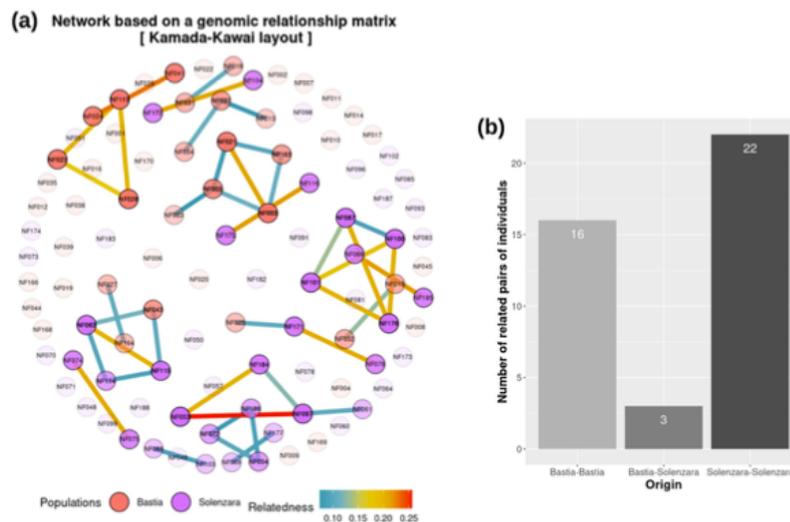


Figure 1. (a) Structures familiales révélées par l'analyse de parenté génétique (*Genomic Relationship Matrix*) parmi les 101 individus *S. squatina*. **(b)** Nombre de paires d'individus apparentés (parenté génétique $\geq 0,125$) en fonction de leur origine.

Résultats majeurs & Discussion

Les résultats de ces analyses génétiques révèlent 41 liens de parenté (**Figure 1a**), avec un fort apparentement entre les individus d'un même site, ce qui pourrait refléter une tendance à la sédentarité chez les anges de mer. En effet, très peu de liens familiaux sont formés entre les individus de Bastia et ceux de Solenzara (**Figure 1b**), correspondant à seulement 7 % des relations familiales détectées. De plus, les valeurs de parenté génétique augmentent lorsque la distance géographique diminue entre les individus (**Figure 2**). Au total, 48 % des individus échantillonnés ont un lien de parenté fort avec au moins un autre individu échantillonné.

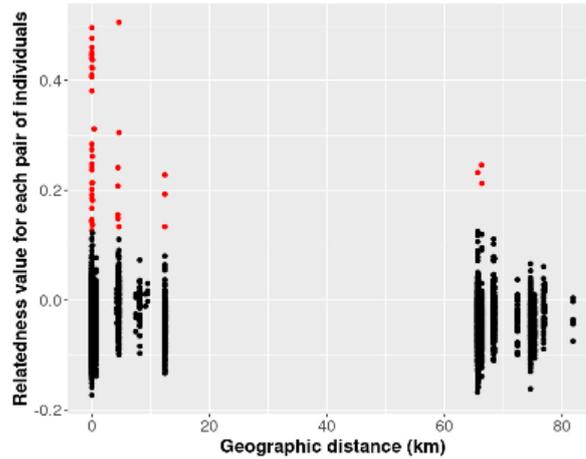


Figure 2. Influence de la distance géographique sur la parenté génétique entre les 101 individus ange de mer. Les paires d'individus ayant un coefficient de parenté génétique Wang $\geq 0,125$ sont colorées en rouge.

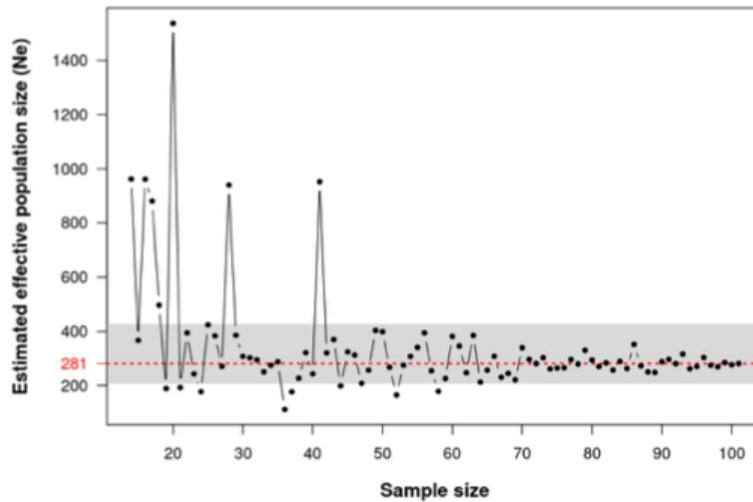


Figure 3. Influence du nombre d'individus échantillonnés (*sample size*) sur la précision d'estimation de la taille efficace de la population (N_e). La valeur de N_e calculée pour 101 individus est notée en rouge. L'intervalle grisé correspond à l'intervalle de confiance à 95 % estimé par la méthode JackKnife pour le N_e obtenu avec 101 individus.

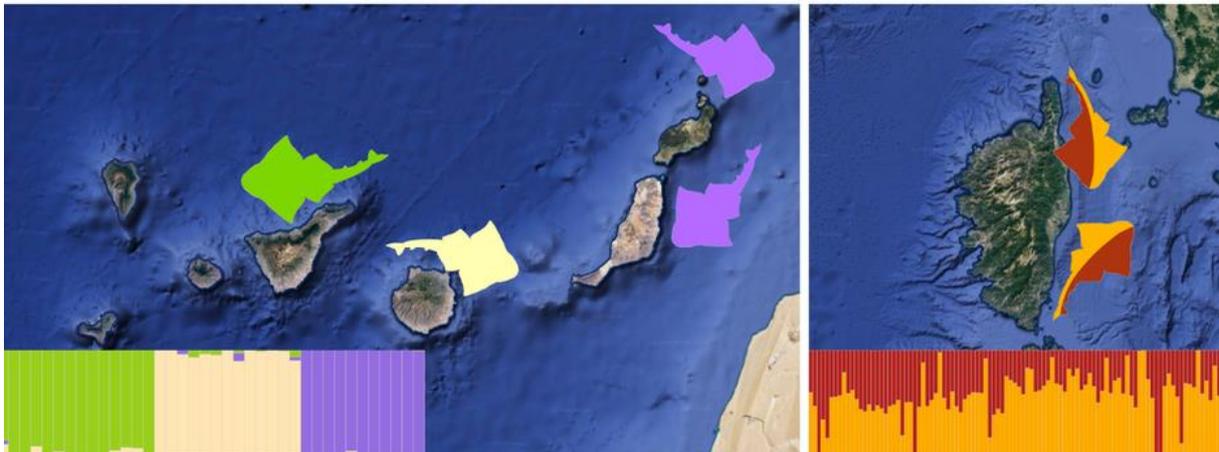
Par ailleurs, la taille efficace de la population a été estimée à 281 ($IC_{parametric} 95\% : 280,3 - 282,1$; $IC_{jackknife} 95\% : 205,9 - 428,9$) pour la période d'échantillonnage 2020 - 2022. Cette faible taille efficace pourrait refléter l'épisode de réduction sévère des populations (goulot d'étranglement) en raison de la surpêche au cours du 20^{ème} siècle, entraînant une réduction de la diversité génétique. Les résultats indiquent aussi qu'un échantillonnage de 60 individus serait suffisant pour, à l'avenir, estimer de nouveau la taille efficace de manière exacte et précise (**Figure 3**). Un suivi temporel de la taille efficace permettrait de déterminer si cette population tend à disparaître ou si elle repeuple progressivement les eaux Corses.

ANNEXE 6 : Mémoire de stage de M2 (Nadia FAURE, 2023)

MSc 2 Applied Research for Biodiversity Conservation (RAINET')
Université de Montpellier

Genetic structure and diversity of Critically Endangered angelshark (*Squatina squatina*) populations revealed by genome-wide SNP markers, in the Canary Islands and Corsica

(manuscript in prep.)



Nadia Faure

1st March - 31 August 2023

Supervisors:

Stéphanie Manel (EPHE, UMR CEFE, team Biogéographie et Écologie des Vertébrés)
Julie Deter (UMR MARBEC & Andromède Océanologie)

Hosting structure:

UMR 5175 - Centre d'Écologie Fonctionnelle et Évolutive (CEFE), 1919 route de Mende, 34090, Montpellier

Funding structure:

UMR MARine Biodiversity, Exploitation and Conservation (MARBEC), 93 place Eugène Bataillon, 34090 Montpellier

Master's tutor: Anne Charpentier, Master RAINET



Acknowledgments

Cette étude fait partie du projet ANGE (mieux connaître et faire connaître le requin ange de mer commun *Squatina squatina* dans son dernier refuge, la Corse) portée par l'université de Montpellier (UMR MARBEC) en partenariat avec Andromède Océanologie et Bastia Offshore Fishing grâce au soutien de l'Agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse, l'OFB et le Parc Naturel Marin Cap Corse et de l'Agriate.

Je remercie Stéphanie Manel et Julie Deter pour leur encadrement scientifique dans ce projet passionnant. Merci à elles pour leur confiance et leur enthousiasme !

Je remercie également Eva Meyers et Kevin Feldheim, membres du *Angel Shark Project*, pour cette collaboration intéressante autour de l'ange de mer. Merci à eux pour leurs échantillons des Canaries et leurs conseils.

Je remercie Franck Pichot pour le travail qu'il a fourni dans la collecte des échantillons d'ange de mer auprès des pêcheurs corses. Et merci à Véronique Arnal pour la gestion des précieux échantillons au CEFE.

Je tiens aussi à remercier la doctorante Maurine Vilcot, qui m'a aidée et conseillée pendant les analyses sur R. Merci aussi à toute mon équipe BEV pour cette bonne ambiance au CEFE !

Merci à Michael Sealey de m'avoir partagé ses photos des anges de mer des îles Canaries.

Table of contents

Abstract (246 words)	2
1 – Introduction (1153 words)	3
2 – Materials and Methods (1647 words)	5
2.1 – Sample collection	5
<i>Canary Islands</i>	
<i>Corsica</i>	
2.2 – DNA extraction and genotyping	6
2.3 – Data filtering	7
2.4 – Population genetic structure	8
2.5 – Population genetic diversity	9
3 – Results (1151 words)	10
3.1 – Population genetic structure	10
<i>Global</i>	
<i>Canary Islands</i>	
<i>Corsica</i>	
3.2 – Population genetic diversity	14
4 – Discussion (1242 words)	15
<i>Depth as a barrier to gene flow</i>	
<i>Angels shark life-history traits and genetic structure</i>	
<i>Impact of overfishing on genetic structure and diversity</i>	
<i>Genomic data filtering</i>	
<i>Implications for conservation</i>	
5 – Conclusion (78 words)	17
References	17
Appendix	21

Abstract

English: The angelshark, *Squatina squatina*, is a coastal, demersal shark with a patchy distribution in the Mediterranean and Eastern Atlantic due to past overfishing. This species is particularly vulnerable to accidental capture in trawl nets, largely due to its body size and benthic lifestyle, leading to population declines. A few isolated populations still persist across its range, such as in the Canary Islands (Atlantic) and in Corsica (Mediterranean), but nothing is known about the connectivity, structure and diversity of the remaining populations. We collected angelshark skin samples from Corsica and the Canary Islands from fisheries bycatch and tagging studies. A total of 17,587 genome-wide Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) was genotyped across 140 individuals, using a reduced-representation sequencing approach to study the population genetic structure and diversity in both regions. Our results show that Canarian and Corsican angelsharks are two separate populations, significantly differentiated ($F_{ST} = 0.306$, p value < 0.01). Among the Canary Islands, we identified distinct genetic clusters, with strong genetic differentiation between islands (F_{ST} ranging from 0.012 to 0.281) and low levels of genetic diversity. In contrast, Corsican angelsharks appear to form a single population along the east coast, as they show no genetic structure. These population genetic patterns are likely driven by bathymetric barriers, slow life cycle characteristics of the species and past overfishing. Overall, the results provide important information for the conservation of this IUCN Red Listed Critically Endangered species, that should be considered in future regional action plans to ensure appropriate management actions.

French: L'ange de mer, *Squatina squatina*, est un requin démersal côtier dont l'aire de répartition en Méditerranée et dans l'Atlantique Est est fragmentée en raison de la surpêche. La large taille et le mode de vie benthique de cette espèce l'exposent aux captures accidentelles par les chaluts, entraînant un déclin des populations. Quelques populations isolées persistent encore dans son aire de répartition, comme dans les îles Canaries (Atlantique) et en Corse (Méditerranée), mais on ne sait rien de la connectivité, de la structure et de la diversité des populations restantes. Nous avons collecté des échantillons d'ange de mer en Corse et aux îles Canaries à partir de captures accidentelles par les pêcheurs et d'études de marquage. Un total de 17587 *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) a été génotypé pour 140 individus, pour étudier la structure et la diversité génétique des populations des deux régions. Nos résultats montrent que les individus des Canaries et de Corse sont deux populations séparées, significativement différenciées ($F_{ST} = 0,306$; p value < 0,01). Au sein des îles Canaries, nous avons identifié des groupes génétiques distincts, avec une forte différenciation génétique entre les îles et une faible diversité génétique. En revanche, les individus corses semblent constituer une seule population le long de la côte orientale, car ils ne présentent aucune structure génétique. Ces résultats peuvent s'expliquer par la présence de barrières bathymétriques, la lenteur du cycle de vie de l'espèce et la surpêche passée. Les résultats fournissent des informations importantes sur cette espèce classée en danger critique d'extinction sur la liste rouge de l'IUCN, qui devraient être pris en compte dans les futurs plans d'action régionaux afin de garantir des mesures de conservation et de gestion appropriées.

Keywords: angelshark, *Squatina squatina*, endangered, SNPs, population genomics, structure

1 - Introduction

Recognized as one of the three components of biodiversity, along with species and ecosystems, genetic diversity refers to the variability of genes within a species. It contributes to the maintenance of biological diversity and evolutionary processes (Ellegren & Galtier, 2016), and allows species to adapt to global changes (Razgour *et al.*, 2019). Populations more than species appear to be the functional unit of ecosystems, because a species can be composed a several genetically very distinct populations (Hughes *et al.*, 1997). The loss of a population could have substantial ecological and evolutionary effects, even though the species itself is relatively safe from extinction in a part of its former range (Allendorf *et al.*, 2022). Moreover, when a small population is isolated, it will tend to suffer from genetic drift and inbreeding, leading to a loss of genetic diversity. This will also result in genetic divergence between populations, with reduced gene exchange between populations.

In marine ecosystems, industrial fishing during the past century has brought the oceans into an era of "anthropocene defaunation" (McCauley *et al.*, 2015), altering the genetic diversity and structure of many marine populations. Within threatened species on the Red List of the International Union for Conservation of Nature (IUCN), genetic diversity has declined, on average, by 9-33% in recent decades (Exposito-Alonso *et al.*, 2022). Chondrichthyans – sharks, rays, skates and chimaeras, are particularly concerned by this decline, primarily because of the combination of intense fishing pressure (Dulvy *et al.*, 2014) and slow life-history traits (late maturity, low fecundity, slow growing). More than one-third of chondrichthyan species are now threatened by overfishing (Dulvy *et al.*, 2021).

Declines in genetic diversity across generations and population isolation can be assessed thanks to the use of genomic approaches. An increasingly common method to study these components is the use of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), which are variations at a single base pair location, allowing to differentiate individuals within a population. Most SNPs are bi-allelic, meaning that they have only two alternative states within the target species (Freeland, 2020). SNP markers have less variability compared with microsatellite markers, as the latter is constituted of repeated nucleotides with the four possible states. However, SNPs are much more numerous than microsatellites throughout the genome, providing a more accurate representation of genome-wide variation (Zimmerman *et al.*, 2020). In addition, a large number of SNPs can outperform microsatellites for estimating precise population-level diversity metrics, clustering individuals into distinct groups (Zimmerman *et al.* 2020) and resolving subtle genetic structuring (Skey *et al.*, 2023).

Genome-wide markers, such as SNPs, relies on reduced representation DNA sequencing approaches (eg. restriction site-associated DNA sequencing) that capture only a small portion of the genome but which provides sufficient genetic data (Andrews *et al.*, 2016; Momigliano *et al.*, 2017; Theissinger *et al.*, 2023). By cutting the genome into millions of DNA fragments using restriction enzymes, and selecting only the fragments of interest (i.e. containing SNPs), it is possible to generate a reduced representation of the whole genome containing enough information to reveal genetic patterns of a population or species under study (Theissinger *et al.*,

Abstract

English: The angelshark, *Squatina squatina*, is a coastal, demersal shark with a patchy distribution in the Mediterranean and Eastern Atlantic due to past overfishing. This species is particularly vulnerable to accidental capture in trawl nets, largely due to its body size and benthic lifestyle, leading to population declines. A few isolated populations still persist across its range, such as in the Canary Islands (Atlantic) and in Corsica (Mediterranean), but nothing is known about the connectivity, structure and diversity of the remaining populations. We collected angelshark skin samples from Corsica and the Canary Islands from fisheries bycatch and tagging studies. A total of 17,587 genome-wide Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) was genotyped across 140 individuals, using a reduced-representation sequencing approach to study the population genetic structure and diversity in both regions. Our results show that Canarian and Corsican angelsharks are two separate populations, significantly differentiated ($F_{ST} = 0.306$, p value < 0.01). Among the Canary Islands, we identified distinct genetic clusters, with strong genetic differentiation between islands (F_{ST} ranging from 0.012 to 0.281) and low levels of genetic diversity. In contrast, Corsican angelsharks appear to form a single population along the east coast, as they show no genetic structure. These population genetic patterns are likely driven by bathymetric barriers, slow life cycle characteristics of the species and past overfishing. Overall, the results provide important information for the conservation of this IUCN Red Listed Critically Endangered species, that should be considered in future regional action plans to ensure appropriate management actions.

French: L'ange de mer, *Squatina squatina*, est un requin démersal côtier dont l'aire de répartition en Méditerranée et dans l'Atlantique Est est fragmentée en raison de la surpêche. La large taille et le mode de vie benthique de cette espèce l'exposent aux captures accidentelles par les chaluts, entraînant un déclin des populations. Quelques populations isolées persistent encore dans son aire de répartition, comme dans les îles Canaries (Atlantique) et en Corse (Méditerranée), mais on ne sait rien de la connectivité, de la structure et de la diversité des populations restantes. Nous avons collecté des échantillons d'ange de mer en Corse et aux îles Canaries à partir de captures accidentelles par les pêcheurs et d'études de marquage. Un total de 17587 *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) a été génotypé pour 140 individus, pour étudier la structure et la diversité génétique des populations des deux régions. Nos résultats montrent que les individus des Canaries et de Corse sont deux populations séparées, significativement différenciées ($F_{ST} = 0,306$; p value < 0,01). Au sein des îles Canaries, nous avons identifié des groupes génétiques distincts, avec une forte différenciation génétique entre les îles et une faible diversité génétique. En revanche, les individus corses semblent constituer une seule population le long de la côte orientale, car ils ne présentent aucune structure génétique. Ces résultats peuvent s'expliquer par la présence de barrières bathymétriques, la lenteur du cycle de vie de l'espèce et la surpêche passée. Les résultats fournissent des informations importantes sur cette espèce classée en danger critique d'extinction sur la liste rouge de l'IUCN, qui devraient être pris en compte dans les futurs plans d'action régionaux afin de garantir des mesures de conservation et de gestion appropriées.

Keywords: angelshark, *Squatina squatina*, endangered, SNPs, population genomics, structure

1 - Introduction

Recognized as one of the three components of biodiversity, along with species and ecosystems, genetic diversity refers to the variability of genes within a species. It contributes to the maintenance of biological diversity and evolutionary processes (Ellegren & Galtier, 2016), and allows species to adapt to global changes (Razgour *et al.*, 2019). Populations more than species appear to be the functional unit of ecosystems, because a species can be composed a several genetically very distinct populations (Hughes *et al.*, 1997). The loss of a population could have substantial ecological and evolutionary effects, even though the species itself is relatively safe from extinction in a part of its former range (Allendorf *et al.*, 2022). Moreover, when a small population is isolated, it will tend to suffer from genetic drift and inbreeding, leading to a loss of genetic diversity. This will also result in genetic divergence between populations, with reduced gene exchange between populations.

In marine ecosystems, industrial fishing during the past century has brought the oceans into an era of "anthropocene defaunation" (McCauley *et al.*, 2015), altering the genetic diversity and structure of many marine populations. Within threatened species on the Red List of the International Union for Conservation of Nature (IUCN), genetic diversity has declined, on average, by 9-33% in recent decades (Exposito-Alonso *et al.*, 2022). Chondrichthyans – sharks, rays, skates and chimaeras, are particularly concerned by this decline, primarily because of the combination of intense fishing pressure (Dulvy *et al.*, 2014) and slow life-history traits (late maturity, low fecundity, slow growing). More than one-third of chondrichthyan species are now threatened by overfishing (Dulvy *et al.*, 2021).

Declines in genetic diversity across generations and population isolation can be assessed thanks to the use of genomic approaches. An increasingly common method to study these components is the use of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), which are variations at a single base pair location, allowing to differentiate individuals within a population. Most SNPs are bi-allelic, meaning that they have only two alternative states within the target species (Freeland, 2020). SNP markers have less variability compared with microsatellite markers, as the latter is constituted of repeated nucleotides with the four possible states. However, SNPs are much more numerous than microsatellites throughout the genome, providing a more accurate representation of genome-wide variation (Zimmerman *et al.*, 2020). In addition, a large number of SNPs can outperform microsatellites for estimating precise population-level diversity metrics, clustering individuals into distinct groups (Zimmerman *et al.* 2020) and resolving subtle genetic structuring (Skey *et al.*, 2023).

Genome-wide markers, such as SNPs, relies on reduced representation DNA sequencing approaches (eg. restriction site-associated DNA sequencing) that capture only a small portion of the genome but which provides sufficient genetic data (Andrews *et al.*, 2016; Momigliano *et al.*, 2017; Theissinger *et al.*, 2023). By cutting the genome into millions of DNA fragments using restriction enzymes, and selecting only the fragments of interest (i.e. containing SNPs), it is possible to generate a reduced representation of the whole genome containing enough information to reveal genetic patterns of a population or species under study (Theissinger *et al.*,

2023). This approach has already been applied to various chondrichthyan species (Delaval *et al.*, 2022; Lesturgie *et al.*, 2023; Manuzzi *et al.*, 2019; Venables *et al.*, 2021; Walsh *et al.*, 2022). However, genomic resources on chondrichthyans are still very limited, with only less than 1% of genomes already sequenced (Pearce *et al.*, 2021). In particular, IUCN Critically Endangered species, such as the Order Squatiniformes (angel sharks), were identified to be a priority for genomic population assessments, in order to increase management effectiveness and efficiency (Pearce *et al.*, 2021). To date, there is no published information on genetic structure and connectivity of the Critically Endangered angelshark (*Squatina squatina*).



Figure 1. The angelshark (*Squatina squatina*). Left: an adult in Biguglia, Corsica (© Laurent Ballesta). Right: a juvenile in the Canary Islands (© Michael J. Sealey).

The angelshark, *Squatina squatina* (Linnaeus, 1758) is a bottom-dwelling shark living in coastal marine waters (Figure 1). Its range overlap with two other closely-related species occurring in the Mediterranean and eastern Atlantic: the sawback angelshark (*Squatina aculeata*, Cuvier, 1829) and the smoothback angelshark (*Squatina oculata*, Bonaparte, 1840). Frequently observed in the Mediterranean and eastern Atlantic coasts during the 19th and early 20th centuries (Figure 2), the angelshark (*S. squatina*) has now become rare due to heavy fishing pressure (Ellis *et al.*, 2020). Although the catch of this species is now regulated by various international conventions, its range has been significantly reduced (-58%; Lawson *et al.*, 2020). Angelshark populations are declining and appear to be severely fragmented (Gordon *et al.*, 2019), placing *S. squatina* on the IUCN Red List in the Critically Endangered category since 2006 (Morey *et al.*, 2019). In Corsica, occasional sightings are reported by fishers on the eastern coast (Lapinski & Giovos, 2019) and the presence of the species has been detected for the first time in the north-western coast within the *Parc Naturel Marin du Cap Corse et de l'Agriate* (Faure *et al.*, 2023). In the Canary Islands, angelsharks are more abundant, probably due to the 1986 Spanish Royal Decree prohibiting any form of trawl fishing (Lawson *et al.*, 2020). While relatively robust, the Canarian angelshark population seems to be isolated from the other remaining populations (Figure 2).

The large body size and benthic lifestyle of this shark make it particularly vulnerable to accidental capture in fishers' nets. However, by-catches have the advantage of allowing skin samples to be taken from the individuals before they are released. This approach is useful to collect genetic data to investigate population genomics, revealing the genetic structure of marine populations (Farhadi *et al.*, 2022), genetic diversity (Garrison *et al.*, 2021), population connectivity (Feutry *et al.*, 2017), and relatedness between individuals (McClain *et al.*, 2022). It can also help guiding conservation actions by providing, for example, estimates of effective population size (Nunziata & Weisrock, 2018), allowing the identification of conservation units (Funk *et al.*, 2012) and informing fisheries management for the implementation of adapted management units to avoid overexploitation (Reiss *et al.*, 2009).

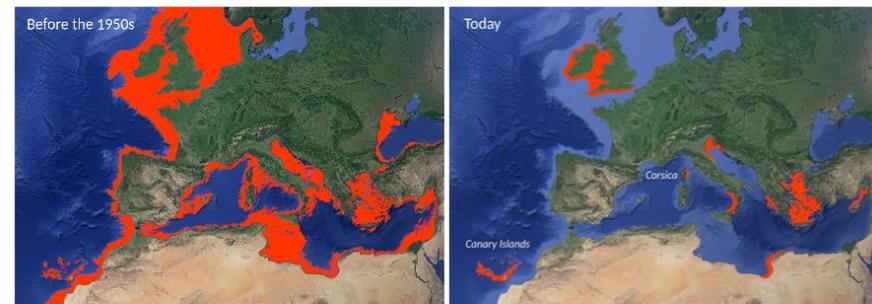


Figure 2. Former and current distribution of the angelshark (*Squatina squatina*) according to the IUCN Red List of Threatened Species (Morey *et al.*, 2019) and Lawson *et al.* 2020. The two regions of study, Corsica and the Canary Islands, are indicated on the right map.

This present study aims to investigate the genetic structure and diversity of *S. squatina* populations in two regions in the Atlantic and the Mediterranean, the Canary Islands and Corsica, using genome-wide SNP markers. The results will provide insight into the demographic structuration of these two remaining populations and their level of genetic diversity. Given the life-cycle characteristics of *S. squatina*, its rarity across its range and the isolation of the studied populations, I expect strong genetic differentiation and low levels of genetic diversity. Understanding whether remaining angelshark populations are connected or are isolated units is crucial for ensuring appropriate conservation and management actions.

2 - Materials and methods

2.1 - Sample collection

Canary Islands

S. squatina samples (N=38) were collected in 2022 from four localities in the Canary Islands (Figure 3a) by members of the Angel Shark Project. Whenever they tagged an individual by scuba-

diving, they collected a small genetic sample. For each individual, a skin fragment (fin clip of 1cm²) was taken and directly preserved in DMSO. These samples were transferred into pure ethanol and preserved in -20°C freezer at the Centre d'Écologie Fonctionnelle et Évolutive (CEFE, Montpellier) until DNA extraction.

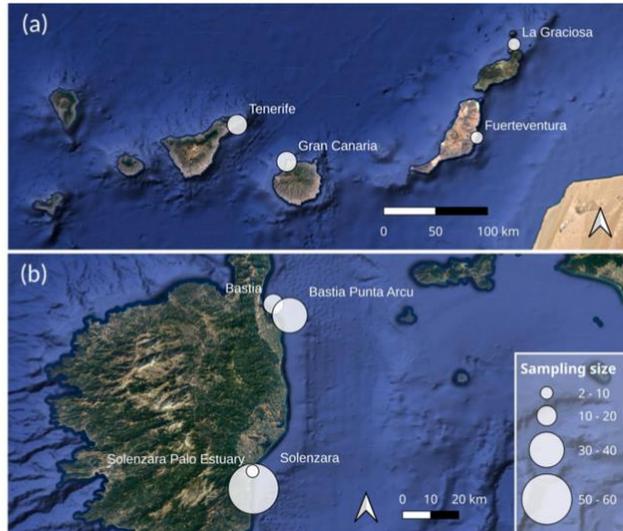


Figure 3. Map of sampling locations and number of samples of angelshark (*S. squatina*) individuals collected per site, in the Canary Islands (a) and in Corsica (b).

Corsica

S. squatina samples (N=105) were collected between 2020 and 2022 on the eastern coast of Corsica (**Figure 3b**) from local fishers that accidentally captured individuals in their trawl nets. For each individual, a skin fragment (fin clip of 1cm²) was taken and directly preserved in pure alcohol before the release of the individual in the sea. When possible, we recorded the exact location where the individual was caught, its sex, total length and depth of capture. All samples were stored in pure ethanol and preserved in -20°C freezer at the CEFE (Montpellier) until DNA extraction. We also obtained tissue samples from museums and aquariums (Valencia Oceanographic, Aquarium Finisterrae, Museum of Liège, Sicily, Sardinia; **Appendix 1**).

2.2 - DNA extraction and genotyping

A total of 188 tissue samples (**Appendix 1**) were sent to Diversity Arrays Technology (DART-Seq™), in Canberra, Australia, for DNA extraction and genotyping, using the standard DARTSeq

protocol (Sansaloni *et al.*, 2011). Among these 188 samples, 39 individuals were put twice in the DART plate to estimate DNA extraction and genotyping reproducibility and error rate from these replicates.

DNA was extracted from each skin sample and was processed for genome complexity reduction, which was achieved with a double restriction digest using *Pst*I and *Sph*I restriction enzymes. Genomic DNA was fragmented by these two restriction enzymes and only the DNA fragments containing the most useful information were selected and amplified by PCR (**Appendix 2**). Resulting libraries were genotyped using DARTseq technology, which combines DART's genome complexity reduction method with Next Generation Sequencing (NGS) techniques to detect SNPs (Kilian *et al.*, 2012). Genotyping results consisted in SNP markers coded in a binary matrix, with the value 1 for the presence of a SNP relative to the reference sequence and the value 0 for its absence. Thus homozygotes are coded 1/1 or 0/0, while heterozygotes are coded 0/1 or 1/0.

2.3 - Data filtering

The initial genomic dataset, comprising 174 samples (**Appendix 1**) with 38,081 biallelic SNPs, had a mean read depth of 7.5 and 7.52% missing data (**Table 1**). I filtered the data to improve data quality while optimizing the number of loci available for analysis. The data were filtered with the dartR package version 2.7.2 in R (Gruber *et al.*, 2019) to remove SNPs and/or individuals that will not be included in the analysis due to large amount of missing data or genotyping error.

Table 1. Filtering steps carried out with the dartR package version 2.7.2 in R (Gruber *et al.*, 2019) to improve genomic data quality while optimizing the number of loci available for analysis.

	(1)	(2)	(3)	(4)
	Initial genomic dataset	After removing duplicated individuals ¹	After filtering call rate by locus ²	After filtering MAF ³
Number of genotypes	174	141	141	141
Number of loci (i.e. SNPs)	38,081	38,081	35,767	17,587
Number of polymorphic loci	38,081	35,812	33,607	17,587
Number of monomorphic loci	0	2,269	2,160	0
Percentage of missing data	7.52%	7.12%	4.68%	3.87%

¹ remove individuals with the lowest call rate value

² remove SNPs with a call rate value < 0.70

³ remove SNPs with MAF < 5%

I first removed individuals that were duplicates of other genotyped individuals. For each pair of duplicated individuals genotyped twice, I removed the individual with the lowest call rate value. This led to the removal of 33 individuals, leaving 38,081 SNPs across 141 individuals (**Table 1**).

Among the dataset of 141 unique individuals (i.e. 141 genotypes), I filtered the SNP data using a call rate threshold of 70%, meaning that I retain SNPs for which there is less than 30%

missing data. The call rate for a given SNP is defined as the proportion of individuals in the study for which the corresponding SNP information is not missing (Reed *et al.*, 2015). This filtering step removed 2,314 SNPs, leading to a dataset with a total of 35,767 SNPs across 141 individuals, with 4.68% missing data (Table 1).

Finally, Minor Allele Frequency (MAF) was filtered to remove low-frequency variants, which are less informative for population genetics analyses and that can sometimes be the result of genotyping errors. I removed SNPs for which the MAF was less than 5% (Table 1). This last step left 17,587 SNPs across 141 individuals (3.87% missing data) that were used in all subsequent analyses. This dataset of 141 individuals includes 102 individuals from Corsica, 38 individuals from the Canary Islands and 1 individual from the aquarium Valencia Oceanographic, Spain. Detailed information on these 141 individuals is reported in Appendix 3.

Two subsets were created (Corsica, Canary Islands) for analyzing the two regions separately. The subset with only Corsican individuals contained 17,477 SNPs across 102 individuals (with 4.47% missing data). The subset with only Canarian individuals contained 9,648 SNPs across 38 individuals (with 1.67% missing data). Each subset contains a reduced amount of SNPs because I removed monomorphic loci, which are SNPs that are not informative. Monomorphic loci were more abundant for Canarian than Corsican individuals, which explains the lower number of SNPs for the Canary Island subset (9,648 SNPs).

2.4 – Population genetic structure

All analyses were performed in R version 4.3.0 (R Core Team, 2023). The pattern of population structure was investigated by carrying out in parallel (1) a Bayesian-based structure analysis, (2) a Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC), and (3) calculations of pairwise estimates of F_{ST} (Table 2).

Table 2. Summary of the analyses carried out to estimate the genetic structure and diversity of angelshark populations.

	Analysis	R package	Description
Genetic structure	sNMF	LEA	Sparse non-negative matrix factorization. Bayesian-based analysis of genetic structure used to determine the most likely number of genetic clusters
	DAPC	adegenet	Discriminant Analysis of Principal Components. Multivariate method based on Principal Component Analysis and Discriminant Analysis to produce synthetic axes that maximize between-group genetic variation
	F_{ST}	dartR	Genetic differentiation. Ratio of between-population heterozygosity to total gene heterozygosity. The index varies between 0 (no genetic differentiation) and 1 (strong genetic differentiation)
Genetic diversity	H_o	dartR	Observed heterozygosity. Proportion of heterozygous loci for each individual without missing data, averaged over the individuals of the population
	H_e	dartR	Expected heterozygosity. $H_e = 1 - (p^2 + q^2)$, where p is the frequency of the reference allele and q is the frequency of the alternative allele.
	F_{IS}	dartR	Inbreeding coefficient of an individual with respect to the local subpopulation: $F_{IS} = 1 - (H_o/H_e)$

We used the R package LEA version 3.10.2 (Frichot & François, 2015) to run population structure inference algorithms, to determine the most likely number of population clusters (K) within our dataset, and obtain admixture coefficient bar-plots. The R function *snmf*, which is based on sparse non-negative matrix factorization (sNMF) algorithms, was applied to estimate the cross-entropy criterion, which is used to guide the choice of the number of ancestral populations (K) and the results from the best run. After running this function with varying K from 1 to 8, we selected the most likely K, corresponding to the smallest cross-entropy criterion value. Then, the *snmf* function was run again with the chosen K number of ancestral populations to estimate admixture coefficients (i.e. genetic ancestry proportions) for each individual (François, 2016).

This unsupervised Bayesian clustering approach was complemented with a multivariate method, the Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC), to identify and describe clusters of genetically related individuals (Jombart *et al.*, 2010), using the R package *adegenet* version 2.1.8 (Jombart, 2008). The DAPC relies on data transformation using Principal Component Analysis (PCA) as a first step, which generates uncorrelated variables, followed by a Discriminant Analysis (DA) on the uncorrelated PCA variables, which produces synthetic discriminant functions (axes) that maximize between-group variation while minimizing within-group variation (Jombart *et al.*, 2010). I determined the optimal number of clusters by performing a DAPC with no prior information with the function *find.clusters*. This function uses a sequential *k*-means clustering algorithm and model selection, based on the Bayesian Information Criterion (BIC), to infer genetic clusters (Jombart *et al.*, 2010). This multivariate method is very useful to summarize covariances among thousands of loci (17,587 SNPs in current study) (Thia, 2023). The resulting clusters were plotted with the first and the second discriminant components (and 3rd if needed).

Genetic differentiation between sites (or between clusters identified by the DAPC) was revealed by calculating pairwise estimates of F_{ST} (Weir & Cockerham, 1984) with 5,000 bootstraps using the function *gl.st.pop* from the R package *dartR* version 2.7.2 (Gruber *et al.*, 2019). The F_{ST} metric reflects the magnitude of genetic difference between two populations and it varies between 0 (no genetic differentiation) and 1 (strong genetic differentiation).

2.5 – Population genetic diversity

Patterns of population genetic diversity were assessed by calculating estimates of observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e) and inbreeding coefficient (F_{IS}) with the package *dartR* version 2.7.2 (Gruber *et al.*, 2019) (Table 2). Observed heterozygosity is the proportion of heterozygous loci for each individual without missing data, averaged over the individuals of the population, while expected heterozygosity is the proportion of heterozygotes expected under Hardy-Weinberg equilibrium, for each locus, averaged across the loci of the population. To investigate whether the sample size had an effect on genetic diversity estimates, I randomly selected 38 individuals among the Corsican individuals. The metrics of genetic diversity were then recalculated using the new subset of 38 Corsican individuals.

3 – Results

3.1 – Population genetic structure

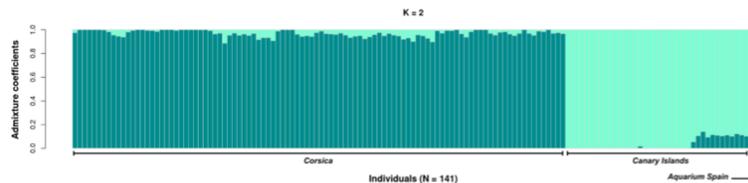


Figure 4. Structure bar plot (K=2) showing admixture proportions for all 141 angelshark individuals (vertical bars) genotyped at 17,587 SNPs loci. Analysis performed with the R package LEA version 3.10.2 (Frichot & François, 2015).

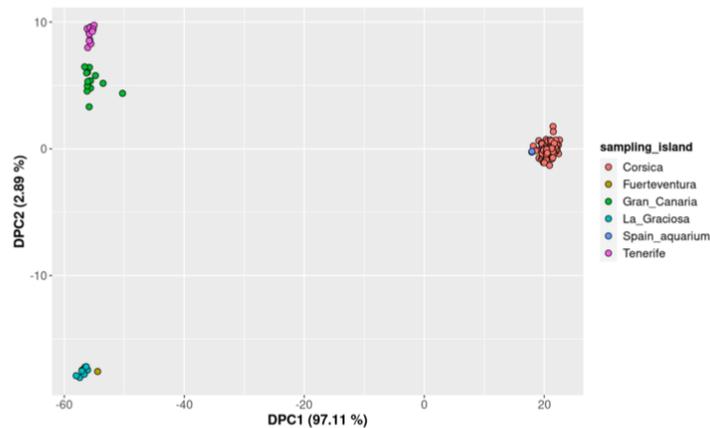


Figure 5. Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) plot of all 141 angelshark individuals genotyped at 17,587 SNPs loci. Thirty PCs and two discriminant functions were retained to describe the relationships between clusters. The x and y axis represent the first and second discriminant functions. Analysis performed with the R package adegenet version 2.1.8 (Jombart, 2008).

Global

Both sNMF and DAPC clustering algorithms found K=2 as the most likely number of clusters (i.e. two ancestral populations), corresponding to the lowest cross-entropy value and BIC value. The clusters inferred by sNMF perfectly matched the two regions: Corsica and Canary Islands. The structure plot clearly shows that the Canary Islands and Corsica belong respectively to two distinct ancestral populations (Figure 4). This finding is confirmed by the DAPC, which also reveals that Corsican angelsharks are differentiated from Canarian angelsharks (Figure 5). This is the first

principal component (DPC1) that clearly distinguishes the Corsican population from the Canarian population, explaining 97.11% of the genetic difference between these two clusters. The second discriminant function (DPC2), which explains only 2.89% of the variability of the data points, separates the Canarian individuals into three groups, corresponding to three islands but with Fuerteventura and La Graciosa grouped together. Pairwise F_{ST} comparisons revealed significant levels of genetic subdivision between localities, ranging from 0.012 to 0.306 (Figure 6). All F_{ST} values were significant (pvalue < 0.01), and the strongest genetic differentiation was between Corsica and Tenerife ($F_{ST} = 0.306$, pvalue < 0.01). Although the structure analysis (DAPC) has grouped Fuerteventura and La Graciosa together, these two islands still show little genetic differentiation ($F_{ST} = 0.012$, pvalue < 0.01).

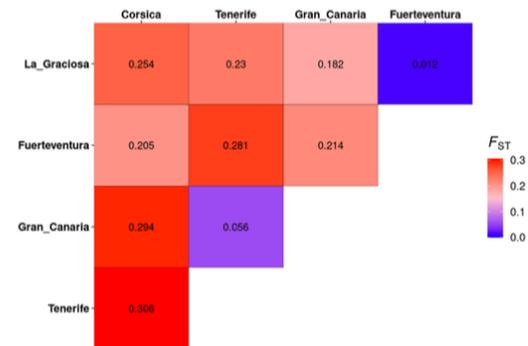


Figure 6. Pairwise estimates of F_{ST} calculated between islands (with 5,000 bootstraps) with the R package dartR version 2.7.2 (Gruber et al., 2019). The F_{ST} metric varies from 0 (no genetic differentiation) to 1 (high genetic differentiation). All values displayed on this plot are statistically significant (pvalue < 0.01).

The individual from the aquarium of Valencia, Spain (individual in blue Figure 5), whose wild origin is unknown, appears genetically similar to the Corsican individuals as it is assigned to the genetic cluster of Corsican individuals by both DAPC and sNMF clustering algorithms (Figure 4).

Canary Islands

Structure-like analysis (sNMF algorithm) identified a number of clusters corresponding to the different Canarian islands. Given that cross-entropy values were the lowest and subtly the same for K=2 and K=3, I run the sNMF algorithm for these two values separately. When choosing two clusters (K=2), the analysis identified Tenerife and Gran Canaria as one ancestral population (Figure 7; beige) and Fuerteventura and La Graciosa as another ancestral population (Figure 7; purple). When using three clusters (K=3) for the analysis, the structure plot distinguished Tenerife as a third unique genetic group (Figure 7; green). These results are consistent with the results from the DAPC, which also clustered Canarian individuals into three very distinct groups (Figure 8). The lowest BIC value was obtained at K=3, therefore, two discrimination functions were detected,

which explains 90.19% and 9.81% of the variation between clusters. In line with the DAPC results, pairwise F_{ST} comparisons showed significant genetic differentiation between the islands: Tenerife – Gran Canaria ($F_{ST} = 0.056$, $pvalue < 0.01$), Gran Canaria – La Graciosa ($F_{ST} = 0.182$, $pvalue < 0.01$) and Tenerife – La Graciosa ($F_{ST} = 0.23$, $pvalue < 0.01$) (Figure 6).

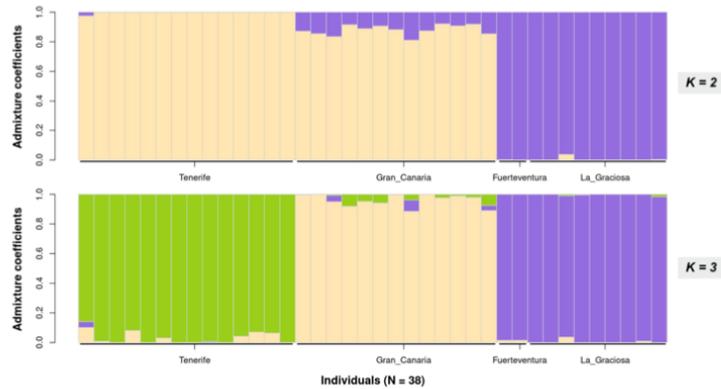


Figure 7. Structure bar plots, for K=2 and K=3, showing admixture proportions for the 38 angelshark individuals (vertical bars) from the Canary Islands genotyped at 9,648 SNPs loci. Analysis performed with the R package LEA version 3.10.2 (Frichot & François, 2015).

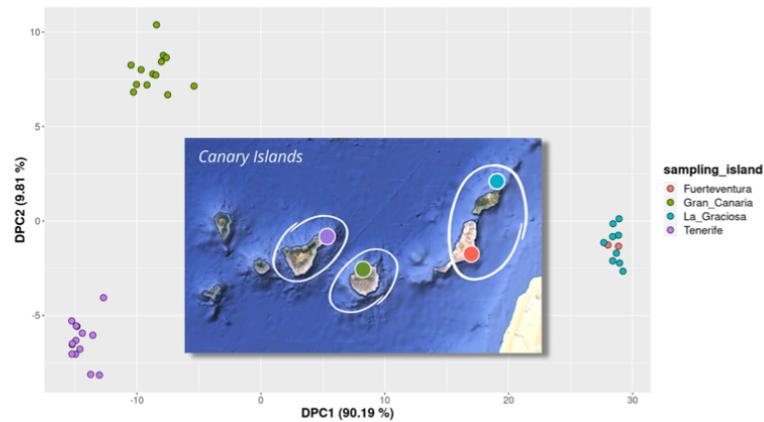


Figure 8. Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) plot of 38 Canarian angelshark individuals genotyped at 9,648 SNPs loci. Three PCs and two discriminant functions were retained to describe the relationships between clusters. The x and y axis represent the first and second discriminant functions. Analysis performed with the R package adegenet version 2.1.8 (Jombart, 2008).

Corsica

Both sNMF and DAPC clustering algorithms found that the most likely number of clusters was $K=1$, which would represent a single population. I tried with $K=2$, 3 and 4 as cross-entropy values were slightly the same for these three number of groups. The resulting structure plots show that Corsican individuals are almost all mixed ancestry of the different genetic lineages inferred (Figure 9). Similarly, no evidence of genetic structure was detected by the DAPC between the different sampling sites in Corsica. I selected three clusters ($K=3$), therefore two discriminant functions were retained, explaining 64.62% and 35.38% of the genetic variability of the 102 Corsican individuals (Figure 10). The DAPC plot shows that Corsican angelshark individuals from Bastia are mixed with those from Solenzara. Nevertheless, the first PC (64.62%) and the second PC (35.38%) differentiate some individuals that are not grouped in the main cluster of individuals. Surprisingly, pairwise F_{ST} values between each site in Corsica are significant, except between Bastia and Punta Arcu (Appendix 4).

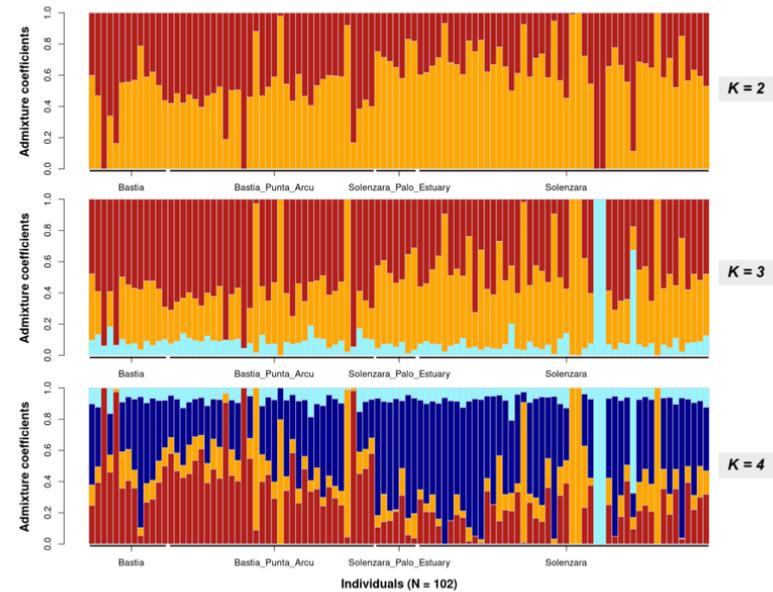


Figure 9. Structure bar plots, for K=2, K=3 and K=4, showing admixture proportions for the 102 angelshark individuals (vertical bars) from Corsica genotyped at 17,477 SNPs loci. Analysis performed with the R package LEA version 3.10.2 (Frichot & François, 2015).

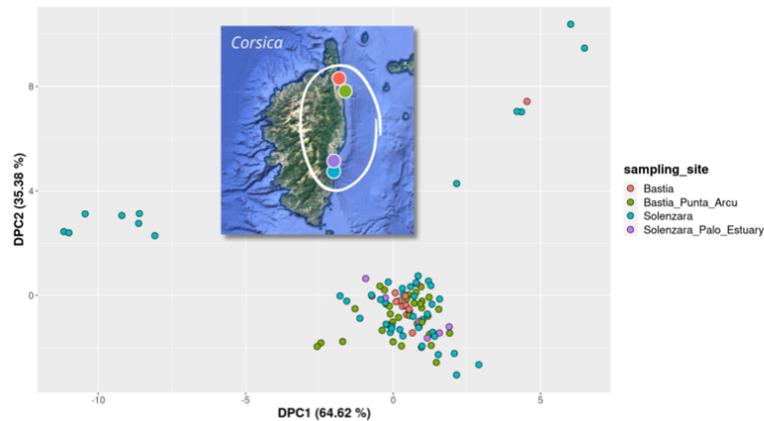


Figure 10. Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) plot of 102 Corsican angelshark individuals genotyped at 17,477 SNPs loci. Five PCs and two discriminant functions were retained to describe the relationships between clusters. The x and y axis represent the first and second discriminant functions. Analysis performed with the R package adegenet version 2.1.8 (Jombart, 2008).

3.2 – Population genetic diversity

Observed and expected heterozygosity estimates were more than twice as high for Corsica as for the Canary Islands (Table 3). Inbreeding coefficient was slightly higher for Corsica (0.123) compared with the Canary Islands (0.09). To correct the bias induced by the larger Corsican sample size, the same estimates were recalculated with equivalent sample sizes for the two regions (37 Corsican individuals, 37 Canarian individuals, without missing data). This resulted in values very similar to those found for the sample of 97 Corsican individuals (Table 3).

Table 3. Genetic diversity estimates for both region. Observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e) and inbreeding coefficient (F_{is}) for Canarian and Corsican angelsharks, with standard deviation (SD). The number of individuals (without missing data) and the number of polymorphic and monomorphic loci (i.e. SNPs) used to estimate the genetic diversity metrics are also indicated.

Region	Sample size	Number of loci	Polymorphic loci	Monomorphic loci	H_o (\pm SD)	H_e (\pm SD)	F_{is}
Canary Islands	37	17,583	9,651	7,935	0.132 (\pm 0.199)	0.143 (\pm 0.184)	0.09
Corsica	97	17,587	17,477	110	0.293 (\pm 0.155)	0.332 (\pm 0.132)	0.123
Corsica	37*	17,586	17,390	196	0.298 (\pm 0.165)	0.329 (\pm 0.136)	0.107

*randomly selected individuals

4 – Discussion

Population genetic analyses of genome-wide SNPs revealed genetic structure and diversity of *S. squatina* populations in the Canary Islands and Corsica. The results show that Canarian and Corsican angelsharks are two distinct populations, clearly differentiated. The highly significant F_{ST} value might even suggest that these two populations could differentiate into two subspecies if there is no genetic exchange between them. The results also provide evidence of strong genetic structuration and low genetic diversity in the Canary Islands, while higher levels of genetic diversity in Corsica with little genetic differentiation.

Depth as a barrier to gene flow

While migratory oceanic chondrichthyan species tend to have interconnected, homogeneous panmictic populations (Taguchi *et al.*, 2014; Venables *et al.*, 2021; Veríssimo *et al.*, 2017), coastal benthic species are shown to have more isolated populations with strong genetic structure (Barker *et al.*, 2015; Hirschfeld *et al.*, 2021; Manuzzi *et al.*, 2019) due to marine barriers to gene flow. This latter pattern applies to angelsharks, which are demersal and inhabit continental shelves at depths of less than 200 meters (Ellis *et al.*, 2020). The results of this current study show that the ocean depth seems to act as a barrier to dispersal for angelsharks. This hypothesis is supported by the distribution of clusters of Canarian individuals along the first and second discriminant axes of the DAPC (Figure 8), revealing that the individuals do not cross from an island to another, probably because of the deep waters (up to 2,000 meters) separating the islands (Appendix 5). Although only 85 km separate Gran Canaria from Fuerteventura, individuals from each of these islands do not seem to mix, leading to two distinct genetic lineages evident in the results (Figures 6, 7 & 8; with $F_{ST} = 0.214$, $pvalue < 0.01$). These results are congruent with previous studies showing that sharks avoid high resistance barriers such as deep waters (Barker *et al.*, 2015; Boussarie *et al.*, 2022). A study examining how marine barriers shape genetic connectivity among 102 elasmobranch species (Hirschfeld *et al.*, 2021) identified that the most common barriers were related to ocean bathymetry. Depth can create genetic structure at extremely small spatial scales in shallow-water demersal populations that depend on active dispersal (Hirschfeld *et al.*, 2021). For example, a 500-m deep channel in California divides Pacific angel shark (*Squatina californica*) individuals, creating two highly differentiated populations separated by only 100 km (Gaida, 1997). The results found for Corsica also align with the hypothesis that depth is a barrier to gene flow, as we observe roughly a single population along the eastern Corsican coast (Figures 9 & 10), which could be due to the shallow waters found between Bastia and Solenzara, allowing angelsharks to disperse. Despite the 100 km separating Solenzara from Bastia, the angelsharks from these two localities seem to mix together, as a single population. A tag study on 24 angelshark individuals equipped with an acoustic transmitter in Bastia found that they were able to travel up to 102 km (Stella Mare, unpublished data). This could explain the absence of strong genetic structure among the Corsican population and shows that the eastern coast of Corsica with its shallow waters is favorable for angelshark dispersal.

Angelshark life-history traits and genetic structure

The bathymetric barrier is not the only driving force behind the genetic structuring of *S. squatina*. Unlike species with pelagic larval dispersal that can spread across deep oceanic waters with currents (Chust *et al.*, 2016), which often results in weak genetic differentiation across seascape (Selkoe *et al.*, 2016), angelsharks depend on the active dispersal of adults for reproduction. They are ovoviviparous, meaning that juveniles hatch in the mother's uterus and already measure about 25 cm at birth. Their long gestation period (6 to 12 months), biennial reproductive cycle and low fecundity (less than 20 pups) make them particularly slow to multiply (Ellis *et al.*, 2020). Reproductive philopatry (i.e. breeding-site fidelity), which is a common behaviour reported in elasmobranchs (Chapman *et al.*, 2015; Flowers *et al.*, 2016), can also shape genetic structure (Hirschfeld *et al.*, 2021). This behaviour is unknown for angelsharks, however, they tend to show a certain degree of site-fidelity (Ellis *et al.*, 2020), which could explain the lack of genetic connectivity between angelsharks in the Canary Islands. Further analyses will be carried out to evaluate the relatedness (Iacchi *et al.*, 2013) between individuals (parent-offspring, siblings, half-sibs, etc.) in each region separately, to determine whether individuals tend to stay together in a same site or reproduce with more distant individuals.

Impact of overfishing on genetic structure and diversity

While ocean depth barrier and life-history traits of angelsharks may explain the results found in this study, it could also be the result of overfishing, which has drastically reduced populations, leading to low genetic diversity and strong differentiation. The remaining populations seem to persist only in regions not exposed to intense fishing pressure and in waters unfavorable to trawlers (Lawson *et al.*, 2020). Although the Canarian angelshark population is known to be one of the last strongholds for this species (Jiménez-Alvarado *et al.*, 2020; Lawson *et al.*, 2020; Meyers *et al.*, 2017), the results of this study show that there is a lower genetic diversity in the Canary Islands compared to Corsica. This lower genetic diversity values appear to result from the large amount of monomorphic loci present for Canarian individuals (7,935 loci) compared to Corsica (196 loci). The isolation of the Canary Islands in the Atlantic likely explains this low gene diversity, with probably no gene flow with outside populations as *S. squatina* is not reported along the African Atlantic coast (Figure 2). It would be interesting to compare these results of genetic diversity with museum samples to see if angelsharks have suffered a decline in genetic diversity in the past decades or using demographic approach to infer past history demography (Walsh *et al.*, 2022).

Genomic data filtering

SNP filtering practices, with the choice of thresholds in each filtering step, probably influences the results. For example, it was shown that a dataset with more missing data permitted (thus more loci) is better suited to obtain accurate population genetic estimates (Nazareno & Knowles, 2021). The choice of MAF threshold can also strongly influence population structure (Linck & Battey, 2019). However, there is no rule of thumb for this filtering process, which depends on the data and the biological model (Nazareno & Knowles, 2021). This stage of data filtering

seems crucial and must be carried out with care, as the results of a population genetic study can determine the direction of conservation efforts.

Implications for conservation

The results of this current study are a first overview of angelshark population genetic structure and diversity in the Canary Islands and Corsica. Strong genetic differentiation between islands in the Canary suggests that Tenerife, Gran Canaria and Fuerteventura-La Graciosa should be considered as three separate management units. Results for Corsica indicate that angelsharks form a single population along the east coast. This contributes to understanding the ecology and demographic structuration of angelsharks in these two regions, which should constitute useful information to be considered when revising current regional action plans (Barker *et al.*, 2016; Gordon *et al.*, 2019). These genomic data will also be used to estimate effective population size to provide information on population viability in each region under study (Nunziata & Weisrock, 2018). We also want to extend the genomic analysis to the entire current range of *S. squatina*, to understand genetic connectivity between the remaining populations and identify conservation units.

5 – Conclusion

Population genetic analyses of genome-wide SNP markers for 141 angelshark individuals revealed interesting patterns of genetic structure and diversity in the Canary Islands and Corsica. These patterns appear to be driven by bathymetric barriers, species life cycle characteristics and past overfishing, but further analyses should be undertaken to elucidate these hypotheses. An analysis of seascape genetics (Boussarie *et al.*, 2022) that includes these different variables could be interesting to test the drivers influencing the genetic structure.

References

- Allendorf F. W., Funk W. C., Aitken S. N., Byrne M., & Luikart G. (2022). *Conservation and the genomics of populations*. 3rd edition.
- Andrews, K. R., Good, J. M., Miller, M. R., Luikart, G., & Hohenlohe, P. A. (2016). Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nature Reviews Genetics*, 17(2), 81-92.
- Barker, J., Bartoli, A., Clark, M., Dulvy, N. K., Gordon, C., Hood, A., ... & Meyers, E. (2016). Angelshark action plan for the Canary Islands. *ZSL*, 2, 3.
- Barker, A. M., Nosal, A. P., Lewallen, E. A., & Burton, R. S. (2015). Genetic structure of leopard shark (*Triakis semifasciata*) populations along the Pacific coast of North America. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 472, 151-157.
- Boussarie, G., Momigliano, P., Robbins, W. D., Bonnini, L., Cornu, J. F., Fauvelot, C., ... & Vigliola, L. (2022). Identifying barriers to gene flow and hierarchical conservation units from seascape genomics: a modelling framework applied to a marine predator. *Ecography*, 2022(7), e06158.
- Carbó, A., Muñoz-Martín, A., Llanes, P., Álvarez, J., & EEZ Working Group. (2005). Gravity analysis offshore the Canary Islands from a systematic survey. *Geophysics of the Canary Islands: Results of Spain's Exclusive Economic Zone Program*, 113-127.

- Chapman, D. D., Feldheim, K. A., Papastamatiou, Y. P., & Hueter, R. E. (2015). There and back again: a review of residency and return migrations in sharks, with implications for population structure and management. *Annual review of marine science*, 7, 547-570.
- Chust, G., Villarino, E., Chenuil, A., Irigoien, X., Bizzel, N., Bode, A., ... & Borja, A. (2016). Dispersal similarly shapes both population genetics and community patterns in the marine realm. *Scientific reports*, 6(1), 1-12.
- Delaval, A., Frost, M., Bendall, V., Hetherington, S. J., Stirling, D., Hoarau, G., ... & Noble, L. R. (2022). Population and seascape genomics of a critically endangered benthic elasmobranch, the blue skate *Dipturus batis*. *Evolutionary Applications*, 15(1), 78-94.
- Dulvy, N. K., Fowler, S. L., Musick, J. A., Cavanagh, R. D., Kyne, P. M., Harrison, L. R., ... & White, W. T. (2014). Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *elife*, 3, e00590.
- Dulvy, N. K., Pacoureau, N., Rigby, C. L., Pollom, R. A., Jabado, R. W., Ebert, D. A., ... & Simpfendorfer, C. A. (2021). Overfishing drives over one-third of all sharks and rays toward a global extinction crisis. *Current Biology*, 31(21), 4773-4787.
- Ellegren, H., & Galtier, N. (2016). Determinants of genetic diversity. *Nature Reviews Genetics*, 17(7), 422-433.
- Ellis, J. R., Barker, J., McCully Phillips, S. R., Meyers, E. K., & Heupel, M. (2020). Angel sharks (Squatinae): A review of biological knowledge and exploitation. *Journal of Fish Biology*, 98(3), 592-621.
- Exposito-Alonso, M., Booker, T. R., Czech, L., Gillespie, L., Hateley, S., Kyriazis, C. C., ... & Zess, E. (2022). Genetic diversity loss in the Anthropocene. *Science*, 377(6613), 1431-1435.
- Farhadi, A., Pichlmüller, F., Yellapu, B., Lavery, S., & Jeffs, A. (2022). Genome-wide SNPs reveal fine-scale genetic structure in ornate spiny lobster *Panulirus ornatus* throughout Indo-West Pacific Ocean. *ICES Journal of Marine Science*, 79(6), 1931-1941.
- Faure, N., Manel, S., Macé, B., Arnal, V., Guellati, N., Holon, F., ... & Deter, J. (2023). An environmental DNA assay for the detection of Critically Endangered angel sharks (*Squatina* spp.). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*.
- Feutry, P., Berry, O., Kyne, P. M., Pillans, R. D., Hillary, R. M., Grewe, P. M., ... & Bravington, M. (2017). Inferring contemporary and historical genetic connectivity from juveniles. *Molecular Ecology*, 26(2), 444-456.
- Flowers, K. I., Ajemian, M. J., Bassos-Hull, K., Feldheim, K. A., Hueter, R. E., Papastamatiou, Y. P., & Chapman, D. D. (2016). A review of batoid philopatry, with implications for future research and population management. *Marine Ecology Progress Series*, 562, 251-261.
- François, O. (2016). Running Structure-like Population Genetic Analyses with R. *R Tutorials in Population Genetics*, U. Grenoble-Alpes, pages 1-9.
- Freeland, J. R. (2020). *Molecular ecology*. Third edition. John Wiley & Sons.
- Frichot, E., & François, O. (2015). LEA: An R package for landscape and ecological association studies. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(8), 925-929.
- Funk, W. C., McKay, J. K., Hohenlohe, P. A., & Allendorf, F. W. (2012). Harnessing genomics for delineating conservation units. *Trends in ecology & evolution*, 27(9), 489-496.
- Gaida, I. H. (1997). Population structure of the Pacific angel shark, *Squatina californica* (Squatiniiformes: Squatinidae), around the California Channel Islands. *Copeia*, 738-744.
- Garrison, N. L., Johnson, P. D., & Whelan, N. V. (2021). Conservation genomics reveals low genetic diversity and multiple parentage in the threatened freshwater mussel, *Margaritifera hembeli*. *Conservation Genetics*, 22, 217-231.
- Gordon, C. A., Hood, A. R., Al Mabruk, S. A. A., Barker, J., Bartoli, A., Ben Abdelhamid, S., ... & Vacchi, M. (2019). Mediterranean angel sharks: Regional action plan. *The Shark Trust, United Kingdom*.
- Gruber, B., Unmack, P., Berry, O., & Georges, A. (2019). Introduction to dartR. *User Manual*, 51, 1-41.
- Hirschfeld, M., Dudgeon, C., Sheaves, M., & Barnett, A. (2021). Barriers in a sea of elasmobranchs: From fishing for populations to testing hypotheses in population genetics. *Global Ecology and Biogeography*, 30(11), 2147-2163.
- Hughes, J. B., Daily, G. C., & Ehrlich, P. R. (1997). Population diversity: its extent and extinction. *Science*, 278(5338), 689-692.
- Iacchei, M., Ben-Horin, T., Selkoe, K. A., Bird, C. E., García-Rodríguez, F. J., & Toonen, R. J. (2013). Combined analyses of kinship and F_{ST} suggest potential drivers of chaotic genetic patchiness in high gene-flow populations. *Molecular Ecology*, 22(13), 3476-3494.
- Jiménez-Alvarado, D., Meyers, E. K., Caro, M. B., Sealey, M. J., & Barker, J. (2020). Investigation of juvenile angel shark (*Squatina squatina*) habitat in the Canary Islands with recommended measures for protection and management. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 30(10), 2019-2025.
- Jombart, T. (2008). adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11), 1403-1405.
- Jombart, T., Devillard, S., & Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC genetics*, 11(1), 1-15.
- Kilian, A., Wenzl, P., Huttner, E., Carling, J., Xia, L., Blois, H., ... & Uszynski, G. (2012). Diversity arrays technology: a generic genome profiling technology on open platforms. *Data production and analysis in population genomics: Methods and protocols*, 67-89.
- Lapinski, M., & Giovos, I. (2019). New records of the critically endangered *Squatina squatina* (Linnaeus, 1758) from Corsica, France. *Acta Adriatica: International Journal of Marine Sciences*, 60(2), 205-209.
- Lawson, J. M., Pollom, R. A., Gordon, C. A., Barker, J., Meyers, E. K., Zidowitz, H., ... & Dulvy, N. K. (2020). Extinction risk and conservation of critically endangered angel sharks in the Eastern Atlantic and Mediterranean Sea. *ICES Journal of Marine Science*, 77(1), 12-29.
- Lesturgie, P., Braun, C. D., Clua, E., Mourier, J., Thorrold, S. R., Vignaud, T., ... & Mona, S. (2023). Like a rolling stone: Colonization and migration dynamics of the gray reef shark (*Carcharhinus amblyrhynchos*). *Ecology and Evolution*, 13(1), e9746.
- Linck, E., & Battey, C. J. (2019). Minor allele frequency thresholds strongly affect population structure inference with genomic data sets. *Molecular Ecology Resources*, 19(3), 639-647.
- Manuzzi, A., Zane, L., Muñoz-Merida, A., Griffiths, A. M., & Verissimo, A. (2019). Population genomics and phylogeography of a benthic coastal shark (*Scyliorhinus canicula*) using 2b-RAD single nucleotide polymorphisms. *Biological Journal of the Linnean Society*, 126(2), 289-303.
- McCaughey, D. J., Pinsky, M. L., Palumbi, S. R., Estes, J. A., Joyce, F. H., & Warner, R. R. (2015). Marine defaunation: Animal loss in the global ocean. *Science*, 347(6219), 1255-641.
- McClain, M. A., Hammerschlag, N., Gallagher, A. J., Drymon, J. M., Grubbs, R. D., Guttridge, T. L., ... & Daly-Engel, T. S. (2022). Age-Dependent Dispersal and Relatedness in Tiger Sharks (*Galeocerdo cuvier*). *Frontiers in Marine Science*, 1221.
- Meyers, E. K., Tuya, F., Barker, J., Jiménez Alvarado, D., Castro-Hernández, J. J., Haroun, R., & Rödder, D. (2017). Population structure, distribution and habitat use of the Critically Endangered Angelshark, *Squatina squatina*, in the Canary Islands. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 27(6), 1133-1144.
- Momigliano, P., Harcourt, R., Robbins, W. D., Jaiteh, V., Mahardika, G. N., Sembiring, A., & Stow, A. (2017). Genetic structure and signatures of selection in grey reef sharks (*Carcharhinus amblyrhynchos*). *Heredity*, 119(3), 142-153.
- Morey, G., Barker, J., Hood, A., Gordon, C., Bartoli, A., Meyers, E. K. M., ... & Pollom, R. (2019). *Squatina squatina*. *The IUCN Red List of Threatened Species*, 2019-1.
- Nazareno, A. G., & Knowles, L. L. (2021). There is no 'rule of thumb': genomic filter settings for a small plant population to obtain unbiased gene flow estimates. *Frontiers in Plant Science*, 1401.
- Nunziata, S. O., & Weisrock, D. W. (2018). Estimation of contemporary effective population size and population declines using RAD sequence data. *Heredity*, 120(3), 196-207.
- Pearce, J., Fraser, M. W., Sequeira, A. M., & Kaur, P. (2021). State of shark and ray genomics in an era of extinction. *Frontiers in Marine Science*, 8, 744986.

R Core Team (2023). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.

Razgour, O., Forester, B., Taggart, J. B., Bekaert, M., Juste, J., Ibáñez, C., ... & Manel, S. (2019). Considering adaptive genetic variation in climate change vulnerability assessment reduces species range loss projections. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(21), 10418-10423.

Reed, E., Nunez, S., Kulp, D., Qian, J., Reilly, M. P., & Foulkes, A. S. (2015). A guide to genome-wide association analysis and post-analytic interrogation. *Statistics in medicine*, 34(28), 3769-3792.

Reiss, H., Hoarau, G., Dickey-Collas, M., & Wolff, W. J. (2009). Genetic population structure of marine fish: mismatch between biological and fisheries management units. *Fish and Fisheries*, 10(4), 361-395.

Sansaloni, C., Petrolì, C., Jaccoud, D., Carling, J., Detering, F., Grattapaglia, D., & Kilian, A. (2011). Diversity Arrays Technology (DArT) and next-generation sequencing combined: genome-wide, high throughput, highly informative genotyping for molecular breeding of Eucalyptus. In *BMC proceedings* (Vol. 5, No. 7, pp. 1-2). BioMed Central.

Selkoe, K. A., Aloia, C. C., Crandall, E. D., Iacchei, M., Liggins, L., Puritz, J. B., ... & Toonen, R. J. (2016). A decade of seascape genetics: contributions to basic and applied marine connectivity. *Marine Ecology Progress Series*, 554, 1-19.

Skey, E. D., Ottewell, K. M., Spencer, P. B., & Shaw, R. E. (2023). Empirical landscape genetic comparison of single nucleotide polymorphisms and microsatellites in three arid-zone mammals with high dispersal capacity. *Ecology and Evolution*, 13(5), e10037.

Taguchi, M., King, J. R., Wetklo, M., Withler, R. E., & Yokawa, K. (2014). Population genetic structure and demographic history of Pacific blue sharks (*Prionace glauca*) inferred from mitochondrial DNA analysis. *Marine and Freshwater Research*, 66(3), 267-275.

Theissinger, K., Fernandes, C., Formenti, G., Bista, I., Berg, P. R., Bleidorn, C., ... & Zammit, G. (2023). How genomics can help biodiversity conservation. *Trends in Genetics*.

Thia, J. A. (2023). Guidelines for standardizing the application of discriminant analysis of principal components to genotype data. *Molecular Ecology Resources*, 23(3), 523-538.

Venables, S. K., Marshall, A. D., Armstrong, A. J., Tomkins, J. L., & Kennington, W. J. (2021). Genome-wide SNPs detect no evidence of genetic population structure for reef manta rays (*Mobula alfredi*) in southern Mozambique. *Heredity*, 126(2), 308-319.

Verissimo, A., Sampaio, Í., McDowell, J. R., Alexandrino, P., Mucientes, G., Queiroz, N., ... & Noble, L. R. (2017). World without borders—genetic population structure of a highly migratory marine predator, the blue shark (*Prionace glauca*). *Ecology and Evolution*, 7(13), 4768-4781.

Walsh, C. A., Momigliano, P., Boussarie, G., Robbins, W. D., Bonnín, L., Fauvelot, C., ... & Manel, S. (2022). Genomic insights into the historical and contemporary demographics of the grey reef shark. *Heredity*, 128(4), 225-235.

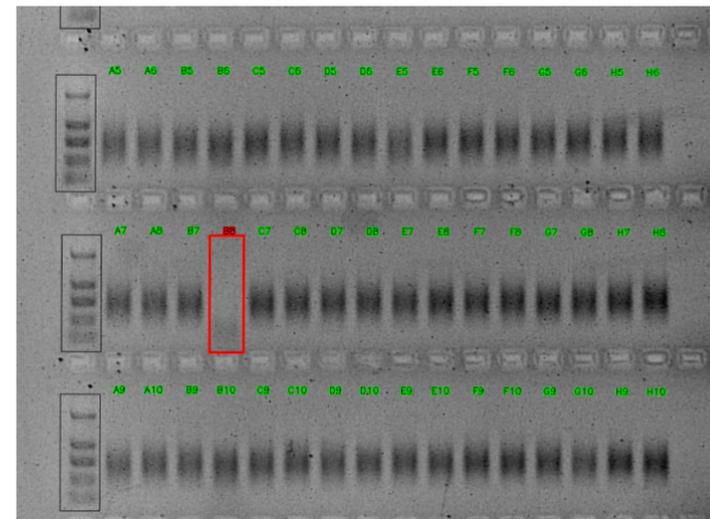
Weir, B. S., & Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 1358-1370.

Zimmerman, S. J., Aldridge, C. L., & Oyler-McCance, S. J. (2020). An empirical comparison of population genetic analyses using microsatellite and SNP data for a species of conservation concern. *BMC genomics*, 21, 1-16.

Appendixes

Appendix 1. (a) Number of individuals sent to DArT sequencing and (b) number of individuals successfully sequenced. All individuals are from the species *S. squatina*, except an individual from Gibraltar which is an hybride *S. aculeata* - *S. oculata*, and an individual *S. oculata* from Sicily.

	(a) Number of individuals sent to DArT sequencing	(b) Number of individuals successfully sequenced
Corsica	105	102
Sardinia	1	0
Canary Islands	38	38
Aquarium	3	1
Hybride from Gibraltar	1	0
<i>S. oculata</i> from Sicily	1	0
Duplicates	39	33
TOTAL	188	174



Appendix 2. Sample quality report produced by the DArT laboratory, showing amplification of genomic DNA fragments cut by restriction enzymes. All samples in this picture present the good range of amplicon sizes, except the sample B8 (red), which failed to produce expected range of amplicons and therefore was not suitable for genotype assay.

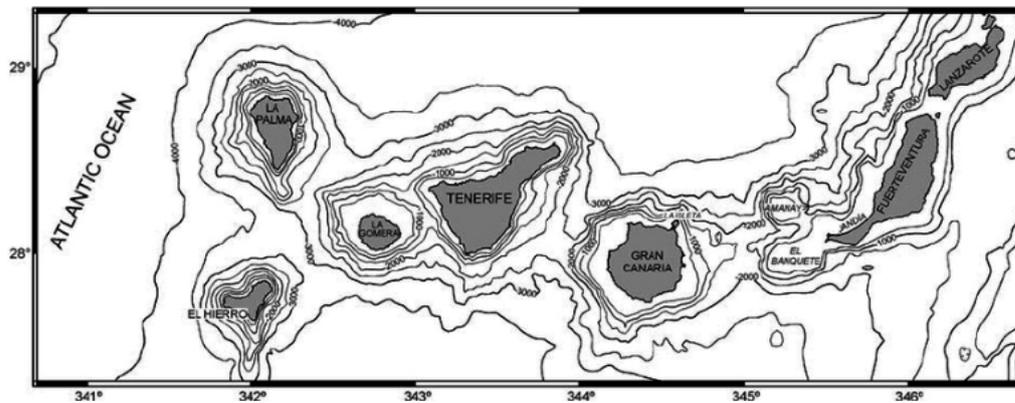
Appendix 3. Summary table of metadata for all 141 individuals successfully genotyped.

Region	Sample size	Number of individuals per sampling site	Number of individuals and sex	Length of individuals (cm)	Depth of capture (m)	Months of tissue sampling
Corsica	102	Bastia: 13 Bastia Punta Arcu: 34 Solenzara Palo Estuary: 7 Solenzara: 48	6 females 7 males 89 unknown	Range: 10.4 - 115 Median: 97.50 Mean: 90.42	Range: 1 - 400 Median: 36 Mean: 38.12	February, March, April, May, June
Canary Islands	38	Tenerife: 14 Gran Canaria: 13 Fuerteventura: 2 La Graciosa: 9	25 females 13 males	Range: 28.5 - 122 Median: 90 Mean: 75.83	Range: 5 - 27.2 Median: 8 Mean: 9.73	March, April, November, December
Spain	1	Aquarium: 1	unknown	unknown	unknown	October

Appendix 4. Pairwise F_{ST} values for each site in Corsica, calculated with the R package dartR version 2.7.2 (Gruber *et al.*, 2019), with 5,000 bootstraps.

	Bastia	Bastia Punta Arcu	Solenzara Palo
Bastia	/	/	/
Bastia Punta Arcu	0.001	/	/
Solenzara Palo	0.014 *	0.018 *	/
Solenzara	0.004 *	0.006 *	0.01 *

* $pvalue < 0.01$



Appendix 5. Bathymetric map of the Canary Islands from Carbó *et al.* (2005).

ANNEXE 7 : Mémoire de stage de M2 de Frédéric SALASC, 2024.



Aix-Marseille Université
OSU - Institut Pythéas

Marine Biodiversity, Exploitation and
Conservation
Université de Montpellier

Caractérisation du microbiote cutané de *Squatina squatina* en Corse et de la phylosymbiose aux échelles intra et interspécifique



Mémoire de fin d'études
Master Sciences de la Mer - Parcours Océanographie Biologique & Écologie Marine
Janvier-Juillet 2024

Auteur :
Frédéric SALASC

Référents :
Jean-Christophe AUGUET
Julie DETER

REMERCIEMENTS

Je remercie premièrement Jean-Christophe Auguet, qui m'a offert l'opportunité de réaliser ce travail, pour son encadrement, ses nombreux conseils avisés et sa bienveillance.

Merci à Julie Deter de m'avoir intégré à ce projet de recherche sur l'ange de mer et pour son encadrement.

Je remercie chaleureusement Nadia Faure, pour son aide et nos échanges très éclairants quant à la génétique de l'ange de mer.

Merci également à Adèle Barroil et Franck Pichot qui ont collecté les échantillons de microbiotes de l'ange de mer, et à Fabien Rieuvilleneuve qui a réalisé les extractions et l'amplification de l'ADN des échantillons.

INTRODUCTION	2
MATERIELS ET METHODES	5
Collecte des échantillons	5
Extraction de l'ADN et séquençage.....	6
Génotypage des anges de mer	7
Acquisition des données de méta-analyse	8
Traitement bioinformatique des séquences	10
Analyse statistique des communautés microbiennes	11
Etude de la phylosymbiose	12
RESULTATS.....	13
Caractérisation du microbiote de <i>Squatina squatina</i>	13
Recherche de patron de phylosymbiose au niveau intraspécifique	17
Evaluation de la variabilité des microbiotes d'élasmobranches	18
Exploration de la phylosymbiose à l'échelle des élasmobranches.....	20
DISCUSSION	22
Le microbiote cutané de l'ange de mer	22
La phylosymbiose chez les élasmobranches.....	24
CONCLUSION	27
REFERENCES.....	27

INTRODUCTION

Les océans sont abondamment peuplés de communautés de micro-organismes aux rôles prépondérants dans le fonctionnement des cycles biogéochimiques et des réseaux trophiques de la planète (Falkowski *et al*, 2008). Ces micro-organismes vivent libres dans la colonne d'eau, dans les sédiments, attachés à des particules en suspension, ou associés avec d'autres organismes de plus grande taille (Simon *et al*, 2002). Ces communautés associées sont alors appelées microbiotes et forment avec leur hôte l'holobionte (Bosch et McFall-Ngai, 2011). La symbiose entre le corail et son microbiote, composé notamment de dinoflagellés du genre *Symbiodinium*, est un exemple bien connu pour le rôle essentiel de ces derniers dans la fixation de carbone par photosynthèse (Stat *et al*, 2008). Cela illustre l'importance majeure des microbiotes, qui participent à de nombreuses fonctions de leurs hôtes telles que la digestion, le développement, le système immunitaire, l'adaptation aux milieux extrêmes ou encore la bioluminescence (McFall-Ngai *et al*, 2013 ; Bang *et al*, 2018 ; Wei et Young, 1994). Comme toutes les communautés biologiques, la distribution et la dynamique des microbiotes est influencée par deux ensembles de processus : des processus déterministes, tel que la sélection liée aux paramètres physico-chimiques de l'environnement, ou les interactions biotiques, et des processus stochastiques comme la dispersion des organismes ou la dérive génétique, caractérisée par leur évolution rapide (Junger *et al*, 2023 ; Milke *et al*, 2023 ; Logares, 2024).

La particularité des microbiotes est liée à l'influence qu'exercent les organismes hôtes sur son assemblage, au travers de leur génétique, leur système immunitaire, les ressources qu'ils offrent, leur morphologie complexe ou leur écologie diverse (Apprill, 2017). Moins explorés que les communautés présentes dans les intestins, les microbiotes de la peau des animaux marins sont en contact permanent avec les communautés planctoniques, de qui elles sont pourtant bien différentes en termes de composition et de diversité (Chiarello *et al*, 2018 ; Sadeghi *et al*, 2023). En plus d'une importante variabilité interspécifique (Chiarello *et al*, 2018), la variabilité intra-individuelle du microbiote cutané est parfois significative : c'est ce qu'ont souligné Chiarello *et al* (2015) en comparant la composition du microbiote cutané sur les différentes nageoires d'un même individu de

poissons téléostéens. Ces microbiotes cutanés jouent un rôle primordial pour les fonctions de la peau, en particulier l'immunité et la cicatrisation (Barnard *et al*, 2017).

Chez les élasmobranches, qui regroupent les requins et les raies, c'est principalement le microbiote des organes externes, tels que la peau, la bouche, les branchies ou le cloaque (l'organe uro-génital) qui a été étudié, car il ne nécessite pas de dissection et permet le relâchement des animaux dans le milieu (Perry *et al*, 2021). De manière générale, les microbiotes de la peau sont différents des communautés planctoniques, comme pour les téléostéens (Bregman *et al*, 2023 ; Caballero *et al*, 2020 ; Storo *et al*, 2021). Un certain nombre d'études se sont intéressées à ce microbiote cutané de par son potentiel rôle dans le mécanisme de cicatrisation des requins et raies, qui reste méconnu (Black *et al*, 2021 ; Bregman *et al*, 2023 ; Caballero *et al*, 2020). Pourtant, aucune différence n'a été découverte entre le microbiote cutané sur les individus présentant des plaies ou non (Pogoreutz *et al*, 2019). Le microbiote des élasmobranches est spécifique à l'espèce, à l'organe, au stade de vie et à la localisation géographique (Black *et al*, 2021 ; Bregman *et al*, 2023 ; Gonçalves e Silva *et al*, 2020 ; Goodman *et al*, 2020 ; Kerr *et al*, 2023 ; Mika *et al*, 2021 ; Pogoreutz *et al*, 2019 ; Storo *et al*, 2021). Enfin, la captivité n'a pas toujours une influence sur le microbiote des élasmobranches : le caractère spécifique à l'espèce reste en revanche toujours discernable (Gonçalves e Silva *et al*, 2020 ; Goodman *et al*, 2020).

Les élasmobranches disposent de caractéristiques assez singulières, ce qui rend l'étude de leur microbiote éclairante sur plusieurs aspects (Perry *et al*, 2021). En effet, la structure de leur peau diffère grandement de celle des téléostéens : ils ne disposent pas d'écaillés mais de denticules, et ne produisent que peu de mucus, de nature différente de ceux des téléostéens (Meyers et Seegers, 2012 ; Bachar-Wikstrom *et al*, 2023). Il est suggéré que cela donne à la peau des élasmobranches des propriétés particulières, en contribuant à inhiber la croissance de biofilms bactériens, améliorer l'hydrodynamisme des individus et supporter des organes sensoriels ou de bioluminescence (Akat *et al*, 2023). Les élasmobranches disposent également de stratégie de reproduction variée. La fécondation est toujours interne et la copulation se fait au niveau du cloaque, l'orifice uro-génital. Certaines espèces sont vivipares, avec un placenta ou non, donnant naissances à des individus formés. Certaines sont ovipares, et pondent des œufs. Entre les deux, les

ovovivipares produisent des œufs qui éclosent directement dans les voies génitales des femelles (Dulvy et Reynolds, 1997). Les élasmobranches ont tendance à ne pas fournir de soin parental (Compagno, 1990). Toutes ces caractéristiques pourraient influencer sur le microbiote cutané, sa dynamique et son acquisition, notamment intergénérationnelle. Ce processus de transmission verticale est potentiellement impliqué dans le phénomène de phylosymbiose (Kohl, 2020).

La phylosymbiose est un patron selon lequel la similarité entre les microbiotes des individus est congruente avec la phylogénie de leurs hôtes (Brucker et Bordenstein, 2012). Il ne s'agit pas d'un processus explicatif, mais bien d'une observation, qui n'est par ailleurs pas systématique (Mazel *et al*, 2018). Ainsi d'après cette hypothèse, les communautés microbiennes associées à deux individus d'espèces phylogénétiquement proches seraient plus semblables que celles appartenant à des individus plus éloignés. Plusieurs processus sont susceptibles de l'influencer, liés à la dérive ou à la sélection des communautés microbiennes (Van Opstal *et al*, 2019). Elle est distincte de la cophylogénie, pour laquelle les micro-organismes coévoluent avec leurs hôtes : par exemple, des bactéries géantes du genre *Epulopiscium* associées à l'intestin de poissons de la famille des acanthuridés ont une phylogénie concordante avec leurs hôtes (Miyake *et al*, 2016). La cophylogénie est toutefois l'un des processus pouvant expliquer la phylosymbiose, qui peut également être le résultat de la différence phénotypique induite par l'éloignement phylogénétique des hôtes, ou encore par la transmission du microbiote d'une génération à l'autre. En effet, le microbiote est acquis par plusieurs processus, dont les contributions relatives sont difficiles à démêler : il peut provenir de l'environnement, de l'œuf, ou bien de l'incubation, selon l'écologie des espèces. Chez *Syngnathus typhle*, un poisson de la famille des syngnathidés, pour lequel la gestation est réalisée par le mâle, la transmission du microbiote parental aux juvéniles est avérée (Tanger *et al*, 2024). Ce phénomène de phylosymbiose est fréquemment observé dans les microbiotes intestinaux de mammifères et d'insectes terrestres (Brooks *et al*, 2016 ; Gaulke *et al*, 2018). Chez les poissons téléostéens, taxon le plus diversifié des vertébrés, la phylosymbiose a parfois été détectée au niveau de leur microbiote cutané (Chiarello *et al*, 2018 ; Minich *et al*, 2022 ; Sadeghi *et al*, 2023), mais pas de manière systématique (Doane *et al*, 2020).

4

La phylosymbiose n'a que très peu été étudiée chez les élasmobranches. En revanche, une telle corrélation a été mise en évidence à l'échelle de quatre espèces d'élasmobranches, l'une d'elles étant une raie (Doane *et al*, 2020). Le microbiote et ses déterminants restent encore peu explorés chez les élasmobranches, particulièrement pour quelques ordres tels que les squatiniformes, dont le microbiote n'a encore jamais été étudié. L'ange de mer *Squatina squatina* est un requin benthique appartenant à cet ordre des Squatiniformes, vivant près des côtes peu profondes bordant l'Europe, de la mer de Marmara à l'Irlande (Kabasakal *et al*, 2014 ; Shepard *et al*, 2019). Cela le rend particulièrement susceptible à la pêche, et l'espèce est reconnue en danger critique d'extinction par l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature, faisant même partie de la liste des 100 espèces les plus menacées au monde (Dulvy *et al*, 2021). L'espèce a disparu des côtes méditerranéennes de la France, où elle était auparavant abondante, sauf en Corse (Lawson *et al*, 2020). Des travaux en cours sur la structure et la diversité génétique de populations d'anges de mer, son mode de vie atypique et son microbiote encore jamais décrit font de l'étude de celui-ci une opportunité d'en comprendre plus sur la dynamique et les forces régissant les communautés microbiennes associées aux animaux marins.

Les objectifs de l'étude sont de décrire, dans un premier temps, la variabilité intra et inter-individuelle des microbiotes externes de *Squatina squatina* provenant de Corse, par metabarcoding du gène de l'ARN 16S. Puis les principaux déterminants de cette variabilité seront caractérisés, en lien avec la génétique des individus. Enfin, grâce à l'intégration de données de microbiotes externes d'autres espèces, l'existence de patron de phylosymbiose est précisée à l'échelle des élasmobranches.

MATERIELS ET METHODES

Collecte des échantillons

Les anges de mer de l'espèce *Squatina squatina* ont été capturés par pêche accidentelle, lors de campagnes en mer entre 2020 et 2022 aux environs de deux zones au large de la côte est de la Corse ; les localisations précises sont montrées sur la figure 1. Les captures ont eu lieu soit par chalut au large de Bastia, soit par filets maillants ou trémail

5

au large de Solenzara. Les échantillons de microbiotes ont été collectés à l'aide d'écouvillons buccaux (2K-2S swabs, Isohelix, UK) en prélevant le mucus au niveau du dos, du ventre et du cloaque. Des fragments de nageoires ont également été prélevés afin d'étudier la diversité et la structure génétique de la population d'anges de mer. Les animaux ont été relâchés en mer aussitôt les prélèvements effectués. Les échantillons ont été préservés dans une glacière électrique à -5°C à bord, avant d'être conservés à -20°C au laboratoire jusqu'à extraction de l'ADN. Les informations individuelles relatives aux anges de mer, leur longueur, sexe, localisation géographique, et profondeur ont été notées si possible. Un total de 35 requins a été échantillonné, mais le nombre de prélèvements par requin n'est pas régulier à cause des aléas de la campagne en mer.

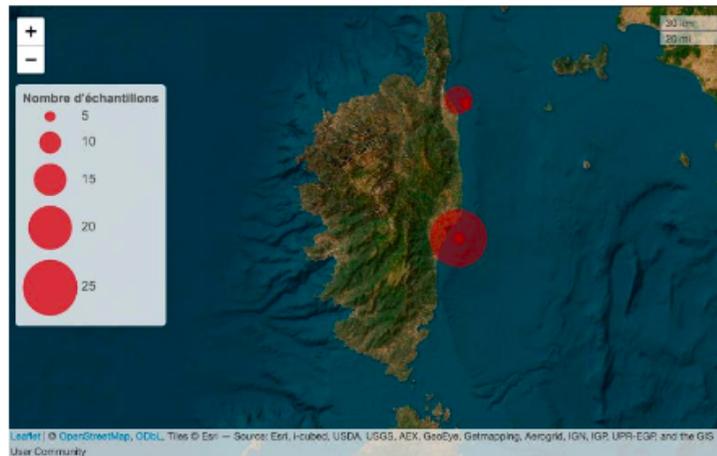


Figure 1. Carte des sites d'échantillonnage des anges de mer et nombre d'échantillons collectés par site.

Extraction de l'ADN et séquençage

L'ADN génomique total a été extrait des écouvillons à l'aide de kit d'extraction d'ADN MagAttract PowerSoil® selon les recommandations d'utilisations du fabricant (Qiagen, Courtaboeuf, France), de manière automatisée à l'aide du système KingFisher FlexTM

6

(ThermoScientific®, Waltham, MA, USA). Les acides nucléiques ont été élué à l'eau ultrapure (Merck Millipore™, Burlington, MA, USA) et quantifié par spectrophotomètre NanoDrop 8000™ (ThermoScientific®, Wilmington, MA, USA). Les ADN extraits ont été conservés à -20°C jusqu'à l'amplification. La région v4 du gène codant pour la sous-unité 16S de l'ARN ribosomal a été amplifiée par Réaction de Polymérisation en Chaîne, ou PCR, à l'aide des amorces d'amplification couramment utilisées pour les procaryotes, les amorces 515F et 806R développées par Caporaso *et al* (2011). Chaque solution de PCR de 50 µL a été préparée avec 25 µL de Taq Polymerase Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix GC Buffer (New England Biolabs®, Inc., Ipswich, MA, USA), 1 µL d'amorce forward (10µM), 1µL d'amorce reverse (10µM), 2 µL d'extrait d'ADN, 1.5 µL de solvant, diméthylsulfoxyde ou DMSO, et 19.5 µL d'eau ultrapure. L'amplification par PCR s'est déroulée de la manière suivante : une étape initiale de dénaturation à 98°C de 30 secondes, suivi de 35 cycles d'amplification (10 secondes de dénaturation à 98°C, 1 minute d'hybridation à 60 °C, 1 minute 30 à 72°C pour l'élongation), puis une étape finale d'élongation de 10 minutes à 72°C. L'amplification et la spécificité des amorces ont été vérifiées par électrophorèse sur un gel d'agarose à 2%. Des témoins négatifs ainsi que des communautés standards (ZymoBIOMICS Microbial Community DNA Standards II, Zymo Research) ont été incluses afin d'évaluer la qualité des manipulations. Le séquençage Illumina Miseq a été réalisé par GeT-Biopuces (INSA, Toulouse, France). Ces étapes d'extraction et d'amplification des séquences ont été réalisées en 2023.

Génotypage des anges de mer

Afin de caractériser génétiquement les anges de mer, les prélèvements de nageoires ont été envoyées à Diversity Arrays technology (DArT-Seq™), à Canberra, Australie, pour l'extraction d'ADN et le génotypage à l'aide du protocole standard DArTseq (Sansaloni *et al*, 2011). L'ADN a été extrait des échantillons de peau, et la réduction de la complexité génomique a été réalisée en utilisant deux enzymes de restrictions, *Pst*I et *Sph*I. De cette façon, l'ADN génomique a été fragmenté par les enzymes, et seuls les fragments contenant le plus d'informations ont été sélectionnés et amplifiés par PCR. Les banques obtenues ont pu alors être génotypées grâce à la technologie DArTseq, qui combine la méthode de réduction de complexité génomique de DArT avec les techniques de

7

séquençage nouvelle génération afin de détecter les polymorphismes nucléotidiques, ou SNPs (Kilian *et al*, 2012). A l'issue de ce génotypage, une matrice binaire des SNPs pour chaque individu est obtenue, un 1 codant pour la présence d'une variation à la séquence de référence, un 0 son absence. Cette matrice de SNPs a été filtrée à l'aide du package *dartR* sur Rstudio, afin de retirer les individus dupliqués, les SNPs comprenant plus de 30% d'erreurs manquantes et enfin les SNPs ayant moins de 5% de variation (Reed *et al*, 2015). Toutes ces étapes ont été réalisées à l'occasion de travaux précédents se focalisant sur l'étude de la population de *Squatina squatina* récemment trouvée au large de la Corse, ce qui a également permis de développer un outil de détection des anges de mer par ADN environnemental (Faure *et al*, 2023).

Acquisition des données de méta-analyse

Afin de comparer le microbiote de l'ange de mer à celui d'autres espèces d'élaémobranches, et ainsi tester l'hypothèse de phyllosymbiose à l'échelle interspécifique, des données de metabarcoding de l'ARN 16S de microbiotes d'élaémobranches ont été récupérées. La recherche d'articles a été réalisée sur Google Scholar, à l'aide des mots-clés suivants : "shark" ou "ray" ou "chondrichthyans" ou "elasmobranch" ET "microbiote" ou "microbiota" ou "microbial community" ou "bacterial community". Les études qui ont été conservées disposaient de séquences publiées et disponibles de microbiotes cutanés ou cloacaux obtenues par metabarcoding ciblant la région V4 de l'ARNr 16S par la technologie Illumina Miseq. Ces derniers critères méthodologiques sont essentiels car ils permettent le traitement bio-informatique similaire des séquences et leur comparaison. En outre, ils correspondent aux méthodologies de metabarcoding les plus souvent déployées en écologie microbienne, dans des projets de grandes envergures tels que the Earth Microbiome Project, offrant ainsi des références assez riches pour comparer et assigner taxonomiquement les séquences. Les données de séquences et les métadonnées ont été téléchargées depuis la base de données en ligne du National Center for Biotechnological Information (NCBI). Des données contextuelles et traits écologiques relatifs aux espèces ont été recherchées sur la base de données Fishbase (2024). Ces caractéristiques regroupent l'habitat, le comportement migratoire, la gamme de profondeur de préférence, la stratégie de

reproduction, le statut sur la liste rouge de l'IUCN, la gamme de température de préférence, le niveau trophique et le régime alimentaire. Les données relatives à la méta-analyse sont résumées dans le tableau 1, les données internes correspondant à celle de *Squatina squatina*, et les sites d'échantillonnages sont précisés sur la figure 2.



Figure 2. Carte des sites d'échantillonnage des données de méta-analyse pour lesquels les coordonnées GPS sont disponibles.

Table 1. Résumé des données de méta-analyse				
Auteurs et date	Nombre d'échantillons	Nombre d'espèces	Nombre d'individus	Sites anatomiques
Clavere-Graciette <i>et al</i> , 2022	372	2	40	Peau, Cloaque, Branchies
Lyons <i>et al</i> , 2024	114	4	NA	Peau, Cloaque, Branchies
Pratte <i>et al</i> , 2022	98	3	46	Peau, Cloaque, Branchies
Storo <i>et al</i> , 2021	87	8	32	Peau, Cloaque, Branchies
Données internes	34	1	27	Peau, Cloaque

Traitement bioinformatique des séquences

Toutes les analyses suivantes ont été réalisées sous le logiciel Rstudio, version 4.3.2 (R Core Team, 2021). Dans un premier temps, il a été nécessaire de traiter les séquences brutes récupérées suite au séquençage. Pour cela, le package *Dada2* a été utilisé selon les recommandations d'utilisation (Callahan *et al*, 2016). Les premiers nucléotides, correspondant aux amorces, ont tout d'abord été retirés, et les reads ont été filtrés selon leur qualité associée. *Dada2* utilise l'apprentissage du taux d'erreurs issus du jeu de données pour identifier et retirer les séquences correspondant le plus probablement à des erreurs, et non à des molécules biologiques, puis regroupent les séquences identiques dans les variants de séquence d'amplicon, ou ASVs. Ceux-ci correspondent alors à l'ensemble des séquences uniques, et sont associés à un tableau d'abondance. Enfin, les séquences forward et reverse sont assemblées, puis les séquences chimères issues de mauvaises jointures sont retirées.

L'assignation taxonomique a été réalisée, toujours à l'aide du même package, en comparant les séquences des ASVs à la base de référence SILVA (Quast *et al*, 2013). Puis le package *phyloseq* a permis de compiler la table d'abondance des ASVs, le tableau taxonomique détaillant le taxon de chaque ASVs, et enfin les données contextuelles des échantillons (McMurdie *et al*, 2013). L'arbre phylogénétique des séquences des ASVs est calculé à l'aide du package *phangorn* (Schliep, 2011). Les séquences associées à des eucaryotes, de l'ADN mitochondrial ou chloroplastique ont été retirées. Les séquences correspondant à des taxa de contaminants connus, répandus et fréquents dans les échantillons de microbiotes marins ont été retirées. Enfin, afin d'homogénéiser l'effort d'échantillonnage pour l'ensemble du jeu de donnée, un échantillonnage aléatoire de 2963 reads, correspondant au nombre de reads de l'échantillon en contenant le moins, a été réalisé.

La même procédure a été suivie pour le traitement des séquences des autres espèces d'élaémobranches récupérées sur les bases de données en ligne, à quelques différences près. L'étape de filtre a été réalisée de manière indépendante pour chaque jeu de données. Les séquences ont été coupées à 250 nucléotides pour conserver leur qualité, et seules les séquences forward ont été prises en compte. Une fois les tables d'abondance des ASVs pour chaque jeu de données ont été obtenues, elles sont

fusionnées, puis l'assignation taxonomique est réalisée. Les échantillons contenant un nombre trop faible de reads (moins de 1000) ont également été retirés. Enfin, les ASVs ont été agglomérés par famille.

Analyse statistique des communautés microbiennes

La diversité alpha des communautés microbiennes a été évaluée à l'aide de divers indices reflétant différents aspects de cette diversité. La richesse indique le nombre d'ASVs dans chaque échantillon, l'indice de Shannon pondère la richesse par l'abondance des ASVs. L'indice de Gini-Simpson reflète la répartition équitable des taxons au sein de la communauté, et enfin l'indice de Faith est un indice de richesse spécifique prenant en compte la distance phylogénétique entre les taxons constituant la communauté microbienne dans le calcul de la diversité. Les données d'abondance ne suivant pas de distribution normale, le test non-paramétrique de Kruskal-Wallis a été utilisé afin de comparer les indices calculés entre les échantillons regroupés selon différentes catégories. Pour le microbiote de *Squatina squatina*, les paramètres testés sont le site anatomique, la localisation géographique et le sexe. Pour l'ensemble des élaémobranches échantillonnés, ce sont le site anatomique, l'espèce, la localisation géographique, la méthode de pêche, le statut de captivité, le sexe, ainsi que diverses caractéristiques relatives à l'espèce qui ont été testées.

La diversité bêta, qui reflète la comparaison de la diversité entre les échantillons, a été estimée avec diverses métriques. La dissimilarité de Bray-Curtis prend en compte la différence d'abondance de chaque taxon. L'indice d'UniFrac, quant à lui, intègre la distance phylogénétique entre les taxons de chacune des deux communautés ; c'est sa version pondérée par l'abondance des taxons qui a été utilisée. Enfin, l'indice d'Aitchison est le résultat d'une approche différente qui rend compte de la nature compositionnelle des données d'abondance obtenues par metabarcoding. Autrement dit, le metabarcoding ne permet pas d'obtenir des valeurs d'abondance absolue dans l'échantillon quantifié : la quantité totale de séquences obtenues ne dépend pas des caractéristiques de l'échantillon. De nouvelles valeurs d'abondance sont alors calculées à partir des données non-raréfiées, selon la transformation Log-Ratio Centrée, ou CLR. La distance d'Aitchison correspond à la distance euclidienne entre ces données CLR (Gloor *et al*,

2017). Des analyses en coordonnées principales, ou PCoA, ont été utilisées pour visualiser les matrices de distance de Bray-Curtis et UniFrac. Dans le cas de la matrice d'Aitchison, celle-ci étant euclidienne, c'est une analyse en composante principale (ACP) qui a été utilisée.

Afin de tester l'influence de divers paramètres sur les microbiotes, l'Analyse Multivariée Permutationnelle de la Variance, ou PERMANOVA, est appliquée sur les matrices de distance entre les échantillons. Cette méthode a pour but d'étudier, sur des matrices de distance uniquement, l'hypothèse nulle selon laquelle il n'y pas de différence de positions entre les centroïdes des groupes de la partition testée (Anderson, 2017). L'homogénéité de la dispersion des données est vérifiée afin de s'assurer qu'une différence dans la distribution des données qui serait détectée par la précédente analyse ne soit pas due à la forte variation du nombre d'échantillons dans chaque groupe par exemple.

Etude de la phylosymbiose

La distance génétique entre les individus de l'ange de mer a été estimée à l'aide de deux méthodes. La distance euclidienne a d'abord été calculée directement sur la matrice des SNPs, et forme une première estimation de la distance génétique entre les individus. Puis la matrice de relation génomique, ou GRM, a été déterminée afin d'obtenir un coefficient de parenté entre les individus (VanRaden, 2008).

Les temps de divergence entre espèces d'élastombranches ont été utilisés pour tester la phylosymbiose à l'échelle interspécifique. La phylogénie des élastombranches a été téléchargée sur le site VertLife, où sont disponibles des phylogénies récentes de plusieurs taxons d'animaux, combinant des phylogénies déjà établie, la comparaison de plusieurs marqueurs génétiques et les données fossiles (Stein *et al*, 2018). Cent arbres phylogénétiques issus des tirages aléatoires de ce modèle ont été téléchargés : la distance cophénétique moyenne a été utilisée pour reconstruire un arbre moyen, à l'aide du package *phangorn*.

Deux approches sont utilisées pour tester la phylosymbiose. La corrélation entre les éléments de deux matrices de distances testé statistiquement par permutation, est classiquement utilisée pour tester les microbiotes à la phylogénie de leurs hôtes, mais

aussi par exemple la corrélation entre distance géographique et distance génétique en génétique du paysage. Le test de Mantel permet de mettre en œuvre cette approche (Mantel, 1967). Des modèles de régressions linéaires ont également été calculés entre la distance génétique ou phylogénétique et la dissimilarité des microbiome. La seconde méthode correspond à la comparaison des dendrogrammes construits à l'aide des matrices de dissimilarité des microbiotes et l'arbre phylogénétique des hôtes. La congruence de topologie des arbres est alors testée à l'aide de la distance normalisée de Robinson-Fould, calculée en fonction du nombre de branches et de nœuds en communs à chaque arbre, pondéré par le nombre maximal de branches (Robinson et Fould, 1981). Cette distance est calculée à l'aide du package *phangorn*. Les arbres sont construits, depuis les indices de dissimilarité ou les temps de divergence par classification ascendante hiérarchique en utilisant la méthode du lien moyen.

RESULTATS

Caractérisation du microbiote de *Squatina squatina*

Après nettoyage des reads bruts, un total de 3218 ASVs ont été retrouvés pour les microbiotes d'anges de mer. Ce total s'est réduit à 2963 ASVs après raréfaction. Ces ASVs regroupent 39 phyla, 82 classes et 583 genres, qui sont le rang taxonomique le plus précis déterminés par cette approche de metabarcoding.

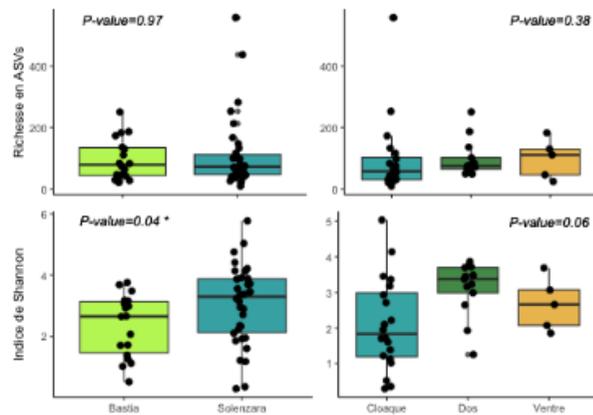


Figure 3. Distribution de la diversité alpha selon la localisation et le site anatomique. Les *p-values* correspondent au test de Kruskal-Wallis, et un astérisque indique une différence significative entre les groupes.

Bien que la diversité des microbiotes cloacaux soit plus variables, aucune différence significative de diversité entre les échantillons regroupés par site anatomique (peau au niveau du dos, du ventre et cloaque) n'est significative (figure 3). En revanche, l'indice de Shannon est significativement plus élevé pour les microbiotes des requins de Solenzara (3.03 ± 0.36) que ceux de Bastia (2.35 ± 0.28). La dissimilarité intra-individuelle (indice de Bray-Curtis de 0.71 ± 0.06) est apparue significativement inférieure à la dissimilarité inter-individuelle (indice de Bray-Curtis de 0.92 ± 0.01), ce qui suggère que les microbiotes cutanés et cloacaux d'un même individu sont plus semblables en moyenne que les microbiotes de deux individus différents (figure 4).

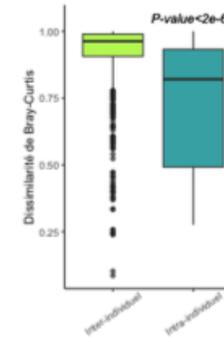


Figure 4. Distribution de la dissimilarité entre les microbiotes de deux individus différents ou d'un même individu. Les *p-values* correspondent au test de Kruskal-Wallis, et un astérisque indique une différence significative entre les groupes.

Comme apparent sur la figure 5, les communautés microbiennes sont largement dominées par les *Gammaproteobacteria*, constituant pour plus de la moitié des microbiotes cloacaux (65.0%, pour 47.1% dans les microbiotes cutanés). Les autres classes importantes comportent les *Alphaproteobacteria* (15.6% des microbiotes cutanés, 11.2% des microbiotes cloacaux), les *Actinobacteria* (10.8% et 3.5% respectivement), et les *Bacilli* (11.3% et 4.4%). Alors qu'ils représentent moins de 1% des microbiotes cutanés, les *Clostridia* sont bien plus abondants dans les microbiotes cloacaux (atteignant 5.5%). Ce sont globalement les mêmes familles qui constituent les microbiotes cutanés comme cloacaux : par exemple, les *Vibrionaceae*, les *Moraxellaceae*, et les *Rhodobacteraceae* dominent les *Proteobacteria*. Les archées ne constituent qu'une portion minime des microbiotes : 0.07% sur la peau et 0.03% sur les cloaques. Elles sont représentées par les *Nitrososphaeria* (0.04%) et les *Halobacteria* (0.02%) sur la peau, et par les *Halobacteria* (0.02%), les *Bathyarchaeia* (0.01%) et les *Nitrososphaeria* (0.01%) sur les cloaques.

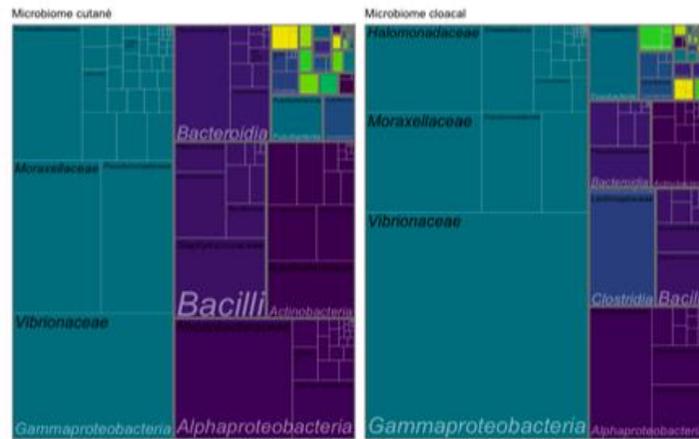


Figure 5. Composition des microbiotes de *Squatina squatina*. Les classes sont écrites en blanc, les familles en noir.

D'après les tests de Permanova basé sur la distance de Bray-Curtis, la localisation géographique explique bien la variabilité des microbiotes ($r^2=0.064$, $p\text{-value}=9.9e-4$). En effet, la PCoA distingue les microbiotes selon leur provenance géographique (figure 6). En revanche, le site anatomique des microbiotes, à savoir le cloaque ou la peau, n'explique pas de manière significative la variabilité des microbiotes, et ce même lorsque les échantillons des deux zones géographiques, Bastia et Solenzara sont traités séparément ($p\text{-value}$ de 0.090 pour Solenzara et de 0.663 pour Bastia). En effet, les $p\text{-values}$ sont supérieures au seuil de risque choisi à 0.05, on ne peut donc pas rejeter l'hypothèse nulle selon laquelle la dispersion des données de chaque groupe est équivalente. Les autres métriques de distance utilisées, l'UniFrac pondéré par l'abondance et l'indice d'Aitchison basé sur la transformation log-ratios des données d'abondance des ASVs ont donné des résultats similaires.

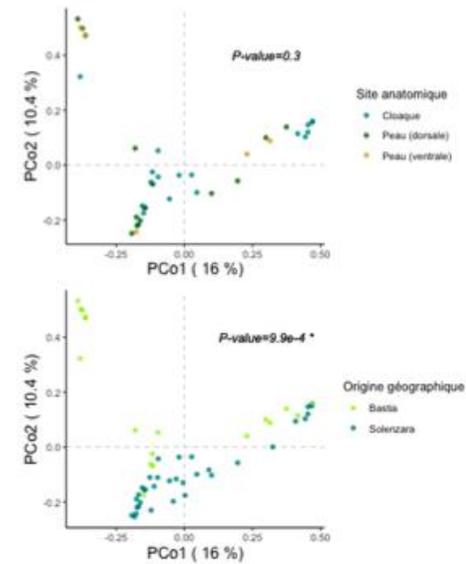


Figure 6. Graphes de la PCoA des microbiotes de *Squatina squatina*, basé sur la dissimilarité de Bray-Curtis, selon le site anatomique et l'origine géographique. Les pourcentages représentent la contribution de chaque axe. Les $p\text{-values}$ indiquent les résultats de Permanova, significatif avec un astérisque.

Recherche de patron de phylosymbiose au niveau intraspécifique

Contrairement au reste de l'analyse de la dissimilarité entre les microbiotes, le résultat diffère selon l'indice choisi dans un cas. Pour le microbiote de peau, le test de Mantel de corrélation entre la distance euclidienne des requins et l'indice d'UniFrac pondéré donne une $p\text{-value}$ de 0.027, donc inférieure au seuil choisi de 0.05: l'hypothèse nulle de corrélation entre les deux matrices ne peut être rejetée. Le coefficient de corrélation est alors de 0.33. Cependant, les autres indices ne convergent pas avec ce résultat ($p\text{-value}$ de 0.06 et 0.84 respectivement pour les indices de Bray-Curtis et d'Aitchison ; figure 7). La comparaison avec la matrice de relation génomique n'indique pas non plus de

corrélation avec la dissimilarité, tout indices confondus (distance de Bray-Curtis : p -value de 0.915 pour le microbiote cutané, 0.999 pour le microbiote cloacal). Enfin, les microbiotes de cloaques n'affichent pas non plus de corrélation avec la proximité génétique de leurs hôtes, quelque soient les métriques de dissimilarité des communautés et matrice de distance ou de parenté génétique utilisées. Ces résultats ne démontrent pas l'existence de phyllosymbiose au sein de la population de *Squatina squatina*.

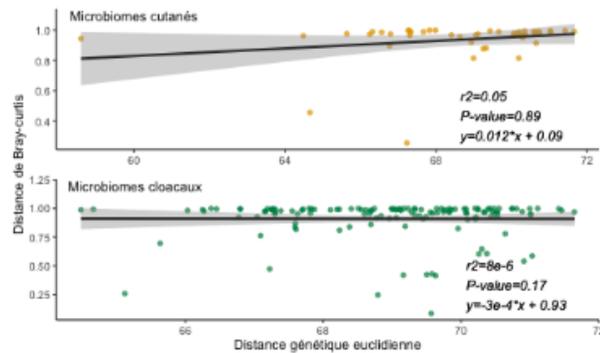


Figure 7. Dissimilarité entre les microbiomes selon la distance génétique euclidienne entre leurs hôtes. Les résultats de régression linéaires sont affichés. Les zones grisées correspondent aux écart-types.

Evaluation de la variabilité des microbiotes d'élaasmobranches

Après avoir intégré les données de plusieurs autres espèces d'élaasmobranches aux données de *Squatina squatina*, la diversité des microbiotes entre espèces a été comparée. La richesse en ASVs et les indices de Shannon et de Gini-Simpson sont plus élevés pour les microbiotes cutanés (3.96 +/- 0.06 pour l'indice de Shannon, avec l'erreur-type associée) et branchiaux (3.86 +/- 0.11) que les microbiotes cloacaux (2.17 +/- 0.08). La figure 8 présente la composition relative des microbiotes cutanés des différentes espèces. Les microbiotes sont largement dominés par les *Gammaproteobacteria*, en particulier par les classes des *Enterobacterales*, allant jusqu'à 39.5% des microbiotes cutanés de *Carcharhinus melanopterus* et des *Pseudomonales*, composant 23.6% des

18

communautés associées à *Negaprion brevirostris*. Dans les microbiotes cloacaux, les *Enterobacterales* atteignent 55.5% des microbiotes de *Carcharhinus melanopterus*, mais les *Firmicutes* sont également en pourcentage élevé, notamment chez les raies : 52.4% pour *Aetobatus narinari* et 47.0% pour *Gymnura altavela*.

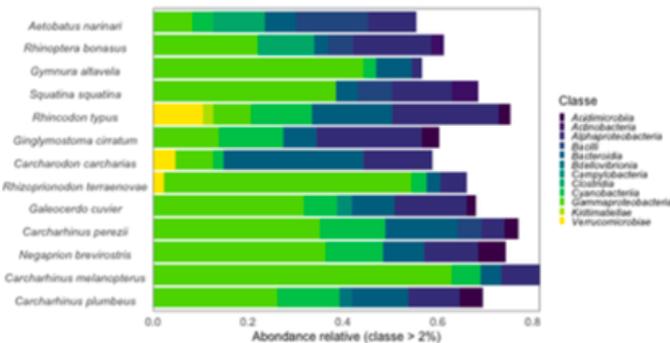


Figure 8. Composition des microbiotes cutanés d'élaasmobranches au rang de la classe.

D'après les analyses de Permanova sur les matrices de dissimilarité de Bray-Curtis, la distribution des échantillons de microbiotes est principalement expliquée par l'espèce (p -value < 0.001, $r^2=0.217$), mais également par l'habitat (démersal, benthopélagique ou pélagique ; p -value < 0.001, $r^2=0.124$), le site anatomique (p -value < 0.001, $r^2=0.079$) et la captivité (p -value < 0.001, $r^2=0.075$). D'autres facteurs expliquent aussi de manière significative la distribution des microbiotes, mais leur contribution est plus faible (inférieure à 7%) : le type de migration (amphidrome ou océanodrome), la catégorie de régime alimentaire, la gamme de température de préférence, la stratégie de reproduction et le sexe. A l'exception de ce dernier paramètre, tous les autres dépendent de l'espèce. Lorsque les microbiotes sont pris séparément par site anatomique, leur distribution est logiquement mieux expliquée par les autres facteurs : ceci est illustré sur la figure 9. Les résultats des tests sont similaires avec les distances d'UniFrac pondéré et d'Aitchison.

19

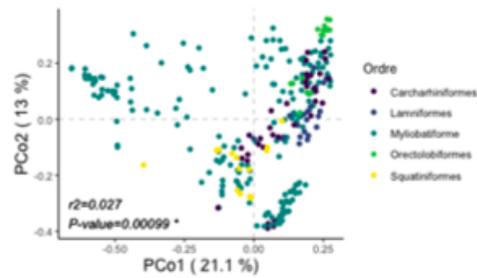


Figure 9. Graphe de la PCoA des microbiotes cutanés d'élasmobranches selon leur ordre, basé sur la distance de Bray-Curtis. Les pourcentages représentent la contribution de chaque axe. Les *p-values* indiquent les résultats de Permanova selon l'espèce, significatif avec un astérisque.

Exploration de la phylosymbiose à l'échelle des élasmobranches

La corrélation entre la dissimilarité des microbiotes et la distance cophénétique entre leurs hôtes, qui correspond aux temps de divergence entre les espèces, dépend du site anatomique. Ainsi, d'après les tests de Mantel la matrice de distance phylogénétique est corrélée à la matrice de dissimilarités de Bray-Curtis des microbiotes de peaux (*p-values* de 0.014, *pearson's r*=0.393) et de cloaques (*p-values* de 0.001, *pearson's r*=0.542). Ce n'est cependant pas le cas pour les microbiotes de branchies, pour lesquels la *p-value* du test de Mantel est de 0.115, on rejette donc l'hypothèse d'une corrélation entre les deux matrices de distances. Les mêmes conclusions sont obtenues lorsque la distance phylogénétique est comparée à l'indice d'UniFrac pondéré, les *p-values* associées aux microbiotes de peau, de cloaque et de branchies étant respectivement de 0.005, 0.002 et 0.157. Les régressions linéaires de la figure 10 permettent de visualiser ceci d'une autre manière.

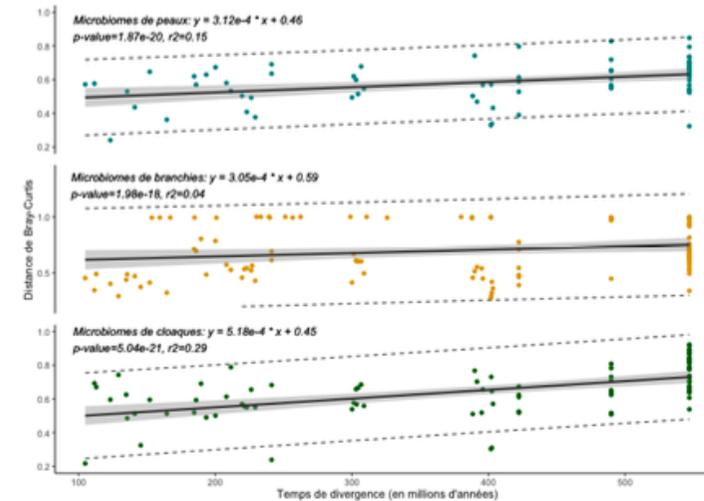


Figure 10. Dissimilarité entre les microbiotes selon le temps de divergence entre leurs hôtes. Les résultats de régression linéaires sont affichés. Les zones grisées correspondent aux écart-types, les pointillés aux intervalles de prédictions.

L'approche par comparaison du dendrogramme de microbiotes cutanés à l'arbre phylogénétique des élasmobranches est affichée sur la figure 11. *Rhinoptera bonasus* et *Aetobatus narinari*, deux raies de l'ordre des Myliobatiformes, sont regroupées ensemble selon la classification de leur microbiote respectifs, ce qui correspond à leur phylogénie puisqu'elles sont respectivement l'espèce la plus proche de l'autre dans le jeu de données. Deux espèces de requins, *Rhizoprionodon terraenovae* et *Squatina squatina*, ont leur microbiote regroupé avec celui des raies. L'indice normalisé de Robinson-Fould indique, pour une valeur de 0, la topologie identique des deux arbres comparés, et correspond pour une valeur de 1 à deux arbres n'ayant rien en commun. Cet indice, restant très proche de 1, est le plus élevé pour les microbiotes de cloaques, et le plus faible pour les microbiotes branchiaux (0.9969 pour les cloaques et la peau, 0.9968 pour les branchies).

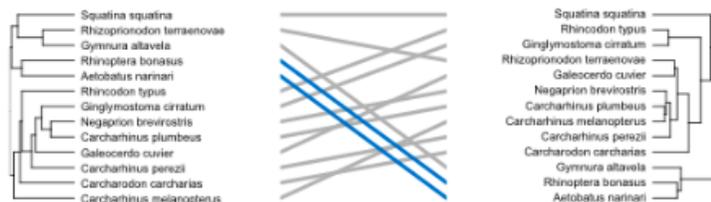


Figure 11. Comparaison entre le dendrogramme des microbiotes (basé sur la distance de Bray-Curtis, à gauche) et l'arbre phylogénétique de leurs hôtes (à droite). Les lignes colorées indiquent des organismes dont le regroupement est similaire dans les deux dendrogrammes.

DISCUSSION

Le microbiote cutané de l'ange de mer

L'analyse des séquences de microbiotes externes de nombreux élasmodontes a permis de constater une diversité interspécifique plus importante qu'intraspécifique, ce qui est fréquemment observé pour le microbiote cutané des animaux marins. Toutefois, aucune différence de diversité ou de structure entre les microbiotes des différents organes n'a été détecté, contrairement à ce qui a été trouvé plusieurs fois, notamment chez deux espèces de requins, *Carcharhinus plumbeus* et *Carcharhinus obscurus* (Bregman *et al*, 2023), et deux mammifères marins en captivité *Tursiops truncatus* et *Orcinus orca* (Chiarello *et al*, 2017).

Toutefois, la région d'échantillonnage joue un rôle significatif dans la composition et la diversité du microbiote cutané chez *Squatina squatina*. En effet, des différences significatives de la diversité alpha et la structure des communautés ont été observées entre les régions de Bastia et de Solenzara. Il s'agit du seul paramètre testé qui explique de manière significative la variabilité de la structure et de la diversité du microbiote de *Squatina squatina*. Cet effet de la localisation a été également observé chez deux

espèces d'élasmodontes, *Urobatis halleri* et *Carcharhinus melanopterus* (Kerr *et al*, 2023 ; Pogoreutz *et al*, 2019).

Tous les anges de mer échantillonnés en Corse ne forment qu'une seule population. L'analyse du lien entre la distance génétique et la dissimilarité des microbiotes externes ne montre pas de corrélation, à l'exception de la matrice de dissimilarité d'UniFrac pondéré des microbiotes cutanés est corrélée à la distance génétique euclidienne entre les anges de mer. Cette distance est en effet celle qui semble la plus sensible à détecter la phylosymbiose (Mazel *et al*, 2018). La proximité génétique des anges de mer échantillonnés ne rend pas compte de l'étendue de la variabilité génétique de l'espèce et limite l'analyse de la phylosymbiose à l'échelle intraspécifique. Etendre donc l'étude à d'autres populations de *Squatina squatina*, tel que celles aux Canaries et en mer d'Irlande (Hiddink *et al*, 2019 ; Meyers *et al*, 2016), pourrait permettre d'approfondir cette observation. Relativement peu d'études se sont intéressées à la phylosymbiose à l'échelle de la même espèce, voire de la même population ; parmi elles, Wood *et al* (2022) ont examiné le microbiote de l'algue brune *Phyllospora comosa*, en prenant en compte des marqueurs génétiques, mais aussi divers traits phénotypiques et pour un effort d'échantillonnage étendu. La variabilité du microbiote de l'espèce est ainsi largement expliquée par le site géographique, et dans une moindre mesure le génotype et le phénotype des hôtes. Cela suggère que ce sont les conditions environnementales qui impactent le plus la variabilité des microbiotes à l'échelle d'une seule espèce, ce qui est conforme avec ce qui est observé pour les anges de mer. De la même façon, dans leur étude du microbiote de trois espèces d'éponges, Diez-Vives *et al* (2020) ont échantillonné de populations isolées et ont décelé l'existence de phylosymbiose au sein de chacune des espèces.

La dynamique des microbiotes est non seulement influencée par les facteurs abiotiques de l'océan, mais aussi par les communautés microbiennes environnantes (Bell *et al*, 2024 ; Kohl, 2020). Pour mieux comprendre les déterminants de microbiotes cutanés, il serait intéressant de les comparer aux communautés microbiennes de l'eau et des sédiments puisque *Squatina squatina* est un requin benthique, mais aussi aux paramètres physico-chimiques de l'eau. En effet, d'après la méta-analyse de Bell *et al* (2024), la concentration en dioxygène et dans une moindre mesure la salinité et le pH

sont corrélés aux microbiotes cutanés de poissons téléostéens, ce qui pourrait potentiellement s'appliquer à d'autres organismes marins.

Dans cette même étude de Bell *et al* (2024), les microbiotes de téléostéens sont largement dominés par les *Gammaproetobacteria*. Si cette classe de bactéries est largement répandue dans le milieu océanique, elle est particulièrement prédominante dans les microbiotes d'animaux marins (Chiarello *et al*, 2017 ; Chiarello *et al*, 2020 ; Doane *et al*, 2020 ; Sadeghi *et al*, 2023). Ce résultat est similaire avec ce qui a été trouvé pour l'ange de mer, mais aussi avec chez *Carcharhinus melanopterus* (Pogoreutz *et al*, 2019) et la plupart des espèces d'élasmobranches étudiées ici. Les seules espèces pour lesquelles cela n'est pas le cas sont la raie léopard (*Aetobatus narinari*), le grand requin blanc (*Carcharodon carcharias*), le requin baleine (*Rhincodon typus*) et le requin nourrice atlantique (*Ginglymostoma cirratum*). Pour cette dernière espèce, ce sont les *Actinobacteria* qui sont prédominantes, comme chez *Hypanus americanus* et *Negaprion brevirostris* (Caballero *et al*, 2020). Chez les espèces dont le microbiome est dominées par les *Gammaproteobacteria*, ce ne sont pas les mêmes familles bactériennes qui sont représentées : alors que dans le microbiote de *Squatina squatina* les *Vibrionaceae* sont majoritaires, il s'agit des *Pseudomonadaceae* chez le requin-léopard *Triakis semifasciata* (Goodman *et al*, 2020). Le microbiote cloacal de *Squatina squatina* est encore plus enrichi en *Gammaproteobacteria*, ce qui est similaire avec ce qui a été trouvé *Carcharhinus plumbeus* et *Carcharhinus obscurus* (Bregman *et al*, 2023). En outre, des membres du règne des *Archaea* ont été trouvés, bien qu'en proportion très faible ; certains ont été précédemment identifiés dans le microbiote de requins et raies (Caballero *et al*, 2020 ; Goodman *et al*, 2020).

La phylosymbiose chez les élasmobranches

Le microbiote de l'ange de mer a été intégré à un jeu de données de microbiotes externes de plusieurs espèces d'élasmobranches, afin de tester la phylosymbiose à l'échelle interspécifique. La démarche de méta-analyse implique la comparaison de données de sources variées : si les protocoles expérimentaux ont suivi les mêmes procédures, la stratégie d'échantillonnage, la collecte sur le terrain, l'expérimentateur et les kits utilisés n'ont pas été les mêmes dans toutes les études produisant les données de séquences.

Cela induit une hétérogénéité forte dans la quantité et la qualité des échantillons par espèces, ce qui est susceptible d'influer sur les résultats. En conséquence, les échantillons ont été fusionnés par espèce pour les comparer à la phylogénie. Cela efface donc la variabilité intraspécifique (Mazel *et al*, 2018). Ces mêmes problèmes liés à l'approche de méta-analyse a été rencontré par Bell *et al* (2024), qui s'attache aux microbiotes cutanés de poissons téléostéens, qui n'a pas détecté de phylosymbiose malgré le grand nombre d'échantillons, conclusion qui diffère d'autres travaux réalisés avec un protocole uniforme (Chiarello *et al*, 2018 ; Pratte *et al*, 2018).

La méthode par corrélation, à l'aide du test de Mantel, révèle l'existence d'un patron de phylosymbiose pour les microbiotes cutanés et cloacaux à l'échelle de respectivement 13 et 16 espèces d'élasmobranches, dont trois raies. Cela concorde avec les travaux de Doane *et al* (2020), qui sont les seuls à ce jour ayant investigué la présence de phylosymbiose pour le microbiote cutané des élasmobranches, mais qui ne considérait que quatre espèces en plus d'autres poissons téléostéens. En moyenne, le coefficient de Pearson, qui quantifie l'intensité du patron de phylosymbiose est autour de 0.2 pour un signal modéré à fort (Mazel *et al*, 2018). Or les coefficients déterminés ici sont plus élevés, suggérant que la phylosymbiose est prégnante chez les élasmobranches. La méthode par comparaison de dendrogrammes est moins concluante. Habituellement, les valeurs d'indices de Robinson-Fould sont proches de 0.9, qu'importe l'amplitude du signal de phylosymbiose ; ici les valeurs sont très proches de 1, et étonnamment la plus faible pour les microbiotes de branchies. Cette deuxième méthode est, sinon plus visuelle, moins performante pour détecter la phylosymbiose, car la classification hiérarchique des microbiotes perd une partie de l'information des matrices de distance (Mazel *et al*, 2018). En outre, des approches probabilistes en comparant le dendrogramme des microbiotes avec des dendrogrammes aléatoires permettraient d'évaluer le caractère significatif de l'indice de Robinson-Fould (Brooks *et al*, 2016). Par ailleurs, les conclusions de ces analyses sont limitées par la phylogénie des élasmobranches qui a été utilisées. En effet, c'est un arbre moyen qui a été utilisé, ce qui ne prend pas en compte les valeurs de bootstrapping inhérente au modèle, et l'arbre n'est pas enraciné à l'aide d'un groupe externe, ce qui permet habituellement de le calibrer et d'obtenir des temps de divergence plus proche de la réalité (Graham *et al*, 2002). Toutefois, il reste intéressant de noter que

d'après le dendrogramme obtenu, les 3 espèces de raies forment un cluster avec deux autres espèces de requins : *Rhizoprionodon terraenovae* et *Squatina squatina*. Ces deux espèces sont démersales (Froese et Pauly, 2024), caractéristique plus commune chez les raies, et suggère que le microbiote est influencé par les traits écologiques et le milieu de vie des espèces.

Si un modèle de phyllosymbiose est mis en évidence pour le microbiote de la peau et celui du cloaque chez une dizaine d'espèces d'élastranchés, l'approche employée ne permet pas d'identifier les processus sous-jacents qui expliqueraient cette phyllosymbiose. L'étude de la coévolution entre les microbiotes et leurs hôtes, qui fait partie de ces processus, implique de détecter un ou plusieurs clades microbiens de manière systématique chez les hôtes, pour ensuite reconstruire la phylogénie de ces microorganismes, et vérifier si celle-ci est congruente à la phylogénie des hôtes (Gaulke *et al.*, 2018). La phyllosymbiose peut également s'expliquer par le rôle de filtre que peut jouer la physiologie des hôtes, à priori plus semblable d'un point de vue phénotypique si ceux-ci sont phylogénétiquement plus proches. C'est ainsi l'une des limites de l'approche de Mantel, qui ne permet pas de distinguer les traits écologiques qui seraient corrélés à la phylogénie (Mazel *et al.*, 2018). Cet effet de corrélation entre les variables décrites limite les conclusions liées aux analyses des traits expliquant la distribution des microbiotes d'élastranchés. Parmi ces facteurs, la géographie peut se confondre avec la phyllosymbiose, d'autant plus qu'elle peut être la cause d'événements de spéciation (Groussin *et al.*, 2020). À titre d'exemple, Amato *et al.* (2019) ont discriminé l'effet de la géographie en incorporant des données supplémentaires dans leur étude sur le microbiote intestinal de primates. L'effet de la géographie n'a pas été évalué ici. Les échantillons ont en effet été fusionnés par sites anatomiques et par espèces, lesquelles ont parfois été collectées à plusieurs localisations différentes ; par ailleurs, comme décrit plus haut, la dispersion non homogène des échantillons selon leur origine géographique a limitée l'analyse de la variabilité intraspécifique des microbiotes. De plus, les caractéristiques de l'environnement sont également à prendre en compte afin de démêler la contribution de ces facteurs environnementaux de celle de l'éloignement des hôtes en lui-même (Poulin *et al.*, 2011).

CONCLUSION

D'après l'analyse des données issues du metabarcoding de l'ARN 16s de microbiotes externes, la variabilité intraspécifique du microbiote cutané de *Squatina squatina* est principalement influencée par la provenance géographique des individus ; au sein d'une seule population, l'effet de la relation génétique entre les individus n'est pas apparente. En revanche, à l'échelle de plusieurs requins et raies, une corrélation se dégage entre la dissimilarité des microbiotes et la distance phylogénétique de leurs hôtes. Cela supporte l'hypothèse de l'existence de phyllosymbiose à l'échelle des élastranchés, et contribue à élargir cette observation qui est répandue dans le vivant.

Afin d'en comprendre davantage sur la dynamique des communautés microbiennes associées aux animaux marins, plusieurs directions sont envisageables. Adapter la stratégie d'échantillonnage, par exemple en incluant des populations génétiquement distinctes, en échantillonnant systématiquement les communautés de l'eau et du sédiment ainsi que les paramètres physico-chimiques, ou encore en comparant des distances géographiques déterminées, permettrait d'étudier plus précisément les processus influençant la distribution des microbiotes. En outre, l'aspect quantitatif de ces microbiotes n'est pas étudié, qui pourrait en effet être lié aux propriétés particulières de la peau des élastranchés. De la même façon, seul le bactériome et dans une moindre mesure, l'archéome sont examinés : l'eukaryome et le virome restent pour le moment beaucoup moins explorés.

REFERENCES

- Akat E, Yenmis M, Pombal M, Molist P, Megias M, Arman S, Vesely M, Anderson R, Ayaz D. Comparison of vertebrate skin structure at class level: A review. *The Anatomical Record*, 2022, 305, 3543-3608.
- Amato K, Sanders J, Song SJ, Nute M, Metcalf J, Thompson L, Morton J, Amir A, McKenzie V, Humphrey G, Gogul G, Gaffney J, Baden A, Britton G, Cuzzo F, Di Fiore A, Dominy N, Goldberg T, Gomez A, Kowalewski M, Lewis R, Link A, Sauter M, Tecot S, White B, Nelson K, Stumpf R, Knight R, Leigh S. Evolutionary trends in host physiology outweigh dietary niche in structuring primate gut microbiomes. *The ISME Journal*, 2019, 13, 576-587.

Anderon M. Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA). *Wiley StatsRef: Statistics Reference Online*, 2017.

Apprill A. Marine animal microbiomes: toward understanding host-microbiome interactions in a changing ocean. *Frontiers in Marine Science*, 2017, 4, 222.

Bachar-Wikstrom E, Thomsson K, Sihlbom C, Abbo L, Tartor H, Linden S, Wikstrom J. Identification of novel glycans in the mucus layer of shark and skate skin. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24, 14331.

Bang C, Dagan T, Deines P, Dubilier N, Duschl W, Fraune S, Hentschel U, Hirt H, Hübler N, Lachnit T, Picazo D, Pita L, Pogoreutz C, Rädercker N, Saad M, Schmitz R, Schulenburg H, Voolstra C, Weiland-Bräuer N, Ziegler M, Bosch T. Metaorganisms in extreme environments: do microbes play a role in organismal adaptation? *Zoology*, 2018, 127, 1-19.

Barnard E, Li H. Shaping of cutaneous function by encounters with commensals. *The Journal of Physiology*, 2016, 595, 2, 437-450.

Black C, Merly K, Hammerschlag N. Bacterial communities in multiple tissues across the body surface of three coastal shark species. *Zoological Studies*, 2021, 60, 69.

Bell A, McMurtrie J, Bolanos L, Cable J, Temperton B, Tyler C. Influence of host phylogeny and water physiochemistry on microbial assemblages of the fish skin microbiome. *FEMS Microbiology Ecology*, 2024, 100.

Bosch T, McFall-Ngai M. Metaorganisms as the new frontier. *Zoology*, 2011, 114, 185-190.

Bregman G, Lalzar M, Livne L, Bigal E, Zemah-Shamir Z, Morick D, Tchernov D, Scheinin A, Meron D. Preliminary study of shark microbiota at a unique mix-species shark aggregation site, in the Eastern Mediterranean Sea. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14, 1027804.

Brooks A, Kohl K, Brucker R, van Opstal E, Bordenstein S. Phylosymbiosis: relationship and functional effects of microbial communities across host evolutionary history. *PLoS Biology*, 2016, 14, 11.

Brucker R, Bordenstein S. Speciation by symbiosis. *Trends in Ecology and Evolution*, 2012, 27, 8, 443-451.

Caballero S, Galeano AM, Loranzo JD, Vives M. Description of the microbiota in epidermal mucus and skin of sharks (*Ginglymostoma cirratum* and *Negaprion brevirostris*) and one stingray (*Hypanus americanus*). *PeerJ*, 2020, 8, e10240.

Callahan B, McMurdie P, Rosen M, Han A, Johnson A, Holmes S. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 2016, 13, 581-583.

Caporaso JG, Lauber C, Walters W, Berg-Lyons D, Lozuponz C, Tumbaugh P, Fierer N, Knight R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *PNAS*, 2011, 108, 1, 4516-4522.

Chiarello M, Villéger S, Bouvier C, Bettarel Y, Bouvier T. High diversity of skin-associated bacterial communities of marine fishes is promoted by their high variability among body parts, individuals and species. *FEMS Microbial Ecology*, 2015, 91, 7.

Chiarello M, Villéger S, Bouvier C, Auguet JC, Bouvier T. Captive bottlenose dolphins and killer whales harbor a species-specific skin microbiota that varies among individuals. *Scientific Reports*, 2017, 7, 15269.

Chiarello M, Auguet JC, Bettarel Y, Bouvier C, Claverie T, Graham N, Rieuvilleneuve F, Sucré E, Bouvier T, Villéger S. Skin microbiome of coral reef fish is highly variable and driven by host phylogeny and diet. *Microbiome*, 2018, 6, 147.

Chiarello M, Auguet JC, Graham N, Claverie T, Sucré E, Bouvier C, Rieuvilleneuve F, Ximena Restrepo-Ortiz C, Bettarel Y, Villéger S, Bouvier T. Exceptional but vulnerable microbial diversity in coral reef animal surface microbiomes. *Proceedings Royal Society B*, 2020, 287.

Clavere-Graciette A, McWhirt M, Hoopes L, Bassos-Hull K, Wilkinson K, Stewart F, Pratte Z. Microbiome differences between wild and aquarium whitespotted eagle rays (*Aetobatus narinari*). *Animal Microbiome*, 2022, 4, 34.

Compagno L. Alternative life-history styles of cartilaginous fishes in time and space. *Environmental Biology of Fishes*, 1990, 28, 33-75.

Diez-Vives C, Taboada S, Leiva C, Busch K, Hentschel U, Riesgo A. On the way to specificity - Microbiome reflects sponge genetic cluster primarily in highly structured populations. *Molecular Ecology*, 2020, 29, 4412-4427.

Doane M, Morris M, Papudeshi B, Allen L, Pande D, Haggerty J, Johri S, Tumlund A, Peterson M, Kacev D, Nosal A, Ramirez D, Hovel K, Ledbetter J, Alker A, Avalos J, Baker K, Bhide S, Billings E, Byrum S, Clemens M, Demery AJ, Lima LFO, Gomez O, Gutierrez O, Hinton S, Kieu D, Kim A, Loaiza R, Martinez A, McGhee J, Nguyen K, Parlan S, Pham A, Proce-Waldman R, Edwards A, Dindsale E. The skin microbiome of elasmobranchs follows phylosymbiosis, but in teleost fishes, the microbiomes converge. *Microbiome*, 2020, 8, 93.

Dulvy N, Reynolds J. Evolutionary transition among egg-laying, live-bearing and maternal inputs in sharks and rays. *Proceedings of the Royal Society B*, 1997, 264, 1386.

Dulvy N, Pacoureau N, Rigby C, Pollom R, Jabado R, Ebert D, Finucci B, Pollock C, Cheek J, Derrick D, Herman K, Sherman CS, VanderWright W, Lawson J, Walls R, Carlson J, Charvet P, Bineesh K, Fernando D, Ralph G, Matsushiba J, Hilton-Taylor C, Fodham S, Simpfendorfer C. Overfishing drives over one-third of all sharks and rays toward a global extinction crisis. *Current Biology*, 2021, 31, 21, 4773-4787.

Falkowski P, Fenchel T, Delong E. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. *Science*, 2008, 30, 1034-1039.

Faure N, Manel S, Macé B, Amal V, Guellati N, Holon F, Barroil A, Pichot F, Riutort JJ, Insacco G, Zava B, Mouillot D, Deter J. An environmental DNA assay for the detection of critically endangered angel sharks (*Squatina* spp.). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 2023, 33, 1088-1097.

Froese R, Pauly D. *World Wide Web electronic publication*. 2024. FishBase.

Gaulke C, Arnold H, Humpreys I, Kembel S, O'Dwyer J, Sharpton T. Ecophylogenetics clarifies the evolutionary association between mammals and their gut microbiota. *American Society for Microbiology*, 2018, 9, 5.

Gonçalves e Silva F, Fragoso dos Santos H, de Assis Leite DC, Lutfi DS, Vianna M, Rosado AS. Skin and stinger bacterial communities in two critically endangered rays from the South Atlantic in natural and aquarium settings. *Microbiology Open*, 2020, 9, e1141.

Goodman A, Papudeshi B, Doane M, Mora M, Kerr E, Torres M, Moffat JN, Lima L, Nosal A, Dinsdale E. Epidermal microbiomes of leopard sharks (*Triakis semifasciata*) are consistent across captive and wild environments. *Microorganisms*, 2022, 10, 2081.

Graham S, Olmstead R, Barrett S. Rooting phylogenetic trees with distant outgroups! a case study from the commelinoid monocots. *Molecular Biology and Evolution*, 2002, 19, 10, 1769-1781.

Groussin M, Mazel F, Alm E. Co-evolution and co-speciation of host-gut bacteria systems. *Cell Host and Microbe*, 2020, 28.

Hiddink J, Shepperson J, Bater R, Goonesekera D, Dulvy N. Near disappearance of the Angelshark *Squatina squatina* over half a century of observations. *Conservation Science and Practice*, 2019, 1, e97.

Junger P, Sarmiento H, Giner C, Mestre M, Sebastian M, Moran XA, Aristegui J, Agusti S, Duarte C, Acinas S, Massana R, Gasol J, Logares R. Global biogeography of the smallest plankton across ocean depths. *Science Advances*, 2023, 9.

Kabasakal H, Kabasakal O. Status of angelshark, *Squatina squatina* (Elasmobranchii: Squatiniformes: Squatinidae) in the sea of Marmara. *Annales, Series Historia Naturalis Series*, 2014, 24, 41-46.

Kerr E, Papudeshi B, Haggerty M, Wild N, Goodman A, Lima L, Hesse R, Skye A, Mallawaarachchi V, Johri S, Parker S, Dinsdale E. Stingray epidermal microbiomes are species-specific with local adaptations. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14, 1031711.

Killian A, Wenzl P, Huttner E, Carling J, Xia L, Blois H, Caig V, Heller-Uszynska, Jaccoud D, Hopper C, Aschenbrenner-Killian M, Evers M, Peng K, Cayla C, Hok P, Uszynski G. Diversity Arrays Technology: a generic genome profiling Technology on open platforms. *Data production and analysis in population genomics: Methods and Protocols*, 67-89.

Kohl K. Ecological and evolutionary mechanisms underlying patterns of phyllosymbiosis in host-associated microbial communities. *Philosophical Transactions Royal Society B*, 2020, 375, 20190251.

Lawson J, Pollom R, Gordon C, Barker J, Meyers E, Zidowitz H, Ellis J, Bartoli A, Morey G, Fowler S, Alvarado DJ, Fordham S, Sharp R, Hood A, Dulvy N. Extinction risk and conservation of critically endangered angel shark in the Eastern Atlantic and Mediterranean Sea. *ICES Journal of Marine Sciences*, 2020, 77, 1, 12-29.

Logares R. Decoding populations in the ocean microbiome. *Microbiome*, 2024, 12, 67.

Lyons K, Bedore C, Carlisle A, Moniz L, Odom T, Ahmed R, Greiman S, Freedman R. Network analysis reveals species-specific organization of microbial communities in four co-occurring elasmobranch species along the Georgia coast. *Fishes*, 2024, 9, 34.

Mantel N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 1967, 27, 1, 209-220.

Mazel F, Knowles S, Videvall E, Sweeny A. Evolutionary pattern and processes in animal microbiomes. *Journal of Evolutionary Biology*, 2023, 36, 1653-1658.

McFall-Ngai M, Hadfield M, Bosch T, Carey H, Domazet-Loso T, Douglas A, Dubilier N, Eberl G, Fukami T, Gilbert S, Hentschel U, King N, Kjelleberg S, Knoll A, Kremer N, Mazmanian S, Metcalf J, Neelson K, Pierce N, Rawls J, Reid A, Ruby E, Rumpho M, Sanders J, Tautz D, Wernegreen J. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. *PNAS*, 2013, 110, 9, 3229-3236.

McMurdie P, Holmes S. phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLOS ONE*, 2013, 8, 4, e61217.

Meyers W, Seegers U. Basics of skin structure and function in elasmobranchs: a review. *Journal of Fish Biology*, 2012, 80, 1940-1967.

Meyers E, Tuya F, Barker J, Alvarado DJ, Castro-Hernandez JJ, Haroun R, Rödder D. Population structure, distribution and habitat use of Critically Endangered Angelshark, *Squatina squatina*, in the Canary Islands. *Wiley*, 2016; 27:1133-1144.

Mika K, Okamoto A, Shubin N, Mark Welch D. Bacterial community dynamics during embryonic development of the little skate (*Leucoraja erinacea*). *Animal microbiome*, 2021, 3, 72.

Milke F, Meyerjurgens J, Simon M. Ecological mechanisms and current systems shape the modular structure of the global oceans' prokaryotic seascape. *Nature Communications*, 2023, 14, 6141.

Minich J, Härer A, Vechinski J, Frable B, Skelton Z, Kunselman E, Shane M, Perry D, Gonzales A, McDonald D, Knight R, Michael T, Allen E. Host biology, ecology and the environment influence microbial biomass and diversity in 101 marine fish species. *Nature Communications*, 2022, 13, 6978.

Miyake S, Ngugi D, Stingl U. Phylogenetic diversity, distribution, and cophylogeny of giant bacteria (*Epulopiscium*) with their surgeonfish hosts in the Red Sea. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7, 285.

Morey G, Barker J, Hood A, Gordon C, Bartoli A, Meyers EKM, Ellis J, Sharp R, Jimenez-Alvarado D, Pollom R. *Squatina squatina*. *The IUCN Red List of Threatened Species*, 2019, eT39332A117498371.

Perry C, Pratte Z, Clavere-Graciette A, Ritchie K, Hueter R, Newton A, Fischer C, Dinsdale E, Doane M, Wilkinson K, Bassos-Hull K, Lyons K, Dove A, Hoopes L, Stewart F. Elasmobranch microbiomes: emerging patterns and implications for host health and ecology. *Animal Microbiome*, 2021, 3, 61.

Pogoreutz C, Gore M, Perna G, Millar C, Nestler R, Ormond R, Clarke C, Voolstra C. Similar bacterial communities on healthy and injured skin of black tip reef sharks. *Animal Microbiome*, 2019, 1, 9.

Poulin R, Krasnov B, Mouillot D, Thieltges D. The comparative ecology and biogeography of parasites. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 2011, 366, 2379-2390.

Pratte Z, Perry C, Dove A, Hoopes L, Ritchie K, Hueter R, Fischer C, Newton A, Stewart F. Microbiome structure in large pelagic sharks with distinct feeding ecologies. *Animal Microbiome*, 2022, 4, 17.

Quast C, Priesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41, 1, 590-596.

R Core Team, R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*. 2021.

Reed E, Nunez S, Kulp D, Qian J, Reilly MP, Foulkes AS. A guide to genome-wide association analysis and post-analytic interrogation. *Statistics in medicine*, 2015, 34, 28, 3769-3792.

Robinson DF, Fould DR. Comparison of phylogenetic trees. *Mathematical Biosciences*, 1981, 53, 131-147.

Sadeghi J, Chaganti SR, Johnson T, Heath D. Host species and habitats shape fish-associated bacterial communities: phyllosymbiosis between fish and their microbiome. *Microbiome*, 2023, 11, 258.

Sansaloni C, Petrolis C, Jaccoud D, Carling J, Detering F, Grattapaglia D, Kilian A. Diversity arrays technology (DArT) and next-generation sequencing combined: genome-wide, high throughput, highly informative genotyping for molecular breeding of Eucalyptus. *BMC Proceedings*, 2011, 5, 7, P54.

Schliep KP. phangorn: phylogenetic analysis in R. *Bioinformatics*, 2011, 27, 4, 592-593.

Shepard S, Wögerbauer C, Green P, Ellis J, Roche W. Angling records track the near extirpation of angelshark *Squatina squatina* from two Irish hotspots. *Endangered Species Research*, 2019, 38, 153-158.

Simon M, Grossart HP, Scgweitzer B, Ploug H. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems. *Aquatic Microbial Ecology*, 2002, 28, 175-211.

Stat M, Morris E, Gates R. Functional diversity in coral-dinoflagellate symbiosis. *PNAS*, 2008, 105, 27, 9256-9261.

Stein RW, Mull C, Kuhn T, Aschliman N, Davidson L, Joy J, Smith G, Dulvy N, Mooers A. Global priorities for conserving the evolutionary history of sharks, rays and chimaeras. *Nature Ecology and Evolution*, 2018, 2, 288-289.

Storo R, Easson C, Shivji M, Lopez J. Microbiome analyses demonstrate specific communities within five shark species. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12, 605285.

Tanger I, Stefanschitz J, Schwert Y, Roth O. The source of microbial transmission influences niche colonization and microbiome development. *Proceedings Royal Society B*, 2024, 29, 2023-2036.

van Opstal E, Bordenstein S. Phyllosymbiosis impact adaptive traits in *Nasonia* wasps. *mBio*, 2019, 10, 4.

VanRaden PM. Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91, 11, 4414-4423.

Wood G, Steinberg P, Campbell A, Verges A, Coleman M, Marzinelli E. Host genetics, phenotype and geography structure the microbiome of a foundational seaweed. *Molecular Ecology*, 2022, 31, 2189-2206.

ABSTRACT

Phylosymbiosis indicates that the level of similarity between animal associated microbiota is higher when their hosts are phylogenetically closer. Using data from the metabarcoding of the 16S RNA gene, of samples collected from *Squatina squatina* in Corsica and from publicly available data for other elasmobranchs, this hypothesis was tested at the intra and interspecific level. While the body site was not explaining the variability of the microbiota structure, the location was. Since the genetic distance between individuals was not correlated with the dissimilarity of their microbiota, this might imply that the fine environmental conditions, such as the physiochemical characteristics or the surrounding microbial communities are driving the distribution of the microbiota. On the contrary, the phylogenetic distance was correlated with the dissimilarity of skin and cloacal microbiota when several species of elasmobranch were included. This supports the existence of phylosymbiosis in the skin microbiota of elasmobranchs, but the processes causing such a pattern remain to be discovered.

RESUMES

La phylosymbiose précise que les microbiotes d'animaux sont plus semblables si leurs hôtes sont phylogénétiquement plus proches. A l'aide du metabarcoding du gène de l'ARN 16S, provenant de l'échantillonnage de microbiotes externes de *Squatina squatina* en Corse et de données publiques d'autres espèces d'élastombranches, cette hypothèse a été testée aux échelles intra et interspécifique. Contrairement au site anatomique, la zone géographique explique de manière significative la variabilité intraspécifique des microbiotes de *Squatina squatina*. Cependant, la distance génétique entre les individus n'est pas corrélée avec la dissimilarité entre les microbiotes : cela suppose que les conditions environnementales, tel que les paramètres physico-chimiques et les communautés microbiennes environnantes influencent la distribution des microbiotes. Au contraire, la distance phylogénétique est corrélée avec la dissimilarité des microbiotes de peau et de cloaque lorsque plusieurs espèces d'élastombranches sont incluses. Cela soutient l'hypothèse de l'existence de ce patron pour les microbiotes cutanés des requins et raies, mais les processus à l'origine de cette phylosymbiose restent à explorer.

ANNEXE 8 : Liste des espèce détectées par ADNe sur les tronçons positifs à la détection d'ADN de *Squatina squatina*.

Espèces	PIAF_50	PIAF_53	T_05	T_27	T_38	T_40	T_44	T_45	T_46	T_50	T_66	T_73
<i>Anthias anthias</i>	X											
<i>Aphia minuta</i>	X	X										
<i>Apogon imberbis</i>	X											
<i>Auxis</i>		X										X
<i>Belone belone</i>	X	X			X							
<i>Blenniidae</i>						X						
<i>Boops boops</i>		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Bothus podas</i>		X										
<i>Buenia affinis</i>	X		X			X					X	
<i>Centracanthidae</i>				X		X			X			
<i>Ceratoscopelus maderensis</i>	X	X										
<i>Chromis chromis</i>	X	X	X				X	X				
<i>Conger conger</i>												X
<i>Corcyrogobius liechtensteini</i>	X											
<i>Coris julis</i>	X		X				X	X		X	X	
<i>Crystallogobius linearis</i>	X		X									
<i>Dasyatis marmorata</i>			X				X	X		X		
<i>Dasyatis pastinaca</i>		X										
<i>Dasyatis tortonesei</i>				X								
<i>Dentex dentex</i>	X	X		X		X			X			

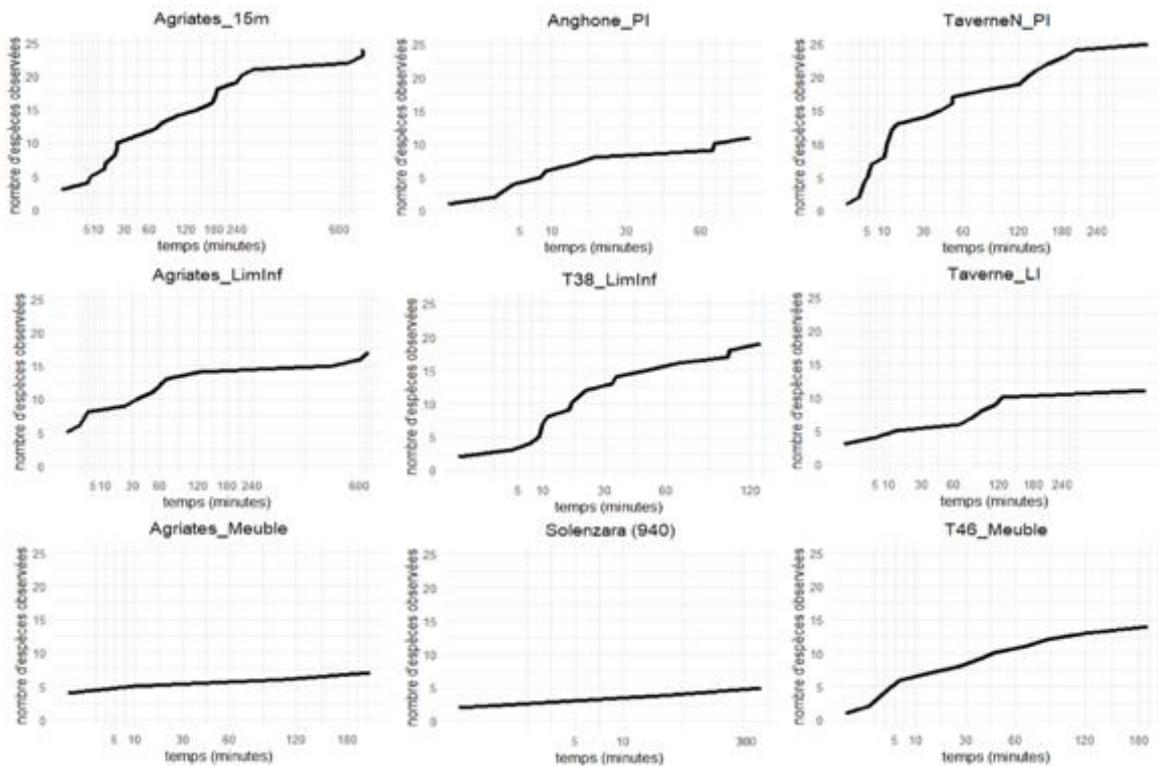
<i>Diplodus annularis</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Diplodus puntazzo</i>										X		
<i>Diplodus sargus</i>		X		X		X					X	X
<i>Diplodus sp.</i>												
<i>Diplodus vulgaris</i>			X		X					X	X	
<i>Dipturus oxyrinchus</i>						X						
<i>Echelus myrus</i>		X										
<i>Epinephelus marginatus</i>	X											
<i>Gobiidae</i>						X						
<i>Gobius ater</i>	X											
<i>Gobius cruentatus</i>	X						X					
<i>Gobius geniporus</i>	X											
<i>Gobius xanthocephalus</i>	X							X	X			
<i>Gymnammodytes semisquamatus</i>	X	X										
<i>Gymnammodytes sp.</i>				X								
<i>Labrus sp.</i>	X											
<i>Lampanyctus crocodilus</i>	X	X										
<i>Lebetus guilleti</i>						X	X					X
<i>Lepadogaster candolii</i>		X										
<i>Lepadogaster lepadogaster</i>	X									X		
<i>Lithognathus mormyrus</i>						X						
<i>Maurollicus muelleri</i>	X											
<i>Merluccius merluccius</i>		X				X						
<i>Mullus barbatus</i>		X		X	X	X					X	X

<i>Mullus surmuletus</i>	X	X				X		X		X		X
<i>Mustelus mustelus</i>				X			X			X		
<i>Myctophum punctatum</i>		X										
<i>Myliobatis aquila</i>				X	X	X	X	X	X		X	
<i>Notoscopelus elongatus</i>	X											
<i>Oblada melanura</i>			X									
<i>Odondebuenia balearica</i>		X				X	X		X		X	
<i>Ophisurus macrorhynchos</i>												X
<i>Pagellus acarne</i>		X		X	X	X	X		X	X	X	X
<i>Pagellus bogaraveo</i>		X										
<i>Pagellus erythrinus</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Parablennius rouxi</i>			X									
<i>Pseudaphya ferreri</i>	X	X	X									
<i>Raja</i>				X			X		X			
<i>Raja brachyura</i>			X									
<i>Sardina pilchardus</i>		X			X	X		X				
<i>Sardinella aurita</i>	X	X		X	X		X			X		
<i>Sarpa salpa</i>	X	X	X		X				X			
<i>Sciaena umbra</i>	X	X										
<i>Scomber colias</i>		X				X						
<i>Scorpaena porcus</i>							X					
<i>Scorpaena scrofa</i>	X											
<i>Scyliorhinus canicula</i>		X								X		
<i>Seriola dumerili</i>										X		
<i>Serranus cabrilla</i>	X	X	X		X	X	X	X	X			

<i>Serranus hepatus</i>							X					
<i>Serranus scriba</i>	X							X	X			
<i>Sparidae</i>			X		X	X	X		X	X	X	X
<i>Sparus aurata</i>	X											
<i>Sphyaena sphyraena</i>		X										
<i>Spicara</i>		X		X	X	X	X		X			X
<i>Spondyliosoma cantharus</i>	X					X			X	X		
<i>Squalus blainville</i>				X			X				X	
<i>Squatina squatina</i>				X		X	X		X			
<i>Symphodus</i>	X		X				X		X	X		X
<i>Symphodus ocellatus</i>							X					
<i>Symphodus tinca</i>	X	X					X	X				
<i>Synodus saurus</i>		X										
<i>Tetronarce nobiliana</i>									X			
<i>Thunnus thynnus</i>		X	X						X			
<i>Torpedo marmorata</i>	X	X		X				X				
<i>Trachinus draco</i>	X	X										
<i>Trachurus</i>	X	X		X	X	X	X		X	X		
<i>Triglidae</i>				X	X						X	X
<i>Xiphias gladius</i>			X								X	
<i>Xyrichtys novacula</i>		X										

ANNEXE 9 : Courbes d'accumulation des espèces en fonction du temps d'acquisition vidéo pour les neuf sites de suivi écologique.

L'augmentation du nombre d'observations de nouvelles espèces en fond meuble est linéaire pour les trois sites dans ce substrat (« Agriates_Meuble », « Solenzara (940) » et « T46_Meuble »). Les courbes d'accumulation des sites « Agriates_15m » et « TaverneN_PI » sont celles qui augmentent le plus rapidement, avec un score de 10 espèces à 30 min de vidéo. Grâce aux courbes d'accumulations, le temps optimal d'acquisition par substrat peut être déterminé. En effet, pour les sites en substrat meuble et en limite inférieure d'herbier, un temps d'acquisition de 180 minutes (*i.e.* 3 heures) peut être suffisant pour avoir une idée exhaustive de l'inventaire des espèces. Alors qu'en profondeur intermédiaire d'herbier, des pics de nouvelles espèces sont observés entre 180 minutes et 240 minutes pour les sites « Agriates_15m » et « TaverneN_PI ».



ANNEXE 10 : Inventaire des espèces répertoriées par ADN environnemental et par les observations caméras pour chaque site.

Famille	Espèces	Anghone_PI		TaverneN_PI		Agriates_15m		T38_LimInf		Taverne_LI		Agriates_LimInf		T46_Meuble		Solenzara_940		Agriates_Meuble	
		ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra
Congridae	<i>Conger conger</i>	X		X		X		X				X		X				X	
Muraenidae	<i>Muraena helena</i>	X		X		X		X				X						X	
Microstomatidae	<i>Nansenia boreacrassicauda</i>																	X	
Syngnathidae	<i>Hippocampus guttulatus</i>																		X
Synodontidae	<i>Synodus saurus</i>											X						X	
Blenniidae	<i>Blennius ocellaris</i>							X				X						X	
Blenniidae	<i>Parablennius gattorugine</i>											X							
Blenniidae	<i>Parablennius incognitus</i>											X							
Blenniidae	<i>Parablennius rouxi</i>			X								X							
Blenniidae	<i>Salaria fluviatilis</i>			X															
Carangidae	<i>Lichia amia</i>										X		X						
Carangidae	<i>Seriola dumerili</i>														X				
Carangidae	<i>Trachurus</i>	X		X				X		X		X		X		X			
Carangidae	<i>Trachurus sp.</i>	X		X		X		X				X		X					
Clupeidae	<i>Sardina pilchardus</i>	X										X							
Clupeidae	<i>Sardinella aurita</i>	X						X						X					
Merlucciidae	<i>Merluccius merluccius</i>	X																	
Gaidropsaridae	<i>Gaidropsarus mediterraneus</i>	X																	
Gobiesocidae	<i>Lepadogaster candolii</i>					X													
Gobiesocidae	<i>Lepadogaster lepadogaster</i>					X						X							
Loliginidae	<i>Loligo vulgaris</i>										X				X		X		
Octopodidae	<i>Octopus vulgaris</i>														X				
Sepiidae	<i>Sepia officinalis</i>														X				
Gobiidae	<i>Aphia minuta</i>											X							

Famille	Espèces	Anghone_PI		TaverneN_PI		Agriates_15m		T38_LimInf		Taverne_LI		Agriates_LimInf		T46_Meuble		Solenzara_940		Agriates_Meuble	
		ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra
Gobiidae	<i>Buenia affinis</i>							X				X		X		X		X	
Gobiidae	<i>Corcyrogobius liechtensteini</i>			X								X							
Gobiidae	<i>Crystallogobius linearis</i>											X				X		X	
Gobiidae	<i>Deltentosteus collonianus</i>																	X	
Gobiidae	<i>Gobius ater</i>											X							
Gobiidae	<i>Gobius cruentatus</i>			X		X		X				X						X	
Gobiidae	<i>Gobius geniporus</i>											X							
Gobiidae	<i>Gobius niger</i>			X															
Gobiidae	<i>Gobius xanthocephalus</i>			X		X		X				X		X					
Gobiidae	<i>Lebetus guilleti</i>							X		X				X		X		X	
Gobiidae	<i>Millerigobius macrocephalus</i>					X													
Gobiidae	<i>Odondebuenia balearica</i>	X		X		X		X		X		X		X		X		X	
Gobiidae	<i>Pseudaphya ferreri</i>											X						X	
Gobiidae	<i>Zebrus zebrus</i>					X						X							
Ammodytidae	<i>Gymnamodytes cicerelus</i>																		X
Diogenidae	<i>Dardanus sp</i>								X						X				
Tripterygiidae	<i>Tripterygion delaisi</i>					X						X							
Tripterygiidae	<i>Tripterygion melanurum</i>					X													
Tripterygiidae	<i>Tripterygion tripteronotum</i>					X													
Istiophoridae	<i>Istiophorus albicans</i>													X					
Apogonidae	<i>Apogon imberbis</i>			X		X						X						X	
Labridae	<i>Coris julis</i>	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X			X	X
Labridae	<i>Labrus</i>	X		X	X	X						X							
Labridae	<i>Labrus merula</i>				X		X					X							

Famille	Espèces	Anghone_PI		TaverneN_PI		Agriates_15m		T38_LimInf		Taverne_LI		Agriates_LimInf		T46_Meuble		Solenzara_940		Agriates_Meuble	
		ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra
Labridae	<i>Labrus mixtus</i>											X							
Labridae	<i>Labrus viridis</i>						X						X						
Labridae	<i>Labrus sp.</i>			X		X		X				X		X					
Labridae	<i>Symphodus</i>	X		X		X		X				X		X					
Labridae	<i>Symphodus cinereus</i>		X		X		X		X		X		X						
Labridae	<i>Symphodus doderleini</i>		X		X		X						X						
Labridae	<i>Symphodus mediterraneus</i>		X		X		X		X		X		X						X
Labridae	<i>Symphodus melanocercus</i>			X	X		X	X	X			X	X						
Labridae	<i>Symphodus melops</i>				X														
Labridae	<i>Symphodus ocellatus</i>	X		X	X	X		X				X		X					
Labridae	<i>Symphodus sp.</i>	X	X	X	X	X	X	X				X	X	X					X
Labridae	<i>Symphodus roissali</i>				X														
Labridae	<i>Symphodus rostratus</i>		X		X		X		X				X						
Labridae	<i>Symphodus tinca</i>	X	X	X	X	X	X	X	X			X	X	X					
Labridae	<i>Thalassoma pavo</i>					X													
Lophiidae	<i>Lophius budegassa</i>							X											
Lophiidae	<i>Lophius piscatorius</i>									X									
Mugilidae	<i>Chelon auratus</i>					X													
Mugilidae	<i>Chelon labrosus</i>					X													
Myctophidae	<i>Ceratoscopelus maderensis</i>					X						X							
Myctophidae	<i>Lampanyctus</i>					X		X						X					
Myctophidae	<i>Lampanyctus sp.</i>					X						X							X
Myctophidae	<i>Myctophum punctatum</i>											X							
Moronidae	<i>Dicentrarchus labrax</i>													X					
Pomacentridae	<i>Chromis chromis</i>	X	X	X	X	X	X					X	X						

Famille	Espèces	Anghone_PI		TaverneN_PI		Agriates_15m		T38_LimInf		Taverne_LI		Agriates_LimInf		T46_Meuble		Solenzara_940		Agriates_Meuble	
		ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra
Sciaenidae	<i>Sciaena umbra</i>	X		X	X	X	X					X							
Scorpaenidae	<i>Scorpaena notata</i>									X		X		X				X	
Scorpaenidae	<i>Scorpaena porcus</i>	X		X		X		X				X							
Scorpaenidae	<i>Scorpaena scrofa</i>	X				X		X				X				X		X	
Serranidae	<i>Anthias anthias</i>							X				X						X	
Serranidae	<i>Epinephelus marginatus</i>			X		X						X						X	
Serranidae	<i>Serranus cabrilla</i>			X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Serranidae	<i>Serranus hepatus</i>							X				X		X				X	
Serranidae	<i>Serranus scriba</i>	X	X	X	X	X	X	X	X			X	X	X					
Trachinidae	<i>Trachinus draco</i>							X				X						X	
Triglidae	<i>Triglidae</i>					X		X				X		X	X	X		X	
Pomatomidae	<i>Pomatomus saltatrix</i>							X											
Soleidae	<i>Pegusa nasuta</i>	X																	
Scombridae	<i>Auxis sp.</i>											X						X	
Scombridae	<i>Euthynnus alletteratus</i>	X				X						X						X	
Scombridae	<i>Scomber colias</i>							X				X							
Scombridae	<i>Thunnus thynnus</i>					X		X								X		X	
Scombridae	<i>Sarda sarda</i>			X															
Centracanthidae	<i>Spicara</i>			X		X		X		X		X				X			
Centracanthidae	<i>Spicara sp.</i>			X		X						X		X				X	
Centracanthidae	<i>Spicara flexuosa</i>						X												
Centracanthidae	<i>Spicara maena</i>				X														
Centracanthidae	<i>Spicara smaris</i>						X				X		X				X		X
Sparidae	<i>Boops boops</i>	X	X	X	X	X	X	X	X			X		X		X	X	X	

Familie	Espèces	Anghone_PI		TaverneN_PI		Agriates_15m		T38_LimInf		Taverne_LI		Agriates_LimInf		T46_Meuble		Solenzara_940		Agriates_Meuble		
		ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	
Sparidae	<i>Diplodus annularis</i>	X	X	X	X	X	X	X	X			X	X	X					X	
Sparidae	<i>Diplodus puntazzo</i>			X	X	X	X	X	X			X								
Sparidae	<i>Diplodus sargus</i>	X		X	X	X	X	X	X			X							X	
Sparidae	<i>Diplodus sp</i>				X															
Sparidae	<i>Diplodus vulgaris</i>	X	X	X	X	X	X	X	X			X							X	
Sparidae	<i>Lithognathus mormyrus</i>	X		X		X						X		X						
Sparidae	<i>Oblada melanura</i>	X			X	X						X		X						
Sparidae	<i>Pagellus acarne</i>			X		X		X		X				X		X		X		
Sparidae	<i>Pagellus erythrinus</i>	X		X		X		X	X	X		X		X	X	X	X	X		
Sparidae	<i>Pagellus sp</i>						X													
Sparidae	<i>Pagrus pagrus</i>				X										X					
Sparidae	<i>Sarpa salpa</i>	X		X		X	X	X				X		X					X	
Sparidae	<i>Sparidae</i>	X		X		X		X				X		X		X		X		
Sparidae	<i>Sparus aurata</i>	X				X						X			X				X	
Sparidae	<i>Spondyliosoma cantharus</i>	X		X	X	X		X		X		X		X					X	
Centriscidae	<i>Macroramphosus scolopax</i>									X										
Majidae	<i>Maja squinado</i>						X		X											
Mullidae	<i>Mullus sp</i>				X								X							
Mullidae	<i>Mullus barbatus</i>	X				X		X						X		X				
Mullidae	<i>Mullus surmuletus</i>	X		X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X			X	
Syngnathidae	<i>Syngnathus acus</i>							X				X		X						
Molidae	<i>Mola mola</i>							X				X							X	
Uranoscopidae	<i>Uranoscopus scaber</i>											X							X	
Sphyraenidae	<i>Sphyraena viridensis</i>					X														
Zeidae	<i>Zeus faber</i>										X				X					

Famille	Espèces	Anghone_PI		TaverneN_PI		Agriates_15m		T38_LimInf		Taverne_LI		Agriates_LimInf		T46_Meuble		Solenzara_940		Agriates_Meuble	
		ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra	ADNe	Caméra
Scyliorhinidae	<i>Scyliorhinus canicula</i>	X		X				X	X		X			X	X	X			
Triakidae	<i>Mustelus mustelus</i>			X										X					
Dasyatidae	<i>Dasyatis marmorata</i>	X						X				X		X		X		X	
Dasyatidae	<i>Dasyatis pastinaca</i>					X					X			X				X	X
Dasyatidae	<i>Dasyatis thetidis</i>	X				X		X			X			X				X	
Myliobatidae	<i>Aetomylaeus bovinus</i>					X													
Myliobatidae	<i>Myliobatis aquila</i>	X						X				X		X	X	X			
Squatinae	<i>Squatina squatina</i>													X					
Rajidae	<i>Raja</i>							X		X									
Rajidae	<i>Raja clavata</i>										X								
Rajidae	<i>Raja sp.</i>							X										X	
Rajidae	<i>Rostroraja alba</i>											X							
Squalidae	<i>Squalus blainville</i>													X					
Torpedinidae	<i>Torpedo sp</i>										X								
Torpedinidae	<i>Torpedo marmorata</i>	X		X		X						X		X				X	

ANNEXE 11 : Liste des macrodéchets observés grâce aux caméras tractées lors de l'échantillonnage d'ADNe

Transect	Date	Heure	Latitude	Longitude	Observation	Habitat
T09	27/04/2021	14:10	42,7497522	9,20268833	Filet fantôme	Fond meuble avec litière / holothuries
T28	28/04/2021	15:43	42,854072	9,49729288	Palme de plongée	Fond meuble avec litière
T32	28/04/2021	18:24	42,7818805	9,48798877	Pneu	Substrat meuble avec holothuries et <i>Codium bursa</i>
T32	28/04/2021	18:26	42,7776666	9,48763587	Pneu	Substrat meuble avec holothuries et <i>Codium bursa</i>
T32	28/04/2021	18:32	42,7782557	9,48767935	Pneu	Substrat meuble avec holothuries et <i>Codium bursa</i>
T61	30/04/2021	11:43	42,15940570	9,58247393	Barque	Fond meuble / <i>Codium bursa</i> / oursins / quelques ascidies blanches / Ophiures

ANNEXE 12 : Soumission (28 juin 2024) de l'article Julie Deter et al, 2024. Gigantic picarel breeding colonies with male nest guarders discovered in the Mediterranean à Current Biology

Current Biology

**Gigantic picarel breeding colonies with male nest guarders discovered in the Mediterranean
--Manuscript Draft--**

Manuscript Number:	CURRENT-BIOLOGY-D-24-00810R1
Full Title:	Gigantic picarel breeding colonies with male nest guarders discovered in the Mediterranean
Article Type:	Correspondence
Corresponding Author:	julie Deter, Ph.D. Andromède océanologie Mauguio, FRANCE
First Author:	julie Deter, Ph.D.
Order of Authors:	julie Deter, Ph.D.
	Laurent BALLESTA
	Adèle BARROIL
	Guilhem MARRE
	Nadia FAURE
	Jean-Jacques RIUTORT
	Thomas BOCKEL
	Sébastien VILLEGER
	David MOUILLOT
	Nicolas Tomasi
	Kevin Da-Cunha
	Florian HOLON

1 Manuscript type: Correspondence

2

3 TITLE PAGE:

4 Gigantic picarel breeding colonies with male nest guarders discovered in the Mediterranean

5

6 Authors: Julie Deter^{1,2*}, Laurent Ballesta¹, Adèle Barroil², Guilhem Marre¹, Nadia Faure³,
7 Jean-Jacques Riutort⁴, Thomas Bockel¹, Sébastien Villéger², David Mouillot², Nicolas
8 Tomasi⁵, Kevin Da-Cunha⁵ and Florian Holon¹

9

10 Affiliations:

11 ¹ Andromède Océanologie, 7 place Cassan – Camon plage, 34130 Mauguio, France

12 ² MARBEC, Univ. Montpellier, CNRS, Ifremer, IRD, Place Eugène Bataillon, 34095
13 Montpellier, France

14 ³ CEFE, Univ Montpellier, CNRS, EPHE-PSL University, IRD, 1919, route de Mende, 34293
15 Montpellier 5, France

16 ⁴ Bastia Offshore Fishing Club, 8 Parc Impérial, 20600 Furiani, France

17 ⁵ Parc naturel marin du Cap Corse et de l'Agriate / Parcu naturale marinu di u Capicorsu è di
18 l'Agriate. Base nautique des Minelli, 20 200 E Ville Di Petrabugnu

19

20 Key words: *Spicara smaris*; fish reproduction; angelshark; hexagonal depressions; colonial
21 nesting; muddy bottom

22

23 * Corresponding author and lead contact :

24 Julie Deter, Andromède océanologie, 7 place Cassan – Camon plage, 34130 Mauguio, France

25 E-mail: julie.deter@andromede-ocean.com

26 Phone number: + 33 4 67 66 32 48

27

28 SUMMARY: We report the discovery of a massive fish breeding ecosystem in the
29 Mediterranean Sea. On the coast of Corsica Island, the breeding colonies of picarels

30 (*Spicara smaris*) cover more than 134.6 ha between 37 and 50 m deep. More than 18 million
31 nests, each guarded by a male, were estimated, attracting numerous predators, including
32 critically endangered species like angel shark (*Squatina squatina*), and promoting amazing
33 behaviors.

34 CORRESPONDENCE

35 While breeding colonies are well known in seabirds, they remain exceptional for marine
 36 fishes. Fifteen massive breeding colonies of picarels (*Spicara smaris*), a small
 37 hermaphrodite zooplanktivorous fish, made of nests each guarded by a male, were observed
 38 by chance during video transects in spring 2021 along the East coast of Corsica (French
 39 Mediterranean). In total, these colonies covered more than 134.6 ha within a surveyed area
 40 of 712.1 ha, a single colony covering from 2.2 to 28 ha between 37 and 50 m deep. The
 41 seabed, including the lower limit of *Posidonia oceanica* meadows, soft bottoms, and the
 42 predominant rhodolith beds, have been completely rebuilt in circular jointed nests measuring
 43 55 cm in diameter on average. With a density of 2.6 nests per m², the estimated number of
 44 nests exceeds 18 million, each guarded by a male. Females swim in groups above the nests
 45 and sometimes lay eggs. A rich macrofauna including threatened species (IUCN red list) can
 46 be observed around the nests, eating eggs or adults. This finding highlights the exceptional
 47 ecological role of this small fish as an ecosystem engineer crating oasis of marine life. This
 48 warrants further studies and better protection of the area, at least during this short breeding
 49 season.

50 Picarels, *Spicara smaris* Linnaeus 1758 (Actinopterygii: Sparidae), are benthic-pelagic
 51 marine fish found all around the Mediterranean Sea, Black Sea, and the surrounding Atlantic
 52 coasts including the Canary Islands and Madeira¹. *S. smaris* is a protogynous
 53 hermaphroditic species, it starts life as a female before becoming a male, with one seasonal
 54 breeding peak per year from spring to autumn depending on the locality². During this period,
 55 males (20 cm long) display a more intense blue coloration, gather in large groups and dig
 56 small circular depressions over which they parade³. In these nests, the females (up to 15 cm
 57 long) lay sticky eggs that are immediately fertilized by the male. Each male then actively
 58 protects and ventilates the eggs⁴ in his nest. This aggregative breeding strategy has been
 59 known for several decades³ but has only been described in four sites along the French
 60 Mediterranean continental coast^{5,6}. Yet, the number and extent of these aggregations, the
 61 factors influencing site choice, the distances travelled by breeding adults to reach them, and
 62 the ecological role of these aggregations remain unknown.

63 In May 2021, fifteen picarel breeding colonies were discovered during a large-scale survey
 64 focusing on the critically endangered angel shark (*Squatina squatina*)⁷. These colonies were
 65 spaced from 150 m to 2500 m. The nests were close to each other (Figure 1) and clearly
 66 differentiated from the surrounding seabed by the absence of any macroalgae or other
 67 organisms inside the nests themselves, and by uniform sediments with a roughness lower
 68 inside the nest (1.02) than at the edge (1.18) (t-test, $p < 0.001$). Each active nest contained
 69 thousands of 0.5-mm eggs guarded by a male showing his large raised dorsal fin (Figure 1).
 70 Four weeks after our observation (early June 2021), the nests were no longer visible,
 71 confirming the ephemeral nature of these engineered ecosystems.

72 Depositing the eggs on the gravel may maintain aeration and cleanliness while nest edges
 73 (1.39 to 7.67 cm high; average 3.84 cm) may prevent the eggs from being swept away or
 74 facilitate surveillance by the males. Males may also aerate the eggs by moving their caudal
 75 fin (fan) in the same way they maintain the integrity of the nests. Paternal care is a scarce
 76 phenomenon in marine fishes (16% of families) compared to their freshwater counterparts
 77 due to the lower environmental fluctuations in the ocean⁸. Divers observed male guardians

78 repelling benthic predators (hermit crabs, rays) with mouth and caudal fin strikes. Certain
79 troublesome elements (*Codium* algae, sand urchins) can even be passed from male to male
80 until they were thrown away from the breeding area. Divers also observed sudden looting
81 behavior. With no obvious trigger, all the males in the vicinity suddenly pounced on a nest
82 and devoured the eggs in a matter of seconds before returning to guard their own nest.
83 Video analyses (see also Key Resources Table) revealed that a male spends an average of
84 91 % of his time defending the nest (, 6 % maintaining the nest and regularly "pecking" the
85 sediment around and in the nest, and 1 % interacting with females. The remaining 2 % of the
86 time period could not be analyzed because the lens was obstructed.

87 Besides picarels, the divers and underwater remote cameras observed species rarely
88 spotted together in such abundance and diversity like cephalopods (*Octopus vulgaris*, *Loligo*
89 *spp*, *Sepia officinalis*) but also predator fishes (*Zeus faber*, *Lophius piscatorius*, *Trachinus*
90 *draco*, *Scyliorhinus canicular*) including IUCN Red List¹⁴ chondrichthyans like *Raja clavata*
91 (Least concern), *Dasyatis sp.*, *Torpedo marmorata* (Vulnerable), *Torpedo torpedo*
92 (Vulnerable) (see also the video in Key Resources Table). They hunted picarels or fed on
93 their eggs. To complement visual observations, we also performed video and environmental
94 DNA surveys. We detected the presence of *Squatina squatina* DNA while the towed camera
95 recorded a *Myliobatis aquila*, a *Dasyatis sp* and octopus nests. Static cameras set among
96 active *Spicara smaris* breeding colonies recorded seven other fish species like *Atherina*
97 *hepsetus*, *Coris julis*, *Lichia amia*, *Mullus sp*, *Serranus cabrilla*, *Symphodus cinereus* and
98 *Symphodus mediterraneus*.

99 Picarels are known to play a crucial role in the flow of energy between the bottom and top
100 trophic levels of benthic and pelagic food webs in the Aegean Sea⁹. Without having in-depth
101 knowledge of areas covered and seascape ecosystems engineered, local fishers are aware
102 of this phenomenon, which they call "arènes de reproduction" (breeding arenas) and target
103 them for *Z. faber*, but many rays and sharks are also part of by-catch even if they are
104 released alive when possible. The aggregation of angel sharks in these areas might be
105 linked to the concentration of prey and their own life cycle with breeding adults and
106 newborns observed in the same location at the same period.

107 Since 2022, *Spicara spp* has been on the list of additional regulated species recommended
108 by the FAO¹⁰. The temporal survey of the sites reported here could help to improve our
109 knowledge of this fish (population estimates, survival, intra-specific interactions) but also
110 provide important data for improving the conservation of threatened species that still live in
111 this area and guide the future need to achieve 30% of coverage by marine protected areas
112 in the heavily impacted Mediterranean Sea.

113

114 See supplemental Information for complementary results, methods and short videos.

115

116 ACKNOWLEDGMENTS

117 We are grateful to the ANGE project led by the University of Montpellier (UMR Marbec) in
118 partnership with Andromède océanologie and Bastia Offshore Fishing and funded by

119 Agence de l'Eau Rhône Méditerranée Corse (financial aid agreement N° 2021 0478) and
120 Office Français de la Biodiversité (OFB) – Parc Naturel Marin du Cap Corse et de l'Agriate
121 (R&D contract N° OFB-21-0214) which made this discovery possible. Side-scan sonar data
122 acquired in 2022 was possible thanks to the projects Spicara Circus (financial aid agreement
123 N° 20220392) and Spicarena (R&D contract N° 2022-0426) led by Andromède océanologie
124 and respectively funded by Agence de l'Eau Rhône Méditerranée Corse and Office Français
125 de la Biodiversité (OFB) – Parc Naturel Marin du Cap Corse et de l'Agriate. These projects
126 were part of Gombessa expeditions led by Andromède Océanologie and supported by
127 Manufacture de Haute Horlogerie Suisse Blancpain and Blancpain Ocean Commitment, the
128 Prince Albert II de Monaco Foundation, the Société des explorations de Monaco, Office
129 Français de la Biodiversité, and Agence de l'eau Rhône-Méditerranée-Corse (French Water
130 Agency) with the help of ARTE, Les Gens Bien Production, CNC, Ushuaïa TV, AP diving,
131 Aqualung, Nikon, Molecular, Seacam, Yamaha, Paralenz, Bigblue, Neotek, Seaowl, Marlink,
132 Subspace pictures, Suex and Francqueville without whom these expeditions would not have
133 been possible. The funders played no role in the content of this manuscript.

134 We thank the team of Parc Naturel Marin du Cap Corse et de l'Agriate for their help and
135 Jean-Georges Hamelin who agreed to share his bibliography concerning the observed
136 *Spicara* species nests. Many thanks to Sebastien Personnic, Thomas Pavy, Guillaume
137 Barbotin, Jordi Chias, Yanick Gentil, Nacim Guellati and Roberto Rinaldi for their help during
138 the field work and to Aline Faure for editing the videos (supplementary files). We are grateful
139 to the fishers who agreed to talk to us about their activities and share their knowledge.

140 Finally, our warmest thanks to the two anonymous reviewers for their enthusiastic
141 encouragement and helpful suggestions and to Caroline Ballesta for the English
142 proofreading.

143

144 AUTHOR CONTRIBUTIONS

145 Towed Camera, sonar, eDNA: FH, AB, JD, NF; Photogrammetry: FH for acquisition, GM for
146 modelling and analyses; Temperature sensor (set and analysis): FH, GM, Environmental
147 data analysis: TB; Images: AB and LB; Video analysis: AB; Writing and editing: all the
148 authors; Group leader, coordination: JD, DM and FH

149

150 DECLARATION OF INTERESTS

151 Florian Holon and Laurent Ballesta are two of the three co-founders of Andromède
152 océanologie.

153

154 FIGURE LEGENDS

155

156 **Figure 1. Picarel breeding colony**

157 *Spicara smaris* breeding colonies cover hectares and are constituted of hundreds circular
158 hexagonal depressions (A, see also Figure S1), each one guarded by one male (B, C)
159 showing an accentuated blue color (D). Thousands embryonated eggs are clearly visible in
160 the nests (E). Observation of intra-specific aggressive behavior with a male individual under
161 attack (in the centre) showing marked contrasting colors (F). A corresponds to a captured 3D
162 model of a breeding colony portion (497 m²), constructed using photogrammetry; B-E are
163 photos by the photograph Laurent Ballesta.

164

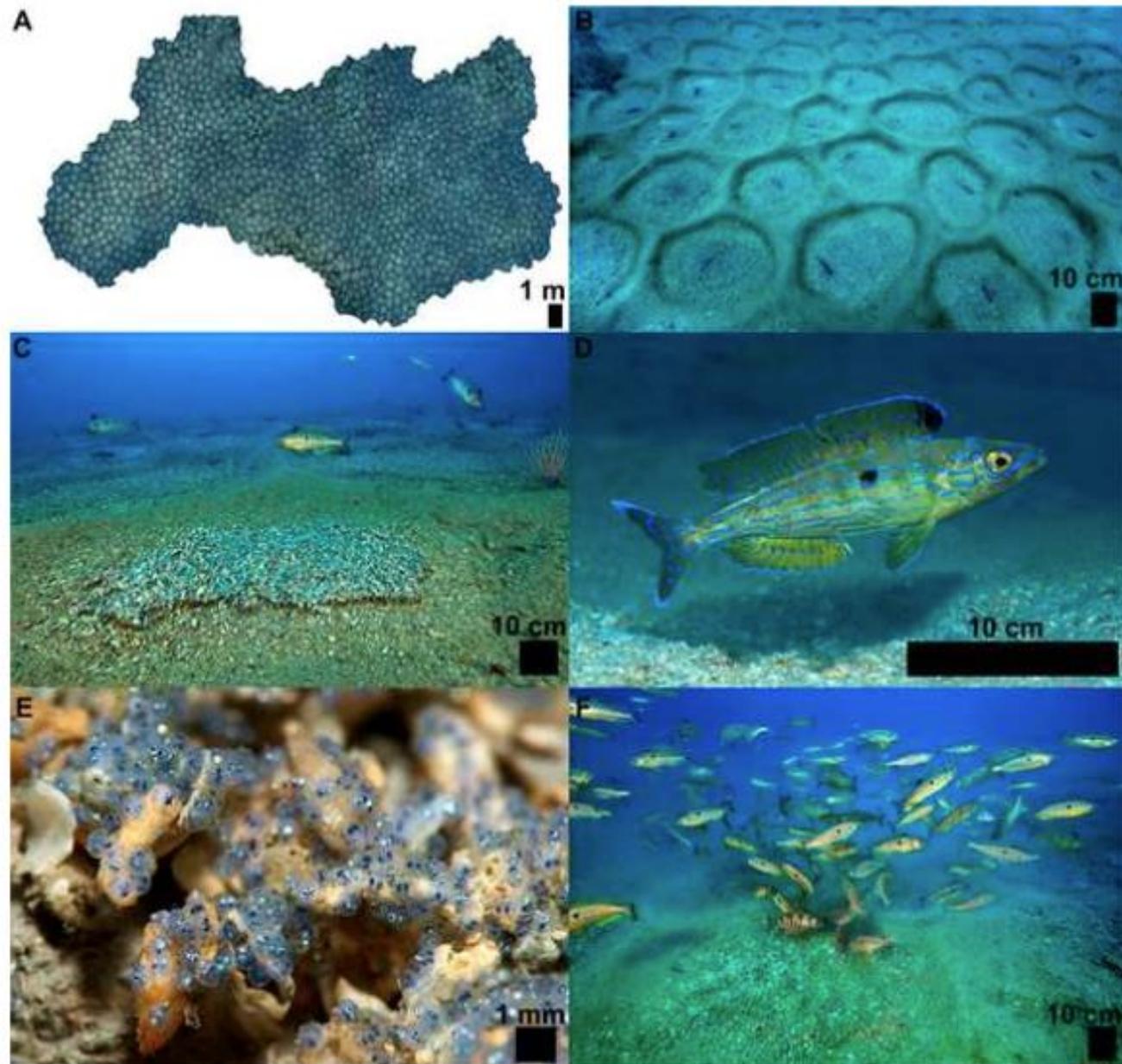
165 REFERENCES

- 166 1. Froese, R., and Pauly, D. (2023). FishBase. World Wide Web electronic publication.
167 www.fishbase.org.
- 168 2. Karlou-Riga, C., Petza, D., Charitonidou, K., Anastopoulos, P., Koumpaloglou, D.-S.,
169 and Ganias, K. (2020). Ovarian dynamics in picarel (*Spicara smaris*, L., Sparidae) and
170 implications for batch fecundity and spawning interval estimation. *Journal of Sea*
171 *Research* 160–161.
- 172 3. Tsangridis, A., and Filippousis, N. (1992). Growth pattern of picarel, *Spicara smaris* (L.)
173 (Centrarchidae), a protogynous species. *Cybium* 16, 233–243.
- 174 4. Bauchot, M.-L. (1987). Poissons osseux. In *Fiches FAO d'identification pour les besoins*
175 *de la pêche*. (rev. 1). Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. (Commission des
176 Communautés Européennes and FAO), pp. 891–1421.
- 177 5. Harmelin, J.-G., and Harmelin-Vivien, M. (1976). Observations "in situ" des aires de
178 ponte de *Spicara smaris* (L) Pisces, Perciformes, Centrarchidae dans les eaux de
179 Port-Cros. *Travaux Scientifiques du Parc National de Port-Cros* 2, 115–120.
- 180 6. ANDROMEDE OCEANOLOGIE (2011). Inventaires biologiques et analyse écologique
181 des habitats marins patrimoniaux du site Natura 2000 « Cap Martin FR 9301995.
182 (Contrat ANDROMEDE OCEANOLOGIE / AGENCE DES AIRES MARINES
183 PROTEGEES.).
- 184 7. Faure, N., Manel, S., Macé, B., Amal, V., Guellati, N., Holon, F., Barroil, A., Pichot, F.,
185 Riutort, J., Insacco, G., et al. (2023). An environmental DNA assay for the detection of
186 Critically Endangered angel sharks (*Squatina* spp.). *Aquatic Conservation* 33, 1088–
187 1097. <https://doi.org/10.1002/aqc.3954>.
- 188 8. Baylis, J.R. (1981). The evolution of parental care in fishes, with reference to Darwin's
189 rule of male sexual selection. *Environmental Biology of Fishes* 6, 223–251.
- 190 9. Karachle, P.K., and Stergiou, K.I. (2014). Diet and feeding habits of *Spicara maena* and
191 *S. smaris* (Pisces, Osteichthyes, Centrarchidae) in the North Aegean Sea. *ACTA*
192 *ADRIATICA*.
- 193 10. FAO (2022). Report of the forty-fourth session of the General Fisheries Commission for
194 the Mediterranean (GFCM) (FAO) <https://doi.org/10.4060/cc0292en>.

195

Figure1

[Click here to access/download;Figure;Picarel breeding colony.tif](#) ✚



“Supplemental information”: Gigantic picarel breeding colonies with male nest guarders discovered in the Mediterranean by Julie Deter^{1,2}, Laurent Ballesta¹, Adèle Barroil², Guilhem Marre¹, Nadia Faure³, Jean-Jacques Riutort⁴, Thomas Bockel¹, Sébastien Villéger², David Mouillot², Nicolas Tomasi⁵, Kevin Da-Cunha⁵ and Florian Holon¹

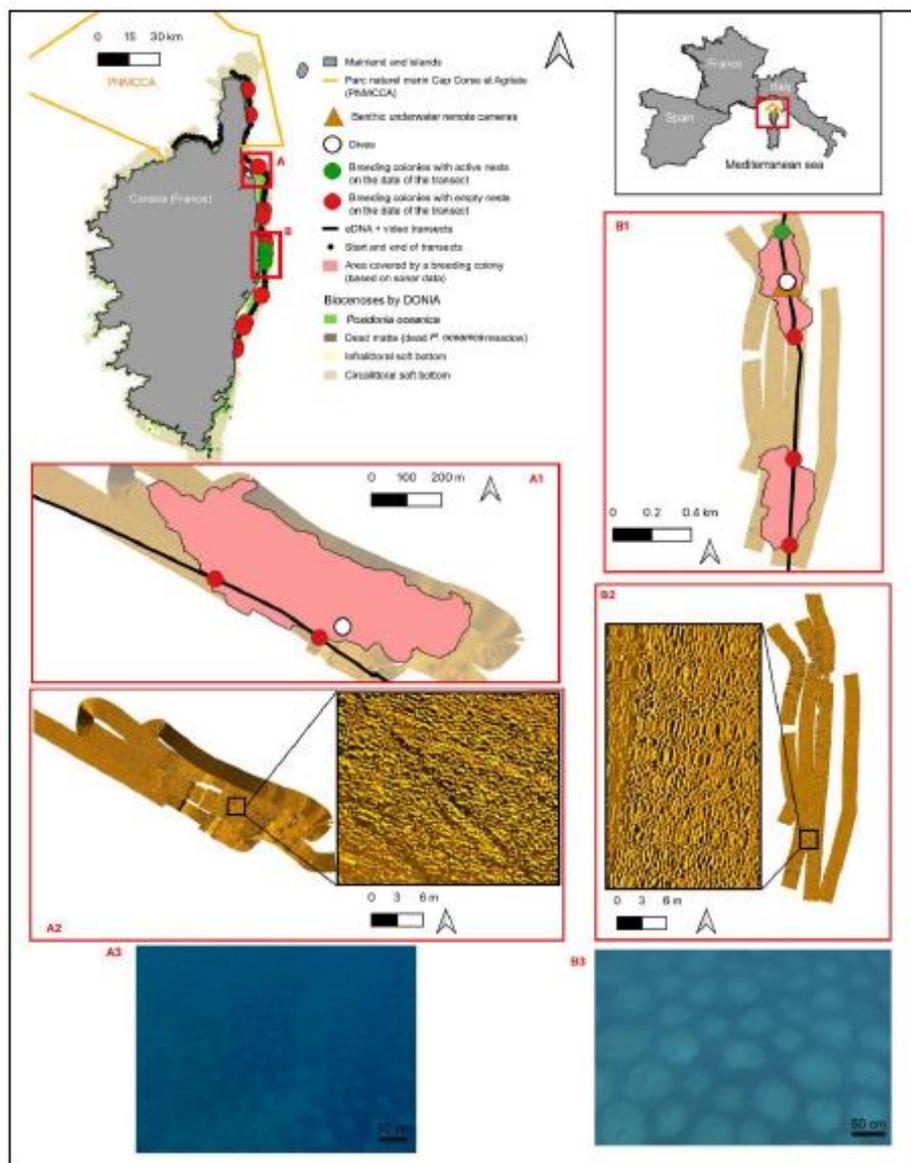


Figure S1: Localization of picarel breeding colonies, related to Figure 1. Off the east coast of Corsica (France) in the Mediterranean sea, localization of *Spicara smaris* breeding colonies (with empty nests or active breeding colonies) detected by towed camera

along the environmental DNA transect carried out in spring 2021 and of the dive site where benthic underwater remote cameras were set (B). Areas covered by the breeding colonies (in pink on A1 and B1) were estimated by side scan sonar (A2 and B2). Examples of pictures extracted from video transect show active nests (with male guarders, B3) and inactive nests (A3). Related to Figure 1.

Deposited data		
Other species encountered on breeding colonies (0:52 short video)	This paper, Figshare data	https://figshare.com/articles/media/b_Species_encountered_on_a_picarel_breeding_colony_b/25846240 DOI: 10.6084/m9.figshare.25846240
<i>Spicara smaris</i> behaviors on a breeding colony (1:16 short video)	This paper, Figshare data	https://figshare.com/articles/media/b_i_Spicara_smaris_i_b_b_behaviour_b/25846345 DOI: 10.6084/m9.figshare.25846345
3D model (2D area = 497 m ²) built from 890 images, resolution = 0.886 mm / pixel	This paper, Figshare data	https://figshare.com/articles/dataset/A_picarel_i_Spicara_i_i_smaris_i_breeding_colony_partly_modelized_by_photogrammetry/25836142/2 DOI: 10.6084/m9.figshare.25836142
Table of the size and roughness of the nests and edges measured on the 3D model	This paper, Figshare data	https://figshare.com/articles/dataset/A_picarel_i_Spicara_i_i_smaris_i_breeding_colony_partly_modelized_by_photogrammetry/25836142/2 DOI: 10.6084/m9.figshare.25836142
Table with the coordinates of the transects where breeding colonies (guarded nests or empty nests) were detected, the associated underwater habitat and a photo extracted from the towed camera for each.	This paper, Figshare	https://figshare.com/articles/dataset/Detection_of_i_Spicara_smaris_i_breeding_colonies_by_a_towed_camera/25990939 DOI: 10.6084/m9.figshare.25990939
Chlorophyl a (mg.m ⁻³) in surface, spatial resolution: 0.042 degree	Nasa	https://oceancolor.gsfc.nasa.gov/
Turbidity (m ⁻¹): diffuse attenuation coefficient of light at 490 nm (Kd490) in surface, spatial resolution: 0.01 degree	Copernicus	https://cds.climate.copernicus.eu
Bottom temperature (°C), spatial resolution: 1.2 km	Ifremer	https://marc.ifremer.fr/
Bottom salinity (psu), spatial resolution: 1.2 km	Ifremer	https://marc.ifremer.fr/
Bathymetry	SHOM	https://data.shom.fr/
Software and algorithms		

SonarPro version 14.0	L-3 Klein	https://www.klein.com/product/sonarpro-software-package
SonarWiz 5	Chesapeake Technology	https://chesapeaketech.com/products/sonarwiz-sidescan/
VLC Media player (3.0.18 Vetinari) QuickTime Player (10.5)	VideoLAN	https://www.videolan.org/vlc/
ArcGIS 10.6	ESRI	https://www.esrifrance.fr/produits/arcgis.aspx
QGIS 3.32.2-Lima	QGIS Association	https://www.qgis.org/fr/site/
Agisoft Metashape Professional Version v1.8.4	Agisoft	https://www.agisoft.com/
CloudCompare v2.13	CloudCompare	https://www.cloudcompare.org/
The Python Library Reference	van Rossum 2023 ⁹²²	
RStudio Version 2023.06.2+561		https://posit.co/download/rstudio-desktop/
R library	ggplot 2	https://www.rdocumentation.org/packages/ggplot2/versions/3.4.3/
	Dunn	https://www.rdocumentation.org/packages/dunn.test/versions/1.3.5/topics/dunn.test
	Devtools	https://www.rdocumentation.org/packages/devtools/versions/2.4.5/
	Tidyr	https://www.rdocumentation.org/packages/tidyr/versions/1.3.0/
	Dplyr	https://rdocumentation.org/packages/dplyr/versions/1.0.10
	Lubridate	https://rdocumentation.org/packages/lubridate/versions/1.9.3

Table S1: Key resource table, related to Figure 1
Summary of data produced, and data, software and algorithms used with access path. Related to Figure 1.

Supplemental experimental procedures

***RESOURCE AVAILABILITY**

- Lead contact

Further information and requests data relating to this paper should be directed to and will be fulfilled by the lead contact, Julie Deter (julie.deter@andromede-ocean.com).

- Materials availability

This study did not generate any new reagents.

- Data and code availability

The 3D model that can be used for measurements, the table with the size and roughness measures used in this study and two short videos (best of) created with images from underwater remote camera have been deposited at Figshare and are publicly available as of the date of publication. DOIs are listed in Table S1.

The side-scan sonar images reported in this study cannot be deposited in a public repository because of the enormous number of bytes it represents. To request access, contact the lead contact or Andromède océanologie (contact@andromede-ocean.com) and explain/localize your need.

The images from the towed camera and underwater remote camera data reported in this study cannot be deposited in a public repository because of the enormous number of bytes (1.8 To) it represents with mostly empty pictures. It will be shared by the lead contact upon request.

Two “best of” are publicly available on Figshare; DOIs are listed in Table S1. In addition, a table summarizing the coordinates of the breeding areas (with active or empty nests) detected by towed cameras (a picture is given for each) and the associated seabed habitat is publicly available on Figshare. DOIs are listed in Table S1.

This paper analyzes existing, publicly available data. These accession numbers for the datasets are listed in Table S1.

This paper does not report original code.

Additional information required to reanalyze the data reported in this paper is available from the lead contact upon request.

***EXPERIMENTAL MODEL AND SUBJECT DETAILS**

- Animals

The picarel *Spicara smaris* (Linnaeus, 1758) is the primary focus of the study. First images of the nests were collected with a GoPro® Hero 7 black camera hooked up to a prototype waterproof pump filtering water and towed from the catamaran Zembra along the eastern coast of Corsica (France) in the Mediterranean sea^{9,10}. No biological samples were collected.

***METHOD DETAILS**

- Research expedition overview

The ANGE project focuses on the common angelshark (*Squatina squatina*) which is threatened with extinction throughout its range according to the IUCN^{9,19} due to a sharp decline in its population. This project aims to i) gain a better understanding of the angelshark’s habitat and the pressures it faces, ii) gain a better understanding of its biology (via tissue and faecal samples) and iii) raise public awareness. Aboard a catamaran (called Zembra), the first part of the project involved towing a peristaltic watertight pump (prototype) filtering water at a depth of -40 m (lower limit of the *Posidonia oceanica* meadows and therefore ecotone between meadow and soft bottom ecosystems) along a 190-km transect divided into 76 sections of 2.5 km. The Mediterranean water samples were then used to extract environmental DNA and detect *Squatina squatina* DNA using a specific genetic barcode^{9,10}. The prototype was coupled to a GoPro® camera to record any observations during transects, enabling identification of the

potential species observed and verification of the habitat (lower limit of the *P. oceanica* meadow). The boat's echosounder and the sonar image of the seabed (see below) were monitored during navigation in order to spot any rocks. The field work took place between 25 April and 6 May 2021 off Cap Corse and the Corsican east coast (Corsica island, France).

- Seafloor imagery and sonar data acquisition

The GoPro camera continuously filmed the towed pump at 2 m above the bottom, with a swath of 1 to 2 m. The track was saved with ArcGIS 10.6. A dual-frequency side-scan sonar (Klein 3900) was towed less than 5 m above the bottom at a speed of about 5 knots. Data were saved (XTF format) using SonarPro and then analyzed using SonarWiz in a WGS84 N,E geographic coordinates. It provides a georeferenced mosaic of the sonar bands, a yellow gradient image, showing the different types of substrates. The side-scan data obtained during collection showed a distinct band of the water column directly beneath the boat, which has been removed and the imagery enhanced. Georeferenced images were analyzed with ArcGIS Desktop v.10.6 et QGIS 3.4. Bathymetry data were taken from SHOM database (<https://www.shom.fr/>). In total 654 ha were surveyed with the side-scan sonar.

- Seafloor fauna qualitative analysis

The images collected using the GoPro were qualitatively assessed for habitat type and the presence or absence of wildlife on all deployments. The presence of breeding colonies with empty or guarded nests was noted.

- 3D modelling of a breeding colony

The acquisition was conducted on 02/05/2021 at Taverne by a scuba diver. He used a 16 MegaPixel Nikon D4 in a waterproof Seacam housing, mounted with a Nikon RS 20 - 35 mm lens (set to 20 mm) and two Seacam lateral strobes. To achieve a sufficient balance between depth of field, sharpness, and exposure, we used the following camera settings: shutter speed = 1/100s, aperture = F11, sensibility = 2500 ISO and strobes = 1/32e. Focus was set automatically at the acquisition, then turned to manual.

Based on the 890 pictures, the model was processed with Agisoft Metashape Professional Version v1.8.4²⁰. This commercial software allows to get through the whole photogrammetric workflow: automatic identification of key points on all photos, bundle adjustment, point cloud densification, mesh building and texturing / orthomosaic production. The following parameters were set for the workflow:

- Bundle adjustment: high quality (original image resolution); key point limit = 60000 (maximum number of feature points detected on every image); no tie point limit (no upper limit for the number of associated tie points between images); generic preselection enabled (first pass using lower accuracy setting prior to the high-quality adjustment, to save processing time);
- Optimization (adjustment of estimated point coordinates and camera parameters minimising the sum of reprojection error): f (focal length), cx - cy (principal point offset), b1 - b2 (affinity and non-orthogonality coefficients), k1 - k2 - k3 - k4 (radial distortion coefficients) and p1-p2 (tangential distortion coefficients);
- Dense cloud: medium quality (i.e. original image size downscaled by a factor 16 (4 times by each side)), depth filtering = "Mild";
- Mesh: medium quality / surface type = arbitrary (any kind of object);
- Orthomosaic: blending mode = "Mosaic", surface = "Mesh", export resolution = 0.003 m.

We used a Windows 10 workstation with the following specifications: 64 bits OS, 128 Gb RAM, 2 x NVIDIA GeForce GTX 1080 Ti 11 Gb, Intel Core i9-7920X 12 CPU 2.9 GHz.

For practical reasons, no scale bar was used during acquisition. The model was then scaled by using male individuals lying on the bottom, that quite consistently sized 20 cm at this stage of development²¹. After production, the model was cleaned at the edges using Metashape editing tools, in order to only include complete and correctly built nests.

- Images (videos and pictures) taken by divers

Between April the 23rd and May the 4th, 2021, at two of the southernmost breeding sites detected, underwater photographer Laurent Ballesta made 22 dives accompanied by three assistants to take videos and photos of angelsharks. They took the opportunity to illustrate the nests, behaviors and species encountered. They were equipped with AP diving® closed-circuit rebreathers, Nikon® cameras, Subspace® waterproof housings and BigBlue® lights.

- Video record (benthic underwater remote cameras) in one breeding colony: Taverne
Two 30cm-high tripods each supporting an enclosure with 2 cameras (GoPro® Hero 5 black recording in opposite directions were set up by divers at the site called Taverne (-49 m) on May 2, 2021 at 06:20. Each of the four cameras recorded high-definition videos (1920*1080 pixels, 30 fps) until 20:30, i.e. for 11 hours 12 minutes of daylight. The videos were analyzed by a single expert (A. Baroil) in order to describe the behavior of *S. smarís* and identify other associated species.

With regard to behaviors, for each of the four cameras, a single male individual close to the camera was monitored for the duration of the recording and its behavior was classified into four categories throughout the recording:

-Nest defence: when the male is close to the nest to be guarded, including fighting other males trying to eat its eggs.

-Maintenance: when the male moves sediments (here rhodoliths) with his mouth or caudal fin, pushes away a holothurian (Holothuroidea) or a *Codium bursa* to prevent it from entering the nest.

-Courtship: when a female is in the nest, or when the male swims up the water column to get closer to the females swimming well above the nest (>1m).

-NA: in the event of lens obstruction, when it is not possible to observe the male, for example a *Zeus faber* positioned against the camera (presumably to look at its own reflection) The mean time spent by the four males monitored for each category was calculated.

- Environmental parameter assessment

Water temperature measured by a Vyper Suunto® dive computer was noted by divers. Environmental conditions were extracted from models from NASA, Copernicus and Ifremer (see Key Resource Table). Average values for each descriptor were calculated on sonar surveyed areas, inside and outside nest areas. The values were averaged over the two months of survey of the nests (April and May 2021). For chlorophyll a and turbidity, model data were insufficient due to cloud cover over this period, and the entire year was then used.

*QUANTIFICATION AND STATISTICAL ANALYSIS

We used Metashape basic tools for analysing the 3D model, notably for measuring the total surface area and total number of nests (by pointing each nest with a marker), in order to assess the nest density (nests / m²). We then selected ten nests and surrounding edges across the model to measure the following parameters with custom Python functions (Python 3.8.11⁹²²²):

- Nest diameter;
- Width of the edge between two nests;
- Height of the edge;
- Roughness of the nest (expressed as the ratio 3D / 2D surface area);
- Roughness of the edges.

Roughness values were measured with a Python script that allowed for each of the ten nests (respectively each of the ten edges):

- Use the drawn shape to clip the model during model export;
- Import clipped model;
- Remove small artefacts (< 0.5 x total number of model faces);
- Measure shape 2D surface area;

- Measure model 3D surface area;
- Compute roughness = 3D / 2D surface area.

Finally, we used CloudCompare v2.13²² to compute the roughness over the whole model, with a radius of 0.1m : for a given 3D point, the roughness corresponds to the dispersion over a flat plane fitted in the 3D cloud made of points < 0.1m around this point).

The total number of nests in the study area was estimated by multiplying the density calculated from the 3D model and the areas covered by side-scan sonar.

Supplemental results and discussion

Localization and extent of the breeding colonies. In May 2021, fifteen picarel breeding colonies (Figure S1) were fortuitously discovered during an extensive field survey (190 km transect off the Corsican coast divided into 76 2.5 km sections) focusing on the critically endangered angel sharks *Squatina spp*⁵¹ in their French refuge. Two of these picarel breeding colonies (the most northerly) were located in a marine protected area (Parc Naturel Marin du Cap Corse et de l'Agriate). This part of Corsica is known for its very large and well-preserved *Posidonia oceanica* meadows⁵² and its relatively low fishing effort (compared with the mainland)⁵³.

Environmental conditions. Bottom water temperature in the breeding colony area was measured by divers at 15 °C. In 2021 (late April, early May), satellite imagery gave fairly similar environmental parameter values inside (bottom temperature: 18.1 °C; bottom salinity: 38.1 psu; Chla: 0.240 mg.m⁻³; turbidity: 0.0396 m⁻¹) and outside (bottom temperature: 18.4 °C; bottom salinity: 38.1 psu; Chla: 0.239 mg.m⁻³; turbidity: 0.0404 m⁻¹) the breeding areas on sonar surveyed zones, although they differed from the bottom measurements taken by the divers' instruments. In 2010 (early June), sea temperature was 18°C at the surface and 16°C at the bottom when several dozen nests were observed near Cap Martin (south-east of France) between 48 and 55 m deep⁵⁴.

Nest characteristics. Photogrammetry showed that the diameter of the sub-circular nest varied between 0.46 and 0.68 m. Built on rhodolith beds, these nests ranged in height from 1.39 to 7.67 cm (mean 3.84 cm). Roughness was lower inside the nest (1.02 ±0.01) than at the edges (1.18 ±0.03) (t-test, p < 0.001); this difference was entirely due to the activity of the males. Using the model covering a 2D and 3D surface area of 497 m² and 556 m², respectively, we counted a total of 1303 nests, corresponding to a nest density of 2.6 nests / m². All nests were contiguous.

In the acoustic data collected, nest delineation was evident in the backscatter signals received up to 100 m either side of the 3900 Klein sidescan sonar (see Figure S1), indicating that the edges of each nest present a strongly reflective acoustic surface. Approaching the boundary of breeding colonies, the nest density suddenly drops to zero with no progressive spatial decline in nest occupancy. No environmental differences were detected, except for depth. Most of the breeding areas (98%) we detected were no longer active (Figure S1) and the nests were empty. Such empty hexagonal patterns had already been observed by underwater video in Corsica at a depth of 60 m, but had been assumed to be of sedimentary origin⁵⁵.

Each active nest contained thousands of 0.5-mm eggs guarded by a male displaying his large dorsal fin. These observations are consistent with the literature⁵⁶ which reports that a female *S. smaris* produces (depending on its size) between 2,000 and 12,000 0.5-mm eggs with 3 to 5 cohorts of 336 eggs laid every two to four days. As all the eggs in the nests appeared to be at the same stage of development, it is likely that the females lay eggs in different nests^{57,58}. Incubation time observed for eggs captured trawl-caught fish eggs and incubated in aquaria ranged between two to five days⁵⁹. At the end of the incubation period, the males lost their coloration, grouped together in large schools and moved to feeding places^{57,60}. Four weeks

after our observation (early June), the nests were no longer visible, confirming the ephemeral nature of these constructions.

Paternal care and collective defense. Paternal care is very rare in marine fish (16% of families) compared to freshwater fish families⁹¹¹ due to the lower environmental stochasticity in oceans and seas⁹¹² (where the risk of eggs being swept away to unfavourable environments is lower). The combination of protogyny, nest-building and parental care is only known in three closely related Spicara species⁹¹³ (*S. smaris* (Linnaeus, 1758), *S. maena* (Linnaeus, 1758), *S. flexuosum* (Rafinesque, 1810) and two *Spondyliosoma* species (*Spondyliosoma emarginatum* (Valenciennes, 1830) and *Spondyliosoma cantharus* (Linnaeus, 1758)) among the 36 genera of seabream (family Sparidae) and is extremely rare among fishes in general⁹¹⁴. Moreover, a recent review indicates that only 5% of protogynous species have adapted to temperate environments⁹¹⁵. As with *S. emarginatum* and many wrasses of the genus *Symphodus*, Protogyny has the advantage that larger males are more efficient in nest construction, maintenance, and guarding^{914,916}. Unlike wrasse species with longer reproductive periods are longer, we did not observe alternative reproductive behaviors (nesting, satellites, sneakers and non-reproductives) in males⁹¹⁷. Contrary to what has been observed in Antarctica with the notothenioid icefish *Neopagetopsis ionah*, which aggregates on similar (albeit even larger) breeding colonies, no fish carcasses were seen here⁹¹⁸.

Additional resources

The 3D model of a portion (497 m²) of the breeding colony at Taverne (see Figure S1B) can be viewed here: www.andromede-ocean3d.com/SPICARA/2021/Taverne/App

More videos about the scientific expedition for the general public can be viewed on the Gombessa expeditions youtube channel: <https://www.youtube.com/playlist?list=PLpoDlhxsIxPONBZMsk3vNwXFomncuA7sY>

A subtitled translation can easily be added thanks to youtube's functionalities.

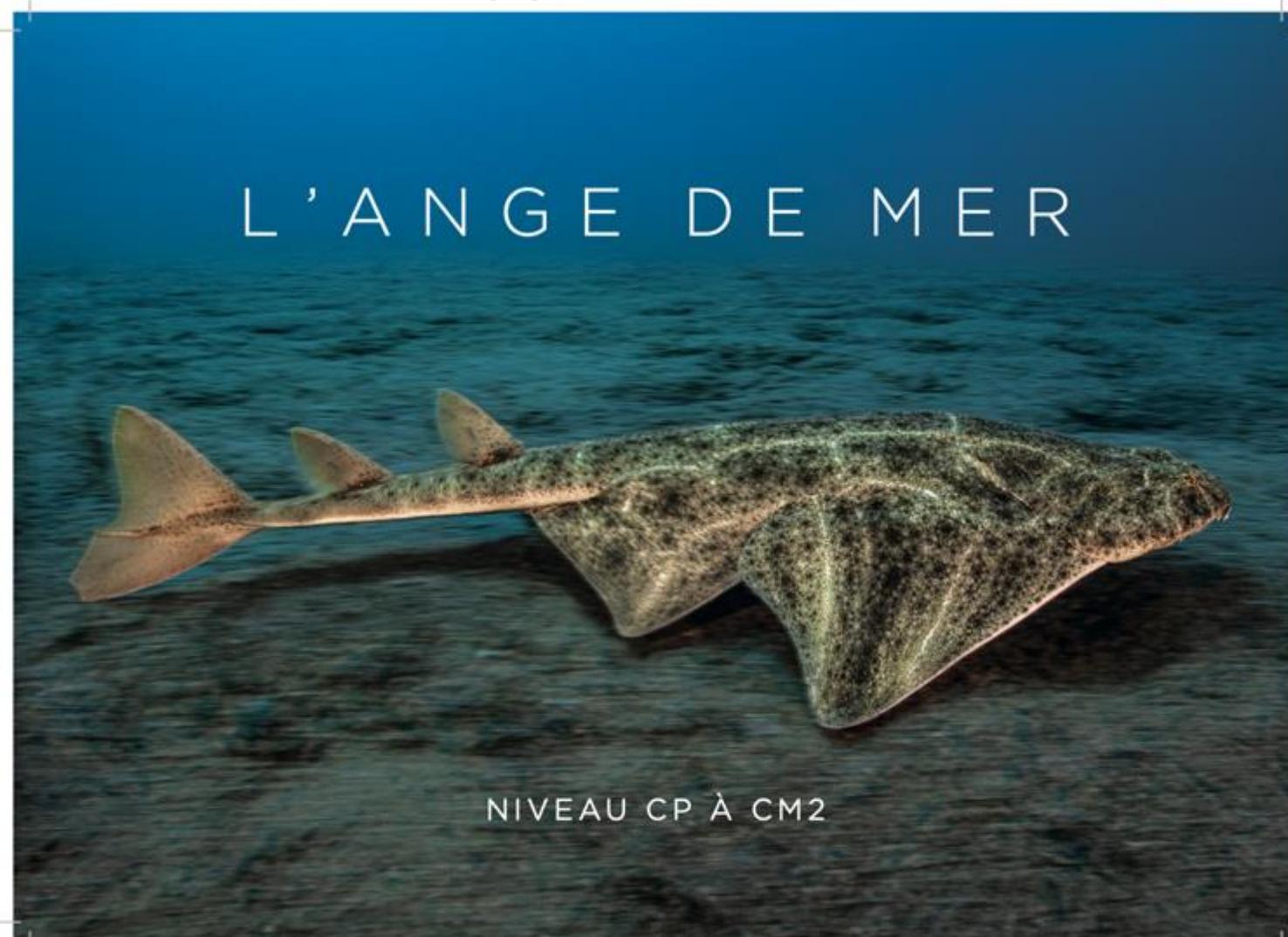
Supplemental references

- S1. Faure, N., Manel, S., Macé, B., Arnal, V., Guellati, N., Holon, F., Barroil, A., Pichot, F., Riutort, J., Insacco, G., et al. (2023). An environmental DNA assay for the detection of Critically Endangered angel sharks (*Squatina* spp.). *Aquatic Conservation* 33, 1088–1097. <https://doi.org/10.1002/aqc.3954>.
- S2. Monnier, B., Pergent, G., Mateo, M.Á., Carbonell, R., Clabaut, P., and Pergent-Martini, C. (2021). Sizing the carbon sink associated with *Posidonia oceanica* seagrass meadows using very high-resolution seismic reflection imaging. *Marine Environmental Research* 170, 105415. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2021.105415>.
- S3. Ferrà, C., Tassetti, A.N., Grati, F., Pellini, G., Polidori, P., Scarcella, G., and Fabi, G. (2018). Mapping change in bottom trawling activity in the Mediterranean Sea through AIS data. *Marine Policy* 94, 275–281. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.12.013>.
- S4. ANDROMEDE OCEANOLOGIE (2011). Inventaires biologiques et analyse écologique des habitats marins patrimoniaux du site Natura 2000 « Cap Martin FR 9301995. (Contrat ANDROMEDE OCEANOLOGIE / AGENCE DES AIRES MARINES PROTEGEES.).
- S5. Pluquet, F. (2006). Évolution récente et sédimentation des plates-formes continentales de la Corse.
- S6. Aral, O., and Bircan, R. (1997). Some Population and Reproduction Characteristic of Picarel (*Spicara smaris* L., 1758) in the Bay of Sinop. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences* 21, 277–282. <https://doi.org/10.55730/1300-0128.4034>.

- S7. Karliou-Riga, C., Petza, D., Charitonidou, K., Anastopoulos, P., Koulmpaloglou, D.-S., and Ganiias, K. (2020). Ovarian dynamics in picarel (*Spicara smaris*, L., Sparidae) and implications for batch fecundity and spawning interval estimation. *Journal of Sea Research* 160–161.
- S8. Wacquart, C., and Lamare, V. (2021). *Spicara smaris* (Linnaeus, 1758). Doris. <https://doris.ffessm.fr/ref/specie/3117>.
- S9. Salekhova, L.-P. (1969). The spawning and spawning grounds of *Spicara smaris* (L.). *American Fish Society* 9, 136–139.
- S10. Froese, R., and Pauly, D. (2023). FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org.
- S11. Blumer, L.S. (1982). A bibliography and categorization of bony fishes exhibiting parental care. *Zoological Journal of the Linnean Society* 75, 1–22. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1982.tb01939.x>.
- S12. Baylis, J.R. (1981). The evolution of parental care in fishes, with reference to Darwin's rule of male sexual selection. *Environmental Biology of Fishes* 6, 223–251.
- S13. Şalcioğlu, A., Gubili, C., Krey, G., Sakinan, S., and Bilgin, R. (2021). Molecular characterization and phylogeography of Mediterranean picarels (*Spicara flexuosa*, *S. maena* and *S. smaris*) along the coasts of Turkey and the Eastern Mediterranean. *Regional Studies in Marine Science* 45.
- S14. Faure-Beaulieu, N., and Attwood, C.G. (2022). Remote video analysis of an unusual fish life-history combination: nest-building, paternal care, and protogyny in a seabream. *Environ Biol Fish* 105, 933–951. <https://doi.org/10.1007/s10641-022-01303-y>.
- S15. Pla, S., Maynou, F., and Piferrer, F. (2021). Hermaphroditism in fish: incidence, distribution and associations with abiotic environmental factors. *Rev Fish Biol Fisheries* 31, 935–955. <https://doi.org/10.1007/s11160-021-09681-9>.
- S16. Lejeune, P. (1984). Etude écoéthologique des comportements reproducteur et sociaux des labridés méditerranéens des genres *Symphodus* Rafinesque, 1810 et *Coris Lacépède*, 1802.
- S17. Alonzo, S.H., Taborsky, M., and Wirtz, P. (2000). Male alternative reproductive behaviours in a Mediterranean wrasse, *Symphodus ocellatus*: Evidence from otoliths for multiple life-history pathways. *Evolutionary Ecology Research* 2, 997–1007.
- S18. Purser, A., Hehemann, L., Boehringer, L., Tippenhauer, S., Wege, M., Bomemann, H., Pineda-Metz, S.E.A., Flintrop, C.M., Koch, F., Hellmer, H.H., et al. (2022). A vast icefish breeding colony discovered in the Antarctic. *Current Biology* 32, 842-850.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.12.022>.
- S19. IUCN (2017). *Squatina squatina*: Morey, G, Barker, J., Hood, A., Gordon, C., Bartolí, A., Meyers, E.K.M., Ellis, J., Sharp, R., Jimenez-Alvarado, D. & Pollom, R.: The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e.T39332A117498371. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-1.RLTS.T39332A117498371.en>
<https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-1.RLTS.T39332A117498371.en>.
- S20. Agisoft (2022). Agisoft Metashape User Manual - Professional Edition. Version Version 1.8.

- S21. Tsangridis, A., and Filippousis, N. (1992). Growth pattern of picarel, *Spicara smaris* (L.) (Centrarchidae), a protogynous species. *Cybium* 16, 233–243.
- S22. van Rossum, G. (2023). *The Python Library Reference*.
- S23. CloudCompare (2012). *CloudCompare User's Manual for version 2.1*.

ANNEXE 13 : Livret pédagogique du CP au CM2



SOMMAIRE

L'espèce	1
Le camouflage	3
Un requin ou une raie ?	4
La reproduction	6
L'alimentation	8
Le lieu et le mode de vie	10
Les menaces	13
La conservation de l'espèce	15
La mission scientifique (projet ANGE)	16
Les solutions aux jeux	25

Livret réalisé par Sylvie Jaumes et Julie Deter (Andromède Océanologie)
avec la contribution de Mila Trotier, Théo Granier, Chloé Merrien
et de Alice Villeneuve (étudiants en Master 2 GE Aquadura et IEGB)
Dessins : © Aline Faure
Photos : © Laurent Ballesta
Graphisme : mine de rien

© Andromède Océanologie - 2022

Bonjour, je suis ANGE,
un ange de mer commun.
Je vis en Corse et de nombreux
scientifiques s'intéressent à moi
depuis quelques années.
Suivez-moi et je vous expliquerai
qui je suis et ce que ces scientifiques
ont découvert...



Découvre le nom scientifique en latin de l'ange de mer commun grâce au code secret !



S [] [] [] T I [] []



[] Q U [] [] [] N A

Le nom d'ange de mer lui vient de ses deux grandes nageoires pectorales sur les côtés du corps qui ressemblent à des ailes d'ange.



Sais-tu qu'il existe une plage à Nice qui porte mon nom ?
La baie des Anges



À ton avis, pourquoi cette plage s'appelle la baie des Anges ?

- a) Parce qu'elle a une forme d'ange
- b) Parce qu'autrefois on pouvait y voir des anges de mer
- c) Parce qu'il y a eu beaucoup de naufrages
- d) Parce que tous les habitants autour sont très gentils



LE CAMOUFLAGE



Mon apparence peut parfois interroger les scientifiques. Ils ont du mal à m'observer à cause de mon camouflage et c'est vrai que je suis un requin mais que je ressemble beaucoup à une raie ! À ton avis, à quoi peut me servir cette allure ?

L'ange de mer est une espèce très discrète et mystérieuse... En effet, il vit sur les fonds marins et se trouve presque invisible grâce à ses motifs et sa couleur identique à celle du sable.

Ce camouflage permet à l'ange de mer de se cacher pour attraper ses proies par surprise quand elles passent près de lui, c'est un chasseur embusqué !

Son camouflage lui permet aussi de se protéger des prédateurs et d'être difficilement observable par les scientifiques !

Si tu me vois, entoure-moi !



UN REQUIN OU UNE RAIE ?

Avec sa forme plate, on pourrait croire que l'ange de mer est une raie... mais non !
C'est un requin car :

- ses nageoires pectorales (situées sur les côtés) ne sont pas directement reliées à sa tête,
- sa bouche se trouve au bout de la tête,
- ses branchies qui lui permettent de respirer sous l'eau sont sur les côtés de la tête.



Par exemple sur ces deux images tu peux voir que la tête et les nageoires pectorales de l'ange de mer commun ne sont pas soudées , sa bouche est au bout de sa tête , ses branchies sont sur les côtés de sa tête  (bien que peu visibles à cause de la couleur de son camouflage).



Voici ici l'exemple d'une raie pastenague violette : il n'y a pas de séparation entre sa tête et ses nageoires pectorales , sa bouche est en position ventrale  et ses branchies également .

Maintenant à toi de jouer ! Peux-tu différencier les raies et les requins sur les images ci-dessous ?

Pour t'aider, tu peux entourer en rouge la bouche, en bleu les branchies et en vert les nageoires pectorales comme sur les exemples précédents. Si tu localises ces trois points, tu pourras les analyser et faire la différence entre une raie et un requin !



Raie Requin



Raies Requins



Raies Requins



Raie Requin

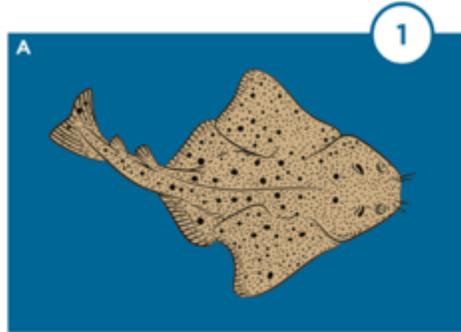


Raie Requin

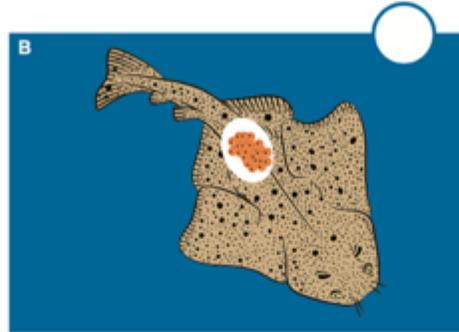


Raie Requin

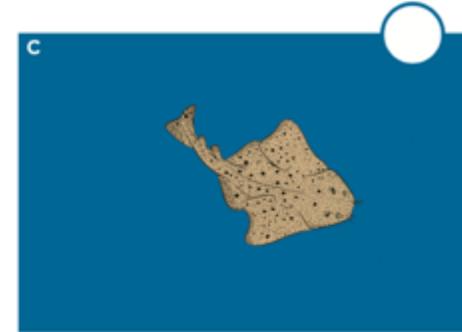
Numérote les images ci-dessous de 1 à 6 pour remettre le cycle de reproduction de l'ange de mer dans le bon ordre.



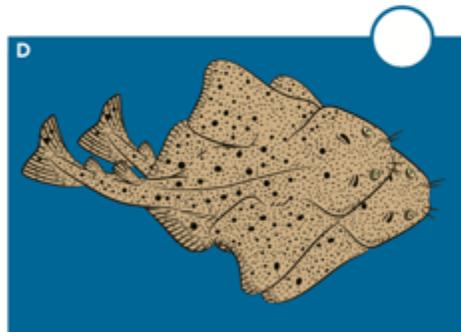
Ange de mer adulte.



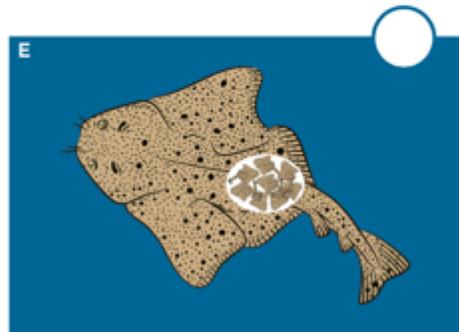
La mère ange de mer porte les œufs et mettra bas dans 8 à 10 mois.



Ange de mer juvénile.



L'ange de mer mâle féconde la femelle grâce à un de ses deux ptérygopodes.



C'est la fin de la gestation. Les œufs sont maintenant des bébés bien formés et prêts à naître.



Les anges de mer sont sortis du ventre de leur mère et mesurent 25 cm. Ils sont prêts à découvrir le monde.

L'ALIMENTATION

L'ange de mer est un prédateur : il chasse des proies vivantes pour se nourrir. Ses proies principales sont des poissons, des raies, des mollusques (calmars et escargots) et des crustacés (crabes, crevettes).

Retrouve les proies des anges de mer. Attention aux intrus !
Entoure les vraies proies des anges de mer en vert et les intrus en rouge.



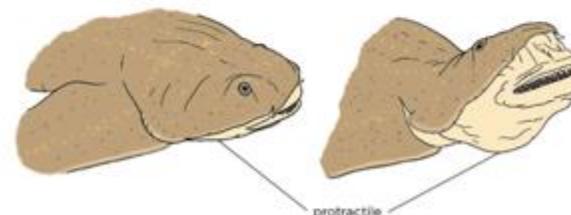
Je suis un super chasseur !
Mais sais-tu ce que j'aime manger ?



Le savais-tu ? Lors de l'attaque, l'ange de mer projette sa mâchoire en avant (mâchoire protractile) pour attraper ses proies. Beaucoup d'autres poissons ont cette faculté comme le Saint-Pierre par exemple.

Au repos

Lorsqu'il se nourrit



Mâchoire protractile
du requin ange de mer

L'ange de mer est un très bon chasseur, il a des dents en forme de triangle, plus fines au bout et orientées vers l'arrière, ce qui permet d'empêcher la fuite de sa proie.

Il possède, comme les autres requins, des rangées de dents qui se remplacent à la manière d'un tapis roulant lorsqu'elles s'abiment ou tombent.

Il a ainsi toujours une dentition parfaite et optimale pour capturer les proies en mouvement.



Mâchoire de requin ange de mer



Bien que les anges de mer aient beaucoup de dents...



... elles tombent parfois...



... et repoussent naturellement !

Redessine-moi une mâchoire !

LE LIEU ET LE MODE DE VIE

Je suis un ange de mer, un requin qui passe sa vie au bord des côtes, posé sur le fond. Tu peux me retrouver entre 5 et 150 mètres de profondeur, sur des fonds de sable, de vase ou d'herbier marin (= grandes prairies sous-marines).



Lis les lignes suivantes pour en apprendre plus sur mon habitat.



Connais-tu les posidonies ?

Les posidonies sont des herbes qui forment de grandes prairies sous-marines, qui poussent en Méditerranée. Ces prairies, aussi appelées herbiers de posidonie, protègent le littoral des tempêtes grâce à leurs racines et rhizomes (tiges rampantes) qui maintiennent le sable. Ces herbiers sont également un lieu de vie, de ponte ou d'alimentation pour beaucoup d'espèces. La posidonie est une espèce fragile et en danger qui est protégée dans plusieurs pays. Actuellement, ces prairies sont souvent endommagées voire détruites par les activités humaines et mettent beaucoup de temps à repousser (quelques centimètres par an). Afin d'éviter cela, des recommandations et bonnes pratiques sont proposées pour éviter par exemple la destruction par les ancres de bateaux. Il faut donc éviter de jeter l'ancre de son bateau dans l'herbier en consultant les cartes disponibles.



Herbier de posidonie sur roches

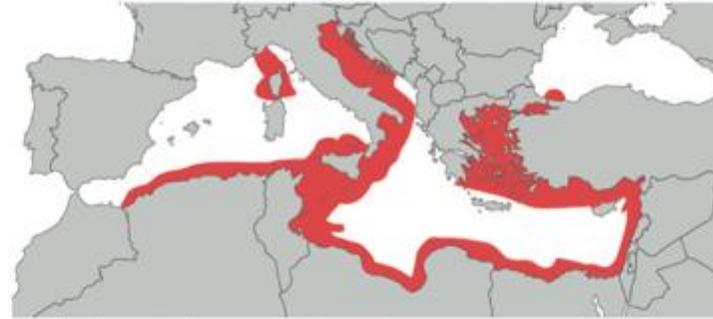


Herbier de posidonie sur sable, dégradé par des ancres

L'ange de mer est un requin qui vit dans l'eau salée (mer) mais qui peut aussi fréquenter les eaux saumâtres (lagunes) ou les estuaires (lieu où un fleuve se jette dans la mer).

L'ange de mer était autrefois répandu dans les eaux tempérées (ni très froides, ni très chaudes), mais il a presque disparu de toute sa zone de vie. Actuellement, on le retrouve uniquement sur certaines côtes de la mer Méditerranée, en Irlande et aux Canaries (îles au large de l'Afrique du nord-ouest).

En France, il a disparu de toutes les côtes sauf de la Corse ... mais on ne sait pas combien il en reste.



Distribution actuelle connue de l'ange de mer

Relie chaque photo à son nom d'habitat :



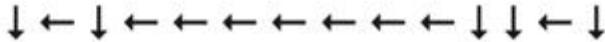
- 1) des fonds sableux
- 2) des récifs coralliens tropicaux
- 3) des mangroves
- 4) des prairies sous-marines
- 5) sous la banquise



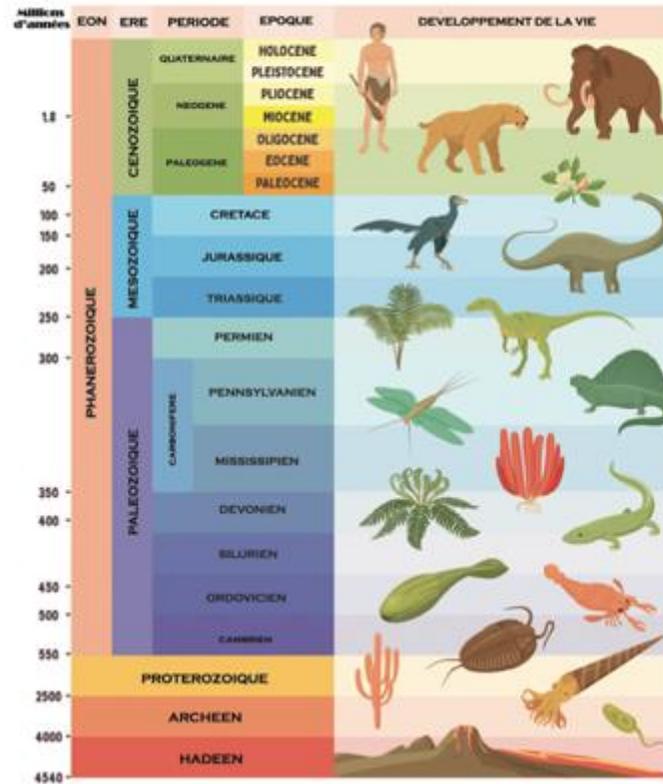
Une fois chaque photo associée au bon habitat, entoure les photos qui correspondent aux lieux de vie des anges de mer !

Maintenant à toi de trouver le chemin à parcourir pour aller de Marseille aux Canaries :

Colorie les carrés correspondant au chemin que t'indiquent les flèches en partant du carré rouge déjà présent ! Suis l'ordre des flèches suivantes :



Puis colorie en vert l'arrivée (les quatre cases où se situent les îles Canaries).



Apparus il y a 50 millions d'années (soit bien avant les humains et bien après les dinosaures), les requins ont peuplé tous les océans du monde. Actuellement, ils sont quasi tous menacés par les activités humaines, les pollutions et les dégradations de leurs habitats. Le nombre de requins diminue depuis 60 ans et continue de décliner aujourd'hui dans les mers et océans.

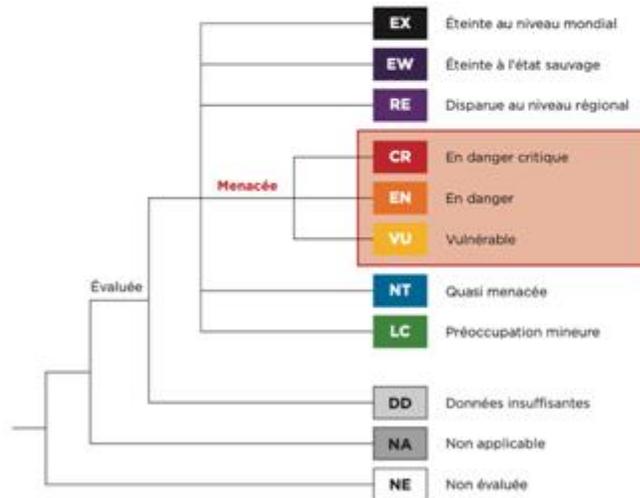
Remplace la date d'apparition des requins au bon endroit !

LES MENACES

Une espèce en Danger Critique d'extinction

Afin de mieux protéger les êtres vivants, l'UICN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature) a créé une liste rouge des espèces les plus menacées, et l'ange de mer en fait partie !

Une espèce "en danger critique d'extinction" est une espèce qui peut disparaître rapidement de la Terre. L'UICN utilise plusieurs critères pour dire qu'une espèce est "en danger critique d'extinction". Par exemple, il faut que le nombre d'individus de l'espèce présents dans le monde ait diminué et qu'on les retrouve dans peu d'endroits. En mer Méditerranée française, l'abondance de l'ange de mer a fortement diminué et on ne le retrouve plus qu'en Corse !



Présentation des catégories de l'UICN utilisées à une échelle régionale (d'après le Guide régional 2012 de l'UICN)



Connais-tu le statut IUCN de ces animaux ?
Coche la case qui correspond
(tu peux chercher sur internet !)



1 - Phoque de Weddell

Éteint		Espèce menacée			Préoccupation mineure	
EX	EW	CR	EN	VU	NT	LC
<input type="checkbox"/>						



2 - Ange de mer

Éteint		Espèce menacée			Préoccupation mineure	
EX	EW	CR	EN	VU	NT	LC
<input type="checkbox"/>						



3 - Requin peau bleue

Éteint		Espèce menacée			Préoccupation mineure	
EX	EW	CR	EN	VU	NT	LC
<input type="checkbox"/>						



4 - Raie torpille ocellée

Éteint		Espèce menacée			Préoccupation mineure	
EX	EW	CR	EN	VU	NT	LC
<input type="checkbox"/>						

Pourquoi l'ange de mer disparaît-il ?

La **pêche** est l'une des principales menaces pour les anges de mer. En effet, cachés sur le fond marin, ils se font facilement attraper par les bateaux qui pêchent en profondeur. La mortalité due aux captures par les engins de pêche est une des raisons de la disparition des anges de mer en Méditerranée. De plus, les filets de pêche abiment souvent les fonds marins lors de leur passage et le lieu de vie des anges de mer est alors détruit.

Le **changement climatique** et les **pollutions** sont aussi des menaces pour les anges de mer.

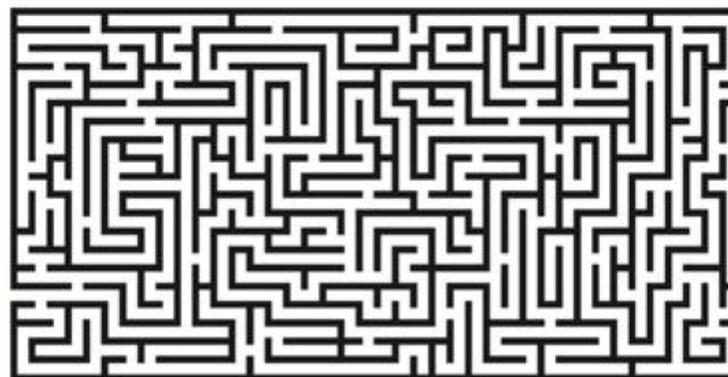


MÉLI-MÉLO DE MOTS

R	A	D	G	T	R	P	H	D	M	A
L	N	S	F	J	L	S	S	P	C	U
D	P	E	C	H	E	F	A	V	H	J
L	T	C	C	A	P	T	U	R	E	F
I	S	H	B	M	E	N	F	N	P	S
U	P	O	L	L	U	T	I	O	N	D
E	C	I	M	H	L	A	J	E	R	Y
C	T	P	V	D	F	C	H	O	B	C
H	E	F	I	L	E	T	S	P	S	O
S	N	A	P	B	F	B	D	B	T	A
D	E	S	T	R	U	C	T	I	O	N



Aide l'ange de mer à traverser le labyrinthe pour échapper à l'engin de pêche !



Retrouve les dangers qui menacent l'ange de mer
Mots à trouver : pollution, pêche, filets, destruction, capture

LA CONSERVATION DE L'ESPÈCE

Sais-tu qu'il existe des solutions pour m'aider à survivre ?



Comment éviter la disparition de l'ange de mer ?

Tout d'abord, il y a des lois qui sont écrites pour dire aux pêcheurs ce qu'ils ont le droit de faire ou non. Par exemple, en France, les pêcheurs doivent remettre à l'eau tous les anges de mer s'ils en attrapent. On peut aussi créer des zones de protection où toute pêche serait interdite (réserve marine intégrale) ou bien où certaines techniques de pêche seraient interdites (les plus destructrices pour le milieu et/ou l'espèce) ou encore interdire des périodes de pêche (reproduction).

Pour mieux protéger l'espèce, il est aussi important de continuer à l'étudier pour savoir où elle vit exactement, comment elle se déplace ou encore ce qu'elle mange en fonction de la saison.

Enfin, sensibiliser les pêcheurs et le public aux menaces qui pèsent sur cette espèce est indispensable.

Aujourd'hui il existe en Méditerranée un plan d'action pour protéger les anges de mer et leur habitat. Les principaux objectifs de ce plan d'action sont de diminuer la mortalité des anges de mer à la suite des captures, identifier leurs habitats pour les protéger et créer des lois (des règles) valables dans différents pays.



Les Expéditions Gombessa

Les expéditions Gombessa ont pour but de faire découvrir le monde sous-marin en récoltant des images inédites et en essayant de résoudre des énigmes scientifiques. Elles sont menées dans le monde entier, comme par exemple à Fakarava, en Polynésie française, afin d'étudier la reproduction des mérous et la chasse des requins. En 2020, l'expédition Gombessa 6 a porté sur des formes circulaires sous-marines (anneaux coralligènes) ainsi que sur les populations d'anges de mer en Méditerranée française (projet ANGE). L'un des objectifs de l'expédition était d'en apprendre plus sur les anges de mer (habitudes, cycle de vie, régime alimentaire, ...) afin de les préserver.

Gombessa est le nom local d'un poisson d'Afrique du Sud. Il fut le sujet de la première expédition d'Andromède océanologie en 2010.



REBUS

Sauras-tu deviner le nom français de Gombessa ?

RÉPONSE _____



Le projet ANGE



L'ange de mer réside depuis longtemps dans les eaux Corse. C'est principalement depuis 2017 que des pêcheurs signalent sa présence autour de l'île, et qu'il devient alors une préoccupation pour les scientifiques.



En juin 2020, Laurent Ballesta fait les premières photos d'un ange de mer corse dans son milieu naturel. Plus tard, avec son équipe, ils posent des balises sur 4 anges de mer pour suivre leurs déplacements (avec des satellites).

En mai 2021, des scientifiques du projet ANGE naviguent autour du Cap Corse et le long de la côte Est de la Corse pour prélever de l'eau et y rechercher la présence de l'ange de mer commun.



Pour prélever l'eau, les scientifiques utilisent un prototype qu'ils ont conçu : une pompe étanche descendue à 40 mètres de fond. Cette pompe filtre l'eau de mer pour y récupérer l'ADN issu de minuscules morceaux de peau ou d'écailles que l'ange de mer perd sur son passage (méthode de l'ADN environnemental).



Au laboratoire, les techniciens détectent si l'ADN qui a été filtré appartient à l'ange de mer. Les zones de présence de l'animal détectées par cette méthode peuvent ensuite être mieux étudiées (en plongée par exemple)... et peut-être bientôt mieux protégées.

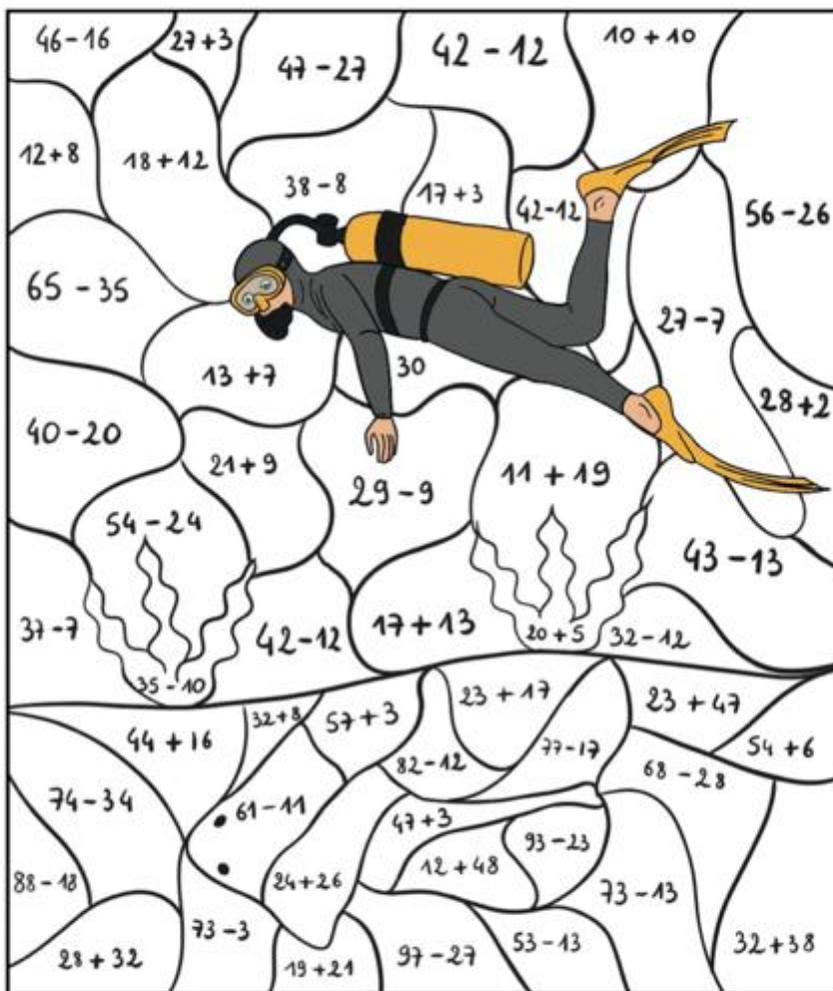
Et si on parlait à ma recherche ?



L'ADN environnemental qu'est-ce que c'est ?

L'ADN environnemental (ADNe) est une technique permettant l'identification d'espèces à partir de l'ADN qu'elles laissent dans leur environnement. L'ADN est une molécule présente dans les cellules. Elle contient toutes les informations nécessaires au bon fonctionnement d'un organisme. La signature ADN d'un organisme est unique mais se ressemble entre individus d'une même famille et d'une même espèce.

Les espèces qui vivent dans un milieu ou le traversent y laissent des traces (ADN) de leur passage. Dans un premier temps, on récupère un échantillon d'eau dans le milieu. Ensuite une machine va analyser l'ADN présent dans cette eau pour y reconnaître ou pas celui de l'ange de mer.



Maintenant à toi de jouer
Réalise les additions et soustractions
de chaque case, puis colorie la couleur
qui correspond !!



Que voient tes yeux ?

RÉPONSE _____

Pour en savoir plus...

<https://angelsarknetwork.com/>
<https://www.asso-ailerons.fr/>
<https://www.asso-apecs.org/>
<https://parc-marin-cap-corse-agriate.fr/>
<https://gombessa-expeditions.com>



Un des derniers refuges pour l'ange de mer commun

L'ange de mer commun (*Squatina squatina*) vit sur des fonds sableux entre 5 et 250 m de profondeur.

C'était une espèce de requin commune des côtes méditerranéennes.

Mais elle a progressivement disparu...

Jusqu'à devenir une espèce rare dans les années 1990.

PRÉSENCE INCERTAINES

Depuis 2006, cette espèce est classée en danger critique d'extinction d'après l'UICN*

Le codage à barres de l'ADN environnemental !

Cette technique s'appuie sur les traces d'ADN laissées par les organismes dans le milieu à travers des débris, du sang ou encore des excréments, par exemple.

C'est pourquoi nous avons décidé d'aller en Corse pour mieux connaître la répartition géographique de cette espèce rare de requin.

Avec une méthode puissante...

C'est une capsule d'échantillonnage

Nous avons donc filtré de l'eau de mer le plus proche possible du fond pour maximiser les chances de récolter de l'ADN d'ange de mer commun dans nos filtres d'échantillonnage.

à travers laquelle 30 L d'eau de mer ont été filtrés en 30 min.

C'est une capsule d'échantillonnage

à travers laquelle 30 L d'eau de mer ont été filtrés en 30 min.

© Aline & Nadia FAUSE

Après des jours de filtration...

Le long de 150 km de côtes sèches.

Le ramasse-épaves

Nous avons obtenu 76 filtres pleins d'ADN !

Nous avons ensuite amené ces échantillons directement au laboratoire d'analyse dans les Alpes

Où les techniciens ont extrait toutes les molécules d'ADN des filtres.

De retour à Montpellier, nous avons analysé les échantillons en laboratoire.

...grâce à de la PCR quantitative (qPCR).

Cette méthode est possible grâce à des marqueurs fluorescents qui se fixent uniquement sur l'ADN d'un type de mer commun.

À travers ces analyses, nous avons détecté 7 sites sur lesquels des angès de mer étaient présents.

Cet ADN, même en faible quantité, est alors repéré grâce à une augmentation de la fluorescence.

Grâce à nos résultats, des mesures de protection pourront être proposées et appliquées sur ces sites.

Particulièrement dans les herbiers de posidonie dont l'état de mer commun dépend.

Ferre et al. (2021) Rapid detection of the critically endangered anguillid (*Leucoma nae*) in Corsica by environmental DNA barcoding. *Biodiversity Conservation*, sous le projet ANR2 dirigé par l'université de Montpellier en partenariat avec l'Agence de l'Eau Rhône Méditerranée Corse, l'Office Français de la Biodiversité, le Parc Naturel Marin Cap-Corse Aglyatz, Anémone Océanologie, l'Etat Préfectoral des Hautes-Côtes et Basse-Côteaux Littoral.

© Aline & Nadia FAUSE

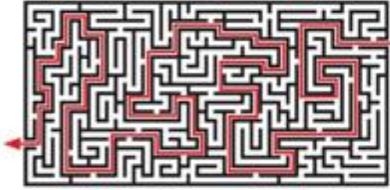


24

LES SOLUTIONS AUX JEUX

H	A	O	T	R	H	O	M	A		
T	N	A	R	F	R	O	T	A		
H	E	K	I	L	E	T	R	S	O	
C	F	H	A	O	F	C	H	O	B	C
R	C	I	M	L	A	J	E	R	V	
U	P	O	L	E	Q	U	I	O	M	
L	S	H	R	M	S	N	F	R	S	
L	I	C	A	P	A	R	A	H	J	
D	R	E	C	H	S	F	A	V	H	
T	N	S	F	A	L	E	S	P	E	U
H	A	O	T	R	H	O	M	A		

Page 14



Page 16

AN-DRO-MED => Andromède océanologie

Page 17

C - LAC - AN - TE => Coelacanthé
(se prononce célacante)

Page 20



Page 6
1 portée par an / 7 petits minimum /
25 petits maximum / 10 mois de gestation
Un ange de mer

Page 7
1A / 2D / 3B / 4E / 5F / 6C

Page 8
Proles : 1, 3, 4 et 6 / Intrus : 2 et 5

Page 9
Tu peux dessiner beaucoup de dents au requin
Ange puisqu'elles repoussent naturellement.

Page 11
1A / 2C / 3E / 4B / 5D

Page 12
1 (fonds sableux), 4 (prairies sous-marines)
Lieux de vie des anges de mer :

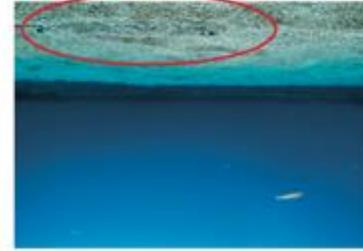


Page 13
Les requins sont apparus il y a 50 millions
d'années. Tu peux donc les placer entre
les dinosaures et l'ancêtre de l'homme

Page 15
1. Préoccupation mineure / 2. En danger critique
3. Quasi menacé / 4. Vulnérable

Page 2
Nom scientifique : *Squatina squatina*
Réponse b (autres fois on pouvait
y voir des anges de mer)

Page 3



Page 5

- 1 - Requin ange de mer
- 2 - Rate guitare
- 3 - Requin tapis tacheté
- 4 - Rate aigle
- 5 - Requin pèlerin
- 6 - Rate manta

LIVRET DÉCOUVERTE
NIVEAU CP À CM2

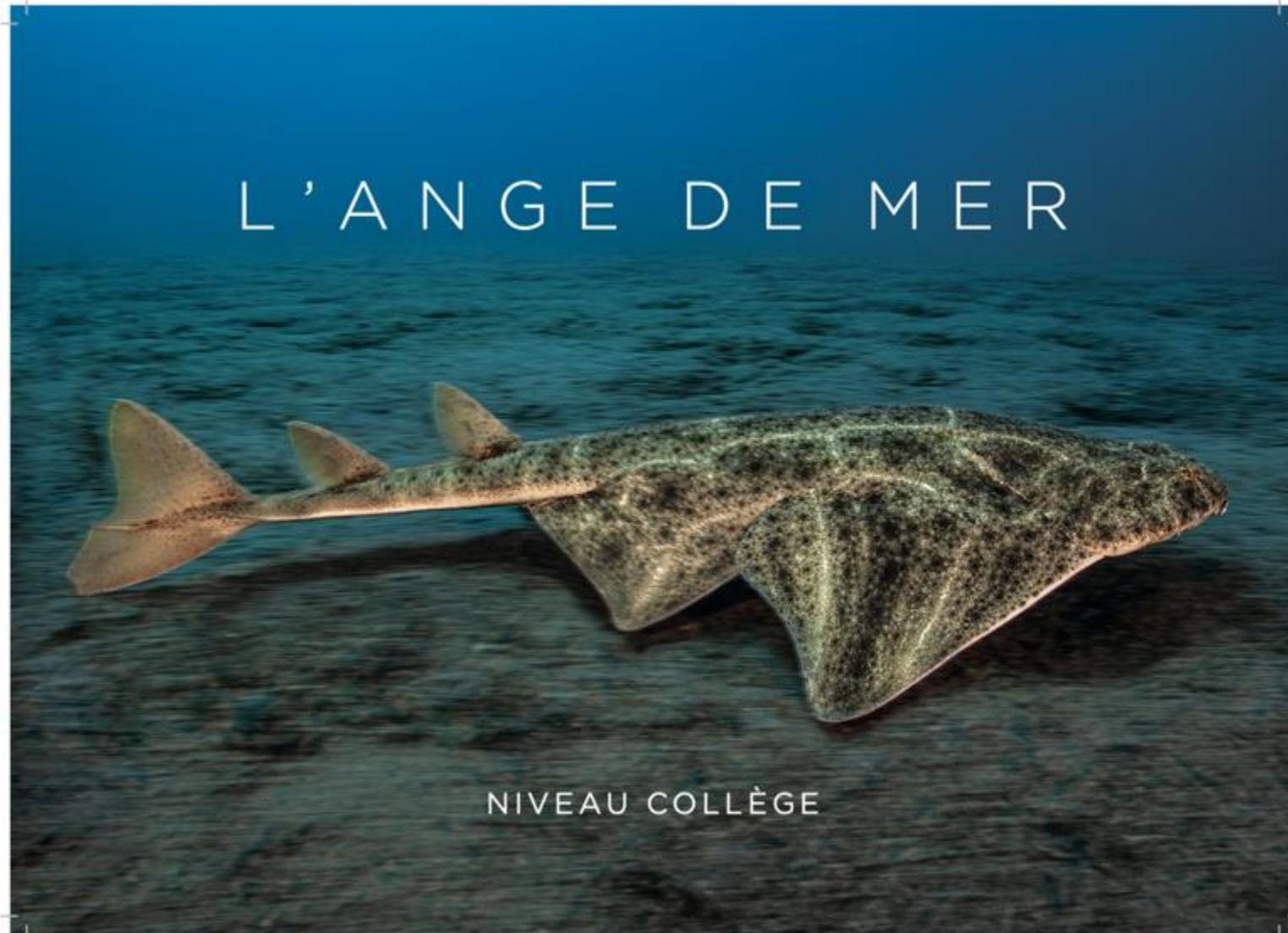
L'ANGE DE MER

CONTACT

@andromede_oceanologie
media@andromede-ocean.com
www.andromede-ocean.com



ANNEXE 14 : Livret pédagogique des niveaux collèges.



SOMMAIRE

L'espèce	1
La reproduction	7
Le régime alimentaire	10
Mode de vie et lieu	11
Les menaces	14
La conservation de l'espèce	16
La mission scientifique (projet ANGE)	18
Les solutions aux exercices	28

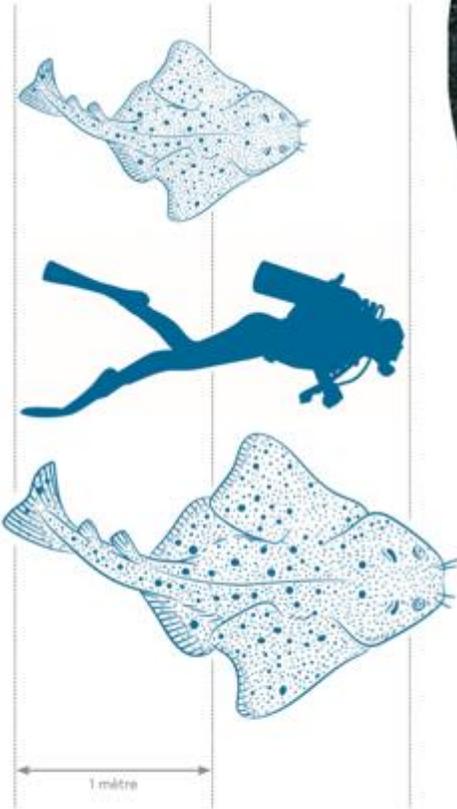


Livret réalisé par Sylvie Jaumes et Julie Deter (Andromède Océanologie)
avec la contribution de Mila Trotier, Théo Granier, Chloé Merrien
et de Alice Villeneuve (étudiants en Master 2 GE Aquadura et IEGB)
Dessins : © Aline Faure
Photos : © Laurent Ballesta
Graphisme : mine de rien

© Andromède Océanologie - 2022

L'ESPÈCE

L'ange de mer commun est un requin d'environ 150 cm qui peut atteindre jusqu'à 244 cm.



Son nom lui vient de ses deux nageoires pectorales (situées sur les côtés) qui ressemblent à des ailes d'ange.

Il vit sur les fonds marins, entre 5 et 150 m de profondeur, et se camoufle grâce à ses motifs pour attraper ses proies par surprise quand elles passent près de lui.

L'ange de mer est un animal nocturne qui chasse la nuit et se repose le jour. En mer Méditerranée, il existe 3 espèces différentes d'ange de mer qui sont toutes menacées :

- l'ange de mer commun
- l'ange de mer épineux
- l'ange de mer ocellé.

On m'a pourtant dit qu'il y avait des anges de mer ici ...



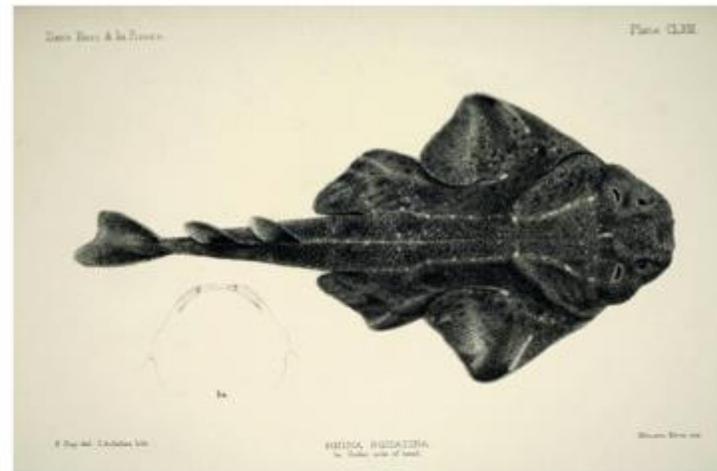
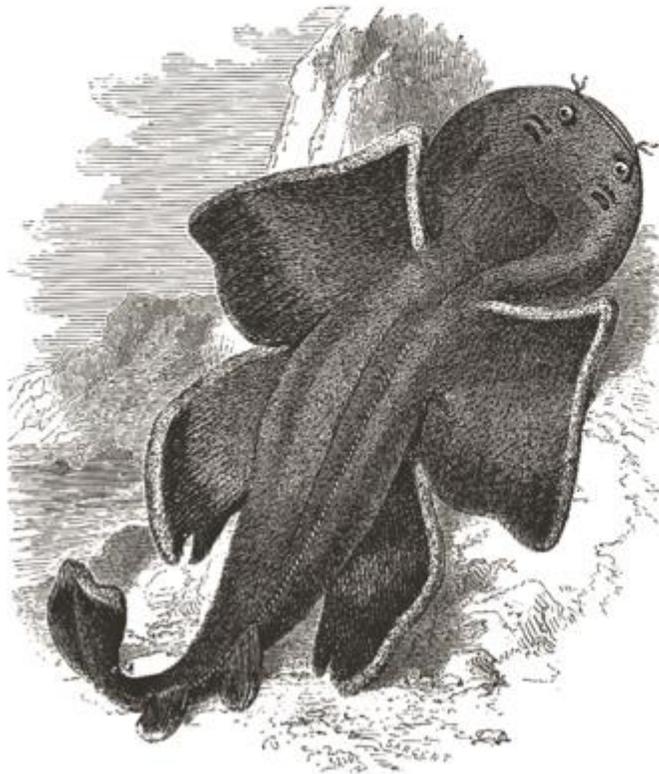
L'ange de mer a une couleur qui lui permet de se camoufler sur les fonds sableux. Souvent, il s'enfouit dans le sable, ce qui le rend parfois presque invisible.



Trouve le nom scientifique de l'ange de mer commun en remplaçant les lettres par les lettres qui les précèdent dans l'alphabet dans le code suivant :

Trvbujob trvbujob

RÉPONSE _____



Dessins naturalistes de l'ange de mer, 1868, auteurs inconnus, Grande-Bretagne.

Découvre en quelle année Carl Von Linné a décrit l'espèce "ange de mer commun" et lui a donné son nom scientifique en résolvant l'opération suivante :

$$4 (303+150) - 54 = \underline{\hspace{2cm}}$$

Linné était un naturaliste suédois connu pour avoir imaginé un système permettant de classer et nommer les espèces à partir de deux mots latins. L'ange de mer épineux et l'ange de mer ocellé quant à eux n'ont pas reçu leur nom scientifique de Linné.

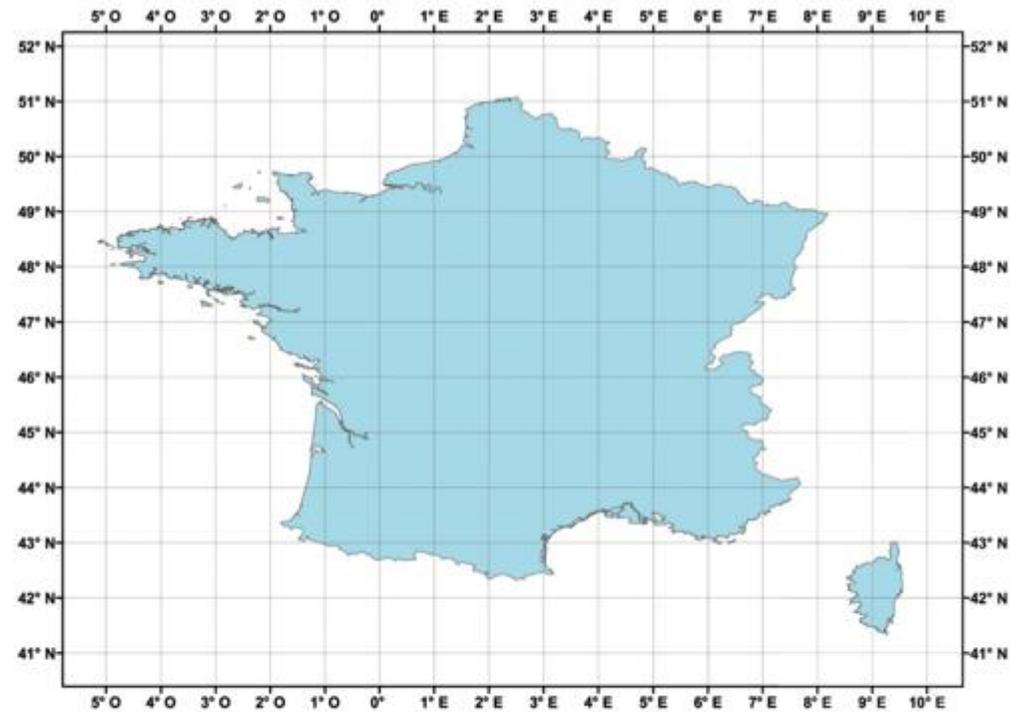
L'ange de mer épineux a été décrit par George Cuvier qui lui donna le nom "*Squatina aculeata*" en 1829. En 1840, c'est Charles Lucien Jules Laurent Bonaparte qui a décrit la troisième espèce d'ange de mer, l'ange de mer ocellé, qu'il a nommée "*Squatina oculata*". Ils sont tous les deux de grands naturalistes français.

Le Saviez-vous ?

La Baie des Anges entre le cap d'Antibes et le cap de Nice tient son nom de l'ange de mer commun car il y était autrefois présent et pêché en très grand nombre.



Découvrez la localisation de la «Baie des Anges» en traçant deux droites aux coordonnées :
43.60 °N / 7.21 °E



Connais-tu l'anatomie de l'ange de mer ? Légende le schéma !

Mots à placer : nageoires caudales, nageoires pectorales, nageoires dorsales, nageoires pelviennes, évents, fentes branchiales, bouche, narines, yeux.

Une apparence entre raie et requin...

Avec sa forme plate, on pourrait croire que l'ange de mer est une raie... mais non !

C'est un requin car :

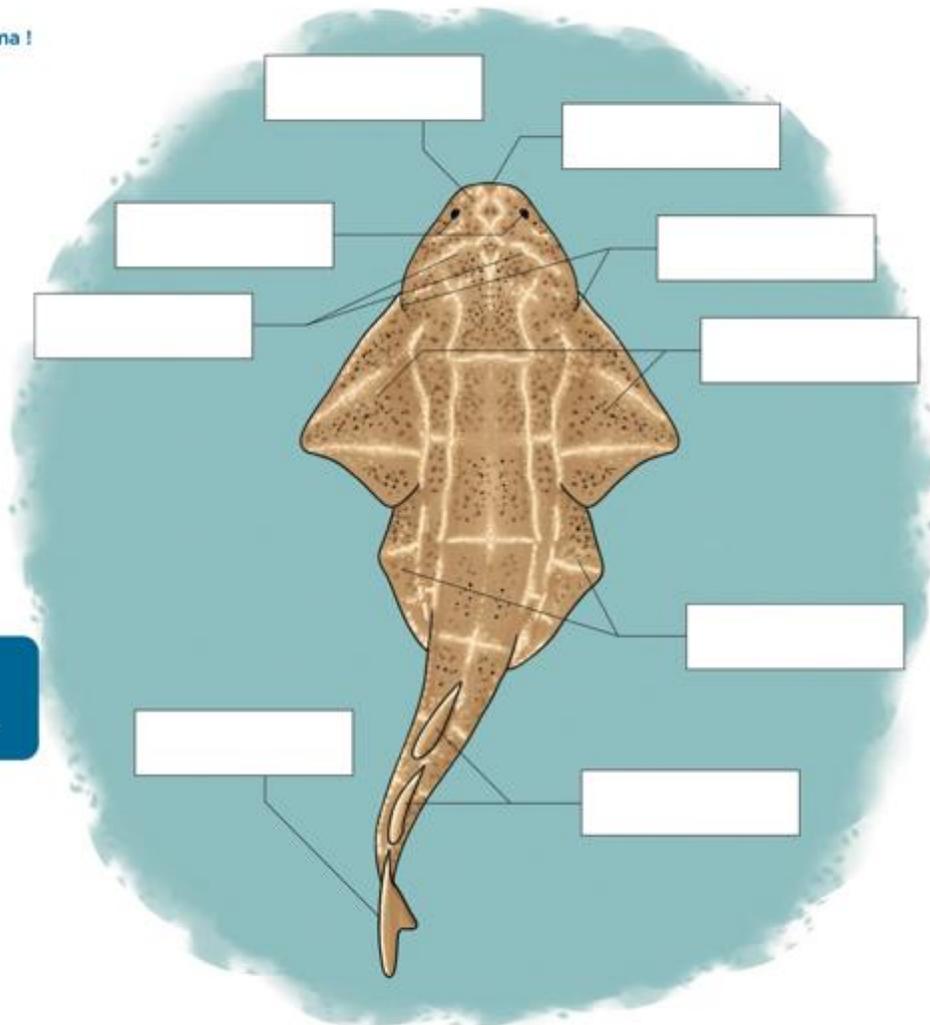
- ses nageoires pectorales (situées sur les côtés) ne sont pas directement reliées à sa tête,
- sa bouche se trouve au bout de la tête
- ses branchies qui lui permettent de respirer sous l'eau sont sur les côtés de la tête.

Chez une raie :

- la bouche et les branchies sont en position ventrale,
- il n'y a pas de séparation entre la tête et les nageoires pectorales.



J'ai failli me faire avoir avec son corps tout plat !
J'ai cru que c'était une raie...





Tu peux voir que sa bouche est au bout de sa tête ○, ses branchies sont sur le côté de son corps, bien que peu visibles à cause de la couleur de son camouflage ○ et sa tête et ses nageoires pectorales ne sont pas soudées ○.



Exemple de Raie léopard (*Aetobatis narinari*) :
sa bouche est en position ventrale ○
et ses branchies également ○.
Il n'y a pas de séparation entre sa tête
et ses nageoires pectorales ○.

Alors raie ou requin ?

Maintenant à toi de jouer !

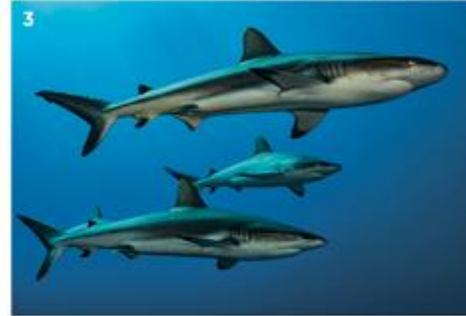
Comme sur les exemples de la page 5 entoure la bouche de l'animal en rouge, ses branchies en bleu et la jonction entre sa tête et ses pectorales en vert.
Grâce à ces éléments tu pourras différencier les raies et des requins sur les images ci-dessous !



RÉPONSE _____



RÉPONSE _____



RÉPONSE _____



RÉPONSE _____



RÉPONSE _____



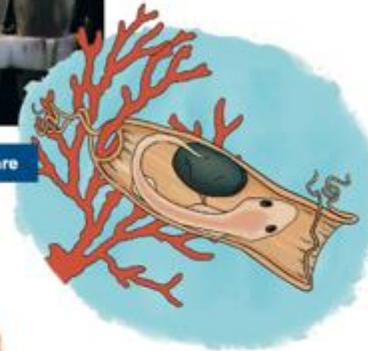
RÉPONSE _____

LA REPRODUCTION

L'ange de mer commun est une espèce menacée, il est essentiel de savoir comment il se reproduit afin de pouvoir le protéger. Après une période de gestation assez longue, l'ange de mer femelle donne naissance à ses petits une fois par an.



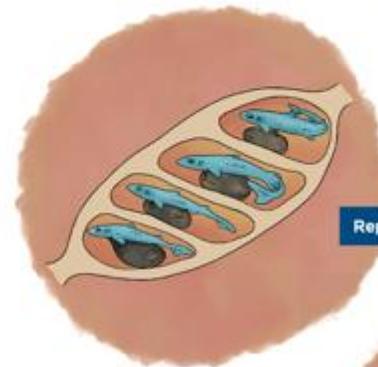
Reproduction ovipare



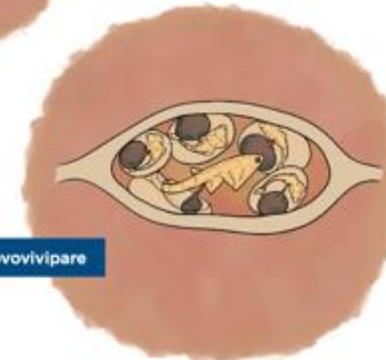
Toutes les espèces de requins ne se reproduisent pas de la même manière. Il existe en effet trois types de reproduction chez les requins :

- **Ovipare** : Le requin pond dans l'eau des œufs appelés oothèques qui contiennent les réserves nécessaires pour le développement de l'embryon jusqu'à son éclosion. (Comme les poules !)
- **Vivipare** : Les embryons se développent dans le ventre de la mère reliés par un cordon et les petits naissent déjà formés. C'est également le mode de reproduction des mammifères.
- **Ovovivipare** : Les œufs se développent à partir de leur réserve vitelline dans le ventre de la mère et éclosent à l'intérieur. La mère met bas des bébés déjà formés. C'est le mode de reproduction le plus répandu chez les requins.

L'ange de mer commun est ovovivipare car les œufs éclosent dans le ventre de la femelle.



Reproduction vivipare



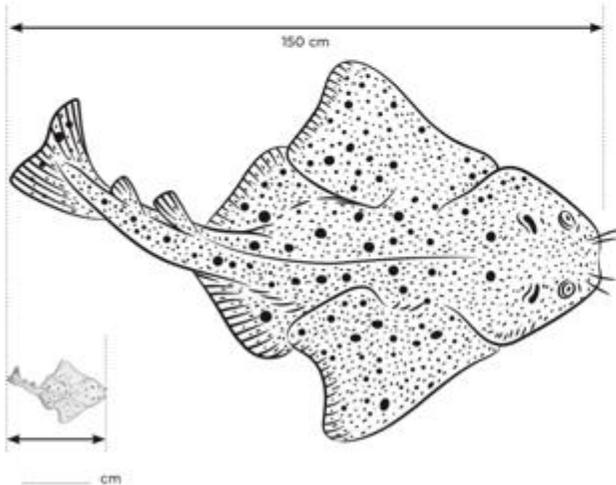
Reproduction ovovivipare

Effectue les opérations de ligne en ligne dans le tableau suivant pour trouver les informations sur la reproduction de l'ange de mer :

Nombre de portée par an	1	$\times (5+6) \times (8+(2/5))$
Nombre minimum de petits	?	$+((54/9) \times (36/12))$
Nombre maximum de petits	?	$- (365/1) \times (1/365) \times 15$
Temps de gestation (en mois)	?	

L'ange de mer est une espèce **indicatrice** c'est-à-dire que sa présence prouve la bonne santé des écosystèmes marins. Il indique une bonne qualité des fonds, une quantité de nourriture suffisante et une pression de pêche faible. Ce requin est aussi une espèce **parapluie**, c'est-à-dire que sa protection permet de protéger d'autres espèces marines qui vivent dans les mêmes habitats que lui.

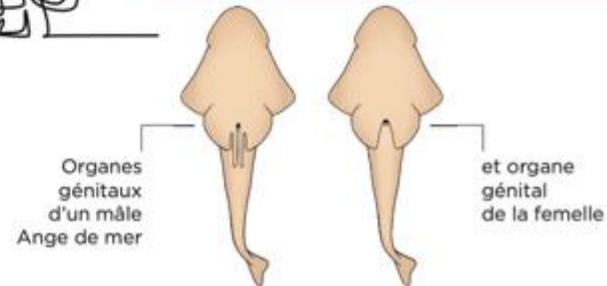
Sachant qu'un adulte mesure en moyenne 150 cm et qu'un nouveau-né est six fois plus petit qu'un adulte à la naissance, combien mesure un bébé ange de mer ?



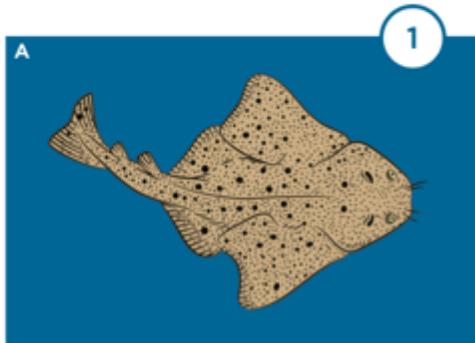
Tu peux différencier les mâles des femelles grâce aux organes sexuels qui ne sont visibles que chez les mâles. Quand on les regarde par en dessous on peut observer deux ptérygopodes chez les mâles. C'est grâce à ces ptérygopodes qu'il pourra transmettre le sperme nécessaire à la fécondation de la femelle.

Le saviez-vous ?

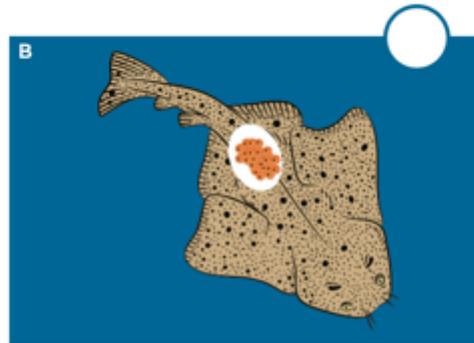
La femelle n'a pas d'organes génitaux apparents, elle présente seulement un orifice appelé cloaque.



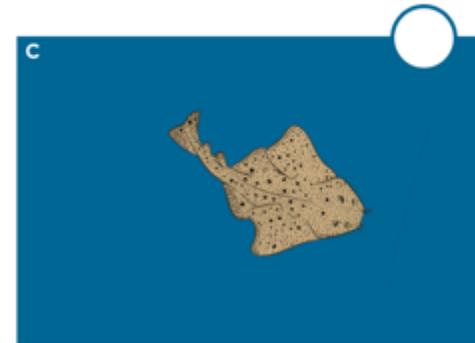
Numérote les images ci-dessous de 1 à 6 pour remettre le cycle de reproduction de l'ange de mer dans le bon ordre.



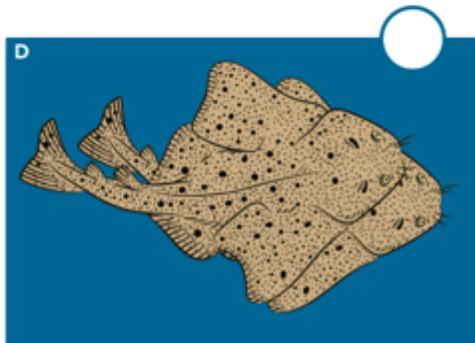
Ange de mer adulte.



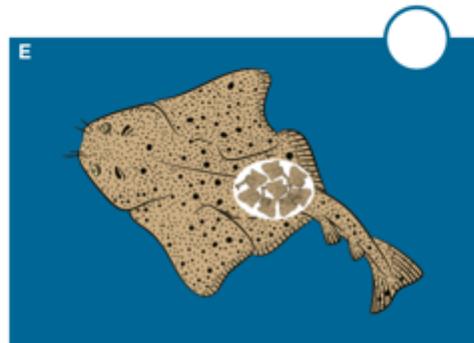
La mère ange de mer porte les œufs et mettra bas dans 8 à 10 mois.



Ange de mer juvénile.



L'ange de mer mâle féconde la femelle grâce à un de ses deux ptérygopodes.



C'est la fin de la gestation. Les œufs sont maintenant des bébés bien formés et prêts à naître.



Les anges de mer sont sortis du ventre de leur mère et mesurent 25 cm. Ils sont prêts à découvrir le monde.

LE RÉGIME ALIMENTAIRE



L'ange de mer commun n'est pas dangereux pour l'homme mais avec des dents pareilles, il vaut mieux que je ne l'agace pas trop !

L'ange de mer est un **prédateur**, c'est-à-dire qu'il chasse des proies vivantes pour se nourrir.

Trouve les proies principales de l'ange de mer grâce à ces définitions :

1. Animal aquatique vertébré, muni de nageoires et de branchies.

RÉPONSE _____

2. Poisson au corps aplati et en forme de losange, muni d'une queue de faible diamètre et de fentes branchiales en position ventrale.

RÉPONSE _____

3. Animaux invertébrés au corps mou.

RÉPONSE _____

4. Animaux invertébrés dont le corps est recouvert d'une carapace.

RÉPONSE _____

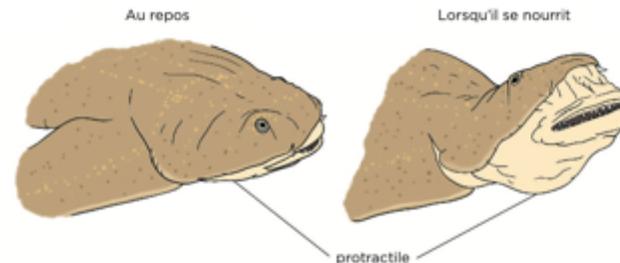
Un chasseur embusqué

L'ange de mer est un très bon chasseur.

Il possède, comme les autres requins, des rangées de dents qui se remplacent à la manière d'un « tapis roulant » lorsqu'elles s'abîment ou tombent. Il a ainsi toujours une dentition parfaite et optimale pour capturer les proies en mouvement. L'ange de mer a des dents en forme de triangle, plus fines au bout et orientées vers l'arrière, ce qui permet d'empêcher la fuite de sa proie.

Pour chasser, l'ange de mer se camoufle dans le sable et fonce sur ses proies en un éclair lorsqu'elles passent à sa portée, on dit que c'est un chasseur embusqué.

Lors de l'attaque, l'ange de mer projette sa mâchoire en avant (mâchoire protractile) pour attraper ses proies. Beaucoup d'autres poissons ont cette faculté comme le Saint-Pierre par exemple.



Mâchoire protractile du requin ange de mer

MODE DE VIE ET LIEU



Mâchoire de requin
« tapis de dents »



Mâchoire de requin
ange de mer



Mais où vit-il ?

L'ange de mer est un **requin côtier démersal** (espèce qui vit près du fond marin). Ses habitats préférés sont des étendues de sable, des fonds vaseux et des herbiers marins de posidonie (grandes prairies sous-marines) entre 5 et 150 m de profondeur.



Herbier de posidonie sur roche



Herbier de posidonie dégradé par des ancres

Les **posidonies** sont des plantes à fleurs qui forment de grandes prairies sous-marines en mer Méditerranée appelées herbiers. Les herbiers de posidonie protègent le littoral grâce à l'enchevêtrement de leurs racines et rhizomes (tiges souterraines) et évitent l'érosion des côtes en maintenant le sable. Ces herbiers sont également des lieux de vie, de ponte ou d'alimentation pour une multitude d'espèces. La posidonie est une espèce fragile et en danger, c'est pourquoi elle est protégée par une convention internationale et la loi française. Actuellement, ces prairies sont souvent endommagées voire détruites par les activités humaines et mettent beaucoup de temps à repousser (croissance de quelques centimètres par an). Afin d'éviter cela, des recommandations et bonnes pratiques sont proposées pour éviter par exemple la destruction par les ancres de bateaux. Il faut donc éviter de jeter l'ancre de son bateau dans l'herbier en consultant les cartes disponibles.

Mais alors, où dois-je aller si je veux le voir ? Il y en a partout, dans toutes les mers et océans ?



C'est un requin qui vit aussi bien en eau salée, comme dans la mer, que dans des eaux saumâtres (mélange d'eau douce et d'eau salée), comme dans les lagunes. On le retrouve aussi dans les estuaires, lieu où le fleuve se jette dans la mer.

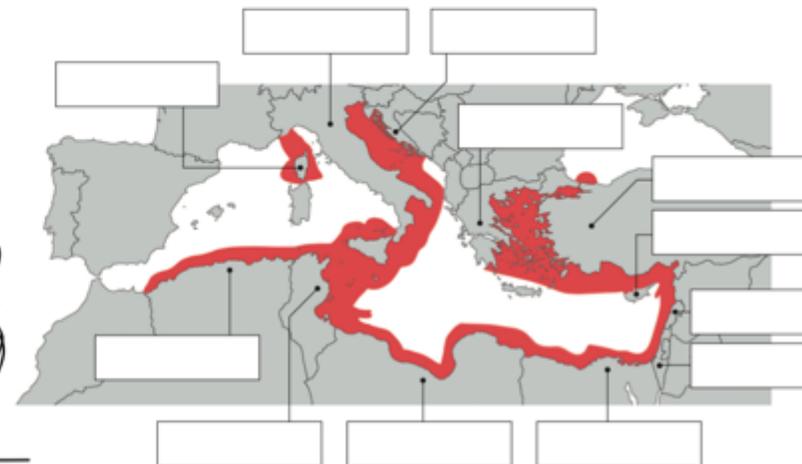
Il était autrefois répandu dans les eaux tempérées de l'Atlantique Nord-Est : des îles Canaries jusqu'à la mer du Nord, de l'ensemble de la Méditerranée et de la Mer Noire mais a pratiquement disparu de la majorité de cette zone de répartition. Actuellement, son aire de répartition est une partie des côtes méditerranéennes : de la côte algérienne au Sud-ouest jusqu'en Grèce, mais également le long de la côte croate et italienne. On peut également le retrouver aux Canaries (îles au large de l'Afrique du nord-ouest) où sa population (ensemble des individus de cette zone) semble stable.

En France, il a disparu de toutes les côtes sauf de la Corse où l'on sait qu'il s'y reproduit car des juvéniles et femelles pleines y ont été capturés... mais on ne connaît pas leur nombre, leur lieu de reproduction, ni où ils vivent exactement, et s'ils se déplacent avec les saisons...



Retrouve dans la grille les noms des pays où l'ange de mer est présent puis replace-les sur la carte de présence de l'ange de mer (en 2019) :

R	T	U	R	Q	U	I	E	I	V	V	U	G	E
K	V	W	F	R	A	N	C	E	Q	X	R	G	
V	X	N	L	Y	A	J	P	F	S	A	I	E	Y
N	Y	J	I	F	I	C	W	T	R	P	B	C	P
Z	W	T	B	C	T	S	B	R	S	C	X	E	T
C	S	S	A	Z	A	T	M	O	T	R	I	D	E
D	W	O	N	Q	L	U	C	T	X	O	S	Z	Z
I	C	B	G	T	I	N	H	L	A	A	R	E	A
U	G	W	G	T	E	I	Y	U	L	T	A	V	M
J	G	L	S	P	T	S	P	J	G	I	E	Y	D
R	L	Y	A	W	J	I	R	Z	E	E	L	S	F
B	A	B	M	Y	M	E	E	Z	R	H	H	E	E
T	K	I	Q	D	N	J	P	O	I	O	C	D	Z
J	R	E	V	I	U	X	L	H	E	P	I	O	N



Maintenant vérifie tes connaissances sur le lieu et le mode de vie de l'ange de mer. À toi de jouer !

Il chasse :

- à l'affût en attendant sa proie
- en encerclant sa proie
- en poursuivant sa proie sur de grandes distances grâce à ses grandes nageoires

Actuellement l'ange de mer est présent :

- dans tous les océans
- seulement sur les côtes françaises
- le long des côtes méditerranéennes et une île au nord-ouest de l'Afrique

Il vit :

- en pleine eau
- posé sur le fond
- à la surface



Relie chaque nom d'habitat à sa photo puis entoure ceux de l'ange de mer :



- 1) des fonds sableux
- 2) des récifs coralliens tropicaux
- 3) des mangroves
- 4) des prairies sous-marines
- 5) sous la banquise



Trouve le chemin à parcourir pour aller de Marseille aux Canaries avec des flèches :

↓ □ □ □ □ □ □ □ □

Sauras-tu replacer sur cette carte :
 - Le nom des mers et océans présents ?
 - La ville de Nice et la baie des Anges ?
 (Tu peux t'aider des jeux précédents)

Colorie en rouge toutes les zones où l'ange de mer était présent avant.



LES MENACES



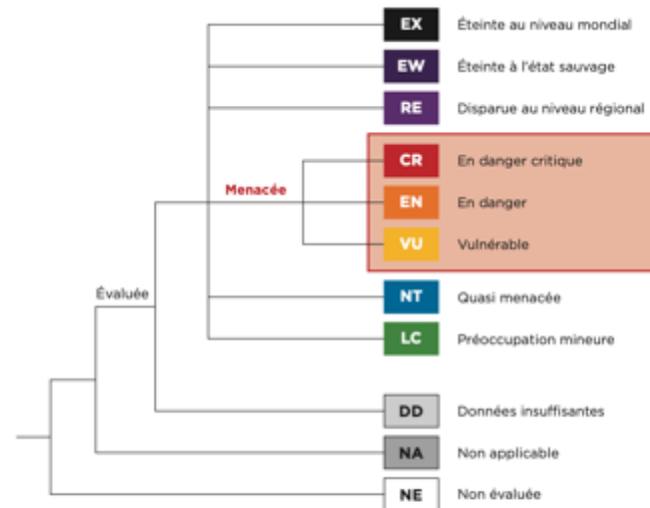
Présents depuis 50 millions d'années... mais pour encore combien de temps ?

Apparus il y a 50 millions d'années, les requins sont des poissons qui ont développé des sens aiguisés au fur et à mesure de l'évolution et sont des prédateurs très efficaces. Actuellement, l'ange de mer, comme les autres requins, est menacé par nos agissements : pêche, pollution et dégradations de son habitat. Le nombre de requins diminue depuis 60 ans et continue de décliner aujourd'hui dans les mers et océans.

Pourquoi l'ange de mer est-il en Danger Critique d'extinction ?

Afin de mieux les protéger, l'UICN (Union internationale pour la conservation de la nature) a créé une liste rouge des espèces les plus menacées, et l'ange de mer en fait partie !

L'UICN utilise plusieurs critères pour classer les espèces dans la catégorie "En Danger Critique d'extinction". Par exemple, il faut que le nombre d'individus de l'espèce dans le monde ait grandement diminué et qu'ils soient présents dans peu d'endroits. En Méditerranée française, on retrouve l'ange de mer uniquement autour de la Corse et ces 50 dernières années sa présence a fortement diminué !



Présentation des catégories de l'UICN utilisées à une échelle régionale (d'après le Guide régional 2012 de l'UICN)



Connais-tu le statut IUCN de ces animaux ?
 Coche la case qui correspond
 (tu peux chercher sur internet !)



1 - Phoque de Wedell

Éteint		Espèce menacée				Préoccupation mineure	
EX	EW	CR	EN	VU	NT	LC	
<input type="checkbox"/>							



2 - Ange de mer

Éteint		Espèce menacée				Préoccupation mineure	
EX	EW	CR	EN	VU	NT	LC	
<input type="checkbox"/>							



3 - Requin peau bleu

Éteint		Espèce menacée				Préoccupation mineure	
EX	EW	CR	EN	VU	NT	LC	
<input type="checkbox"/>							



4 - Raie torpille ocellée

Éteint		Espèce menacée				Préoccupation mineure	
EX	EW	CR	EN	VU	NT	LC	
<input type="checkbox"/>							

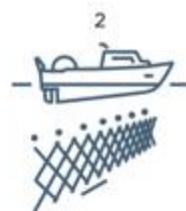
Pourquoi l'ange de mer disparaît ?

La pêche est l'une des principales menaces pour l'ange de mer. En effet, cachés sur le fond marin, ils se font facilement capturer par les bateaux qui pêchent en profondeur. La mortalité due aux captures par les engins de pêche est une des raisons de la disparition des anges de mer en Méditerranée.

Relie les bateaux à leur engin de pêche
 et entoure ceux qui sont dangereux pour l'ange de mer



Palangre



Chalut



Filet fixe de fond

Les chaluts abîment souvent les fonds marins lors de leur passage et l'habitat (lieu de vie) des anges de mer est donc endommagé.

Le changement climatique et les pollutions (plastiques, marées noires, etc.) sont également des menaces pour les anges de mer.



LA CONSERVATION DE L'ESPÈCE

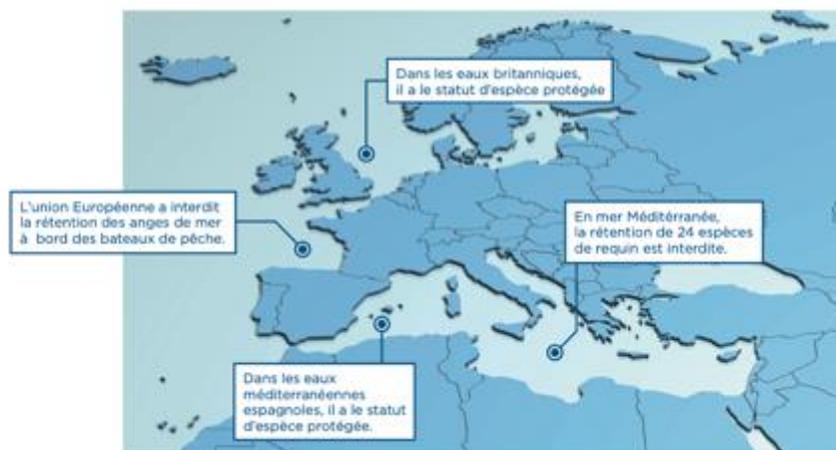
Ensemble, scientifiques et plongeurs, nous essayons de trouver des solutions pour que l'ange de mer puisse à nouveau vivre paisiblement dans son habitat !



Comment éviter la disparition de l'ange de mer ?

Tout d'abord, il faut réglementer la pêche. Actuellement, on demande aux pêcheurs de remettre à l'eau tous les anges de mer qu'ils capturent. On peut aussi créer des zones de protection où toute pêche serait interdite (réserve marine intégrale) ou bien où certaines techniques de pêche seraient interdites. Pour mieux protéger l'espèce, il est aussi important de continuer à l'étudier pour savoir où elle vit exactement, comment elle se déplace ou encore ce qu'elle mange en fonction de la saison. Des actions scientifiques peuvent également avoir lieu afin de restaurer (réparer) l'habitat des anges de mer. Enfin, sensibiliser les pêcheurs et le public aux menaces qui pèsent sur cette espèce est indispensable.

Aujourd'hui il existe en Méditerranée un plan d'action pour protéger les anges de mer et leur habitat. Les principaux objectifs de ce plan d'action sont de diminuer la mortalité des anges de mer suite aux captures, identifier leurs habitats pour les protéger et créer des lois valables dans différents pays (législation internationale).





QUIZZ

Coche la/les bonnes réponses

L'ange de mer est une espèce :

- Vulnérable
- En danger critique d'extinction
- Eteinte

Les menaces qui pèsent sur les anges de mer sont :

- Principalement liées aux activités humaines
- Peu liées aux activités humaines
- Peu nombreuses

Pour empêcher la disparition des anges de mer on peut :

- Réglementer la pêche
- Les nourrir
- Faire des études scientifiques

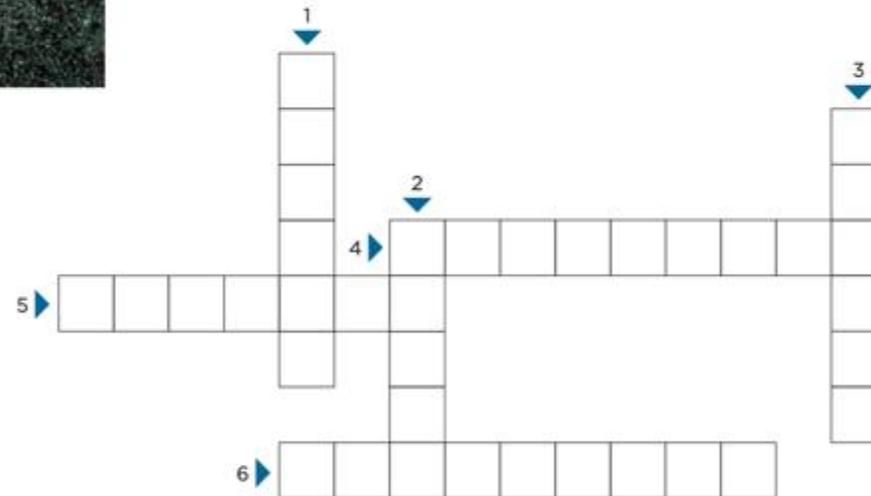
MOTS CROISÉS

Vertical

1. Engin de pêche qui menace les anges de mer et leur habitat.
2. Principale menace qui pèse sur les anges de mer.
3. Signe qui présage un danger.

Horizontal

4. Dégradation de l'environnement par des substances, des déchets ou des nuisances diverses.
5. Lorsqu'un ange de mer est attrapé par un bateau de pêche, on dit qu'il a été...
6. Aider de manière à mettre à l'abri des menaces.



LA MISSION SCIENTIFIQUE (PROJET ANGE)



Les écosystèmes marins constituent plus de 70 % de la surface de la Terre. Ils sont importants pour la biodiversité et pour la régulation du climat.



Des connaissances nécessaires

Le manque de connaissances sur le monde marin vient notamment de la difficulté à explorer ce milieu à cause des contraintes physiques. En effet, dans l'eau, la pression augmente en profondeur et y plonger nécessite des équipements spécifiques (sous-marin, bouteilles de plongée).

Au vu des changements globaux actuels, la préservation de l'environnement est devenue une préoccupation planétaire. Il est nécessaire d'approfondir les connaissances sur les écosystèmes afin de mettre en place des solutions concrètes pour les préserver.



Depuis 2008, Andromède Océanologie améliore les connaissances en écologie marine afin de trouver des solutions pour préserver les écosystèmes marins. Laurent Ballesta (co-fondateur d'Andromède Océanologie, photographe animalier) et son équipe mènent des expéditions scientifiques, nommées «Gombessa», pour explorer le monde sous-marin.



Les Expéditions Gombessa

Les expéditions Gombessa ont pour but de faire découvrir le monde sous-marin en récoltant des images inédites et en essayant de résoudre des énigmes scientifiques. Elles sont menées dans le monde entier, comme par exemple à Fakarava, en Polynésie française, afin d'étudier la reproduction des mérous et la chasse des requins.

En 2020, l'expédition Gombessa 6 a porté sur des formes circulaires sous-marines (anneaux coralligènes) ainsi que sur les populations d'anges de mer en Méditerranée française (projet ANGE). L'un des objectifs de l'expédition était d'en apprendre plus sur les anges de mer (habitudes, cycle de vie, régime alimentaire, ...) afin de les préserver.

Le Saviez-vous ?
Gombessa est le nom local d'un poisson d'Afrique du Sud. Il fut le sujet de la première expédition d'Andromède océanologie.



REBUS

Sauras-tu deviner le nom français de Gombessa ?

RÉPONSE _____



Le projet ANGE



L'ange de mer réside depuis longtemps dans les eaux Corse. C'est principalement depuis 2017 que des pêcheurs signalent sa présence autour de l'île, et qu'il devient alors une préoccupation pour les scientifiques.



En juin 2020, Laurent Ballesta fait les premières photos d'un ange de mer corse dans son milieu naturel. Plus tard, avec son équipe, ils posent des balises sur 4 anges de mer pour suivre leurs déplacements (avec des satellites).

En mai 2021, des scientifiques du projet ANGE naviguent autour du Cap Corse et le long de la côte Est de la Corse pour prélever de l'eau et y rechercher la présence de l'ange de mer commun.



Pour prélever l'eau, les scientifiques utilisent un prototype qu'ils ont conçu : une pompe étanche descendue à 40 mètres de fond. Cette pompe filtre l'eau de mer pour y récupérer l'ADN issu de minuscules morceaux de peau ou d'écaillés que l'ange de mer perd sur son passage (méthode de l'ADN environnemental).



Au laboratoire, les techniciens détectent si l'ADN qui a été filtré appartient à l'ange de mer. Les zones de présence de l'animal détectées par cette méthode peuvent ensuite être mieux étudiées (en plongée par exemple)... et peut-être bientôt mieux protégées.

Les plongeurs prennent des photos et prélèvent des échantillons puis les scientifiques les analysent.



Et si je te parlais un peu de l'ADN environnemental ?

Complète le texte à trous avec les mots suivants :

ADN, technique, identification, actuellement, environnement, moléculaire, espèces, passé

L'ADN environnemental (ADNe) est une permettant l'..... d'espèces

à partir de l'..... qu'elles laissent dans leur

Cette méthode s'appuie sur des techniques de biologie

L'ADNe peut être utilisé pour détecter des présentes dans un milieu

dans le (paléobiologie) ou (écologie).

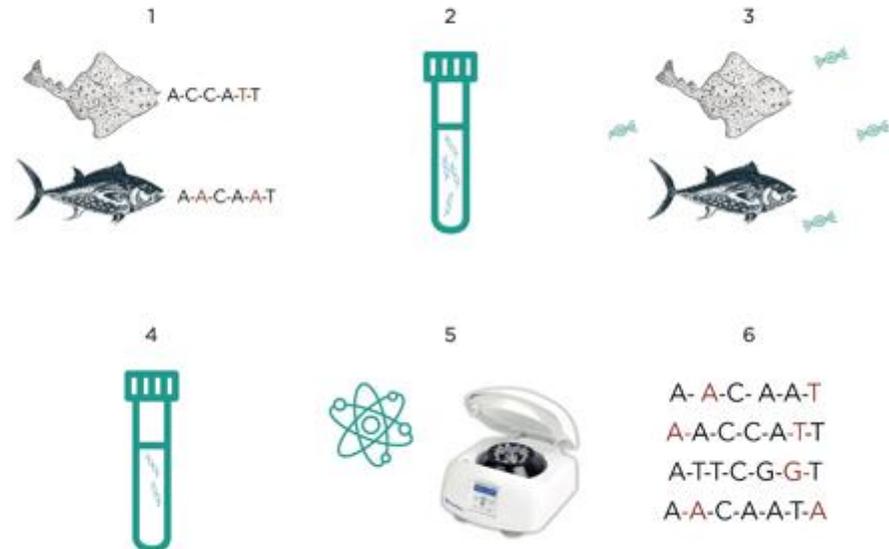


Différentes espèces vivent ou traversent un milieu et notre but final est de les identifier.

Pour ce faire, dans un premier temps on récupère un échantillon liquide dans le milieu. Ensuite, à partir de cet échantillon, on réalise une extraction (=récupération), une amplification (augmentation du nombre de fragments d'ADN) et un séquençage d'ADN (pour connaître l'enchaînement des nucléotides qui constituent l'ADN). On obtient alors des séquences d'ADN que l'on compare avec des séquences déjà connues (répertoriées dans des bases de données) afin d'identifier les espèces présentes dans le milieu (metabarcoding).

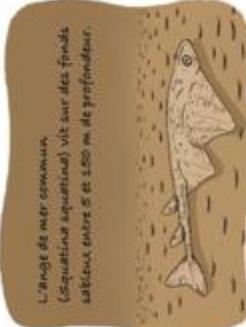
Dans notre cas, on cible directement l'ADN de l'espèce qui nous intéresse (*S. squatina*) afin de confirmer sa présence dans le milieu (barcoding) puis on réalise du metabarcoding pour connaître les espèces de poissons associées.

Remets dans le bon ordre les différentes étapes de l'inventaire d'espèces à partir d'ADN environnemental

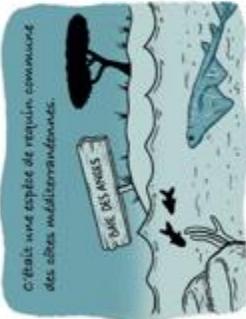


Un des derniers refuges pour l'ange de mer commun

L'ange de mer commun (Scorpaenopsis diabolus) vit sur des fonds sablonneux entre 5 et 150 m de profondeur.



C'était une espèce de requin commune des côtes méditerranéennes.



Mais elle a progressivement disparu...



Jusqu'à devenir une espèce rare dans les années 1950.



PRÉSENCE INCERTAINE

La Corse est une île qui semble être le dernier refuge de l'ange de mer commun dans les côtes méditerranéennes françaises.

Certains individus sont encore observés par les pêcheurs locaux le long de la côte Est.



C'est pourquoi nous avons décidé d'aider en Corse pour mieux connaître la distribution géographique de cette espèce rare de requin.



AVEC UNE MÉTHODE INNOVANTE

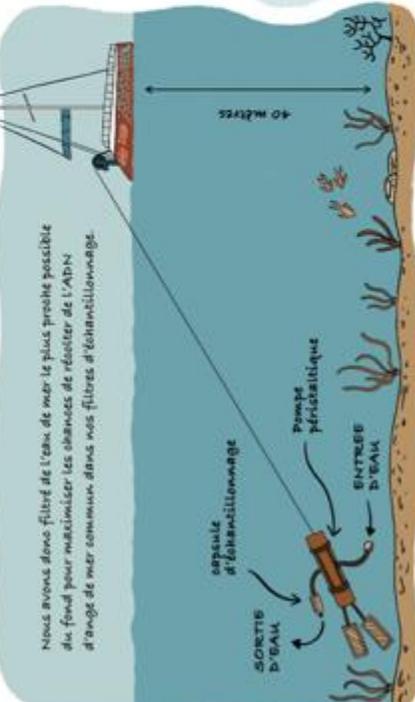
Le codage à barres de l'ADN environnemental !

Cette technique s'appuie sur les traces d'ADN laissées par les organismes dans le milieu à travers des fécalies, du sang ou encore des excréments, par exemple...



C'est l'ADN ENVIRONNEMENTAL (ADNe)

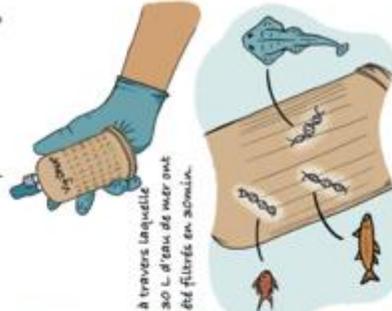
Nous avons donc filtré de l'eau de mer le plus proche possible du fond pour maximiser les chances de récolter de l'ADN d'ange de mer commun dans nos filtres d'échantillonnage.



40 mètres

Ceci est une capsule d'échantillonnage

à travers laquelle 30 L d'eau de mer ont été filtrés en adne.



*MUCN : Union internationale pour la Conservation de la Nature.

Après des jours de filtration.

Il a traversé la traversée de solenzara

Nous avons obtenu 76 filtres pleins d'ADN!

De retour à Montpellier, nous avons analysé les échantillons en laboratoire...

Nous avons ensuite envoyé ces échantillons directement au laboratoire d'analyse dans les Alpes.

SPYGEN

Où les techniciens ont extrait toutes les molécules d'ADN des filtres.

... grâce à de la PCR quantitative (qPCR).

Cette méthode est possible grâce à des marqueurs fluorescents qui se fixent uniquement sur l'ADN d'origine de mer commune.

Cet ADN, même en faible quantité, est alors repéré grâce à une augmentation de la fluorescence.

ABSENT **PRÉSENT!**

Fluorescence **nombre de copies**

Grâce à nos résultats, des mesures de protection pourront être proposées et appliquées sur ces sites.

Particulièrement dans les herbiers de posidonies dont l'usage de mer commune dépend.

FIN

A travers ces analyses, nous avons détecté 7 sites sur lesquels des enges de mer étaient présents.

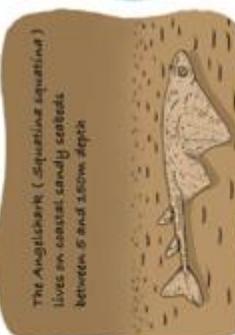
Agriatz **Biguglia** **Gale** **Santa-Lucia-di-Moriani** **Aléria** **Silvanova**

Parc Naturel Maria **Cap Corse Agriatz**

Ferre et al. (2022) Rapid detection of the critically endangered anguilline (Lepomis sp.) in Corsica by environmental DNA barcoding. Biological Conservation. Issu du Projet ANGE dirigé par l'université de Montpellier en partenariat avec l'Agence de l'Eau Méditerranée Corse, l'Office Français de la Biodiversité, le Parc Naturel Maria Cap Corse Agriatz, Adhémarie Oustrouge, l'Etat Préfectoral des Hautes Alpes et Basses Alpes et Basses Alpes Nature.

One of the last refuges for Angelsharks

The Angelshark (*Squatina squatina*) lives on coastal sandy seabeds between 5 and 150m depth.



It was once common along the Mediterranean coast.



But it gradually disappeared...

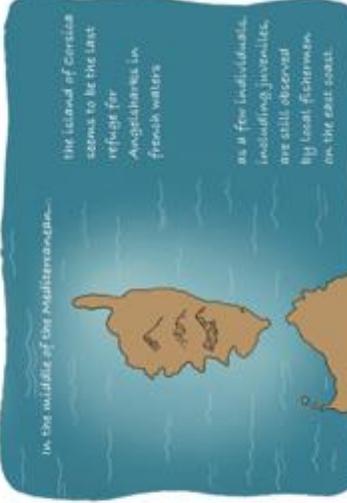


...until it became very rare everywhere from the 1900s.



PRESENT PRESENCE UNOCCUPATED

In the middle of the 20th century... the island of Corsica seems to be the last refuge for Angelsharks in French waters.



As a few individuals, including juveniles, are still observed by local fishermen on the east coast.

Therefore, we decided to go to Corsica to better know the distribution of this rare shark.



With a powerful method...

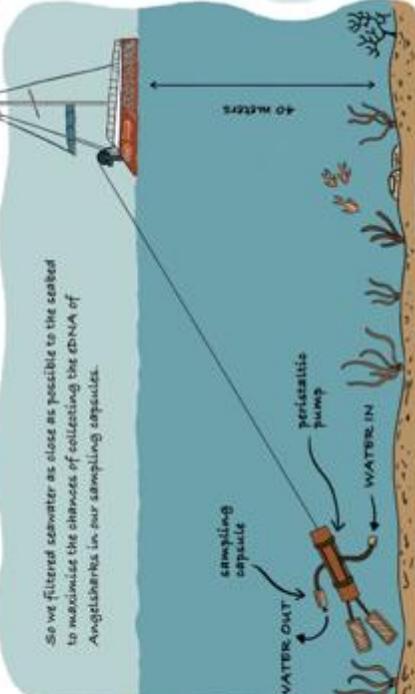
...environmental DNA barcoding!

This technique relies on the DNA left behind by organisms through the loss of their scales, blood or excrement for example...



It is eDNA.

So we filtered seawater as close as possible to the seabed to maximise the chances of collecting the eDNA of Angelsharks in our sampling capsules.



40 METERS

WATER OUT

WATER IN

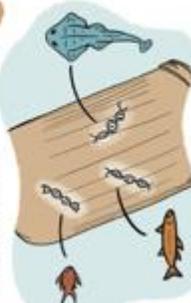
peristaltic pump

sampling capsule

This is a sampling capsule



through which 30L of seawater was filtered for 30 min.



*FUCHI | International Union for Conservation of Nature

© Alline & Nadia FAUQUE

After a day of filtration...

...along 150 km of coastline consisting of the Rhône

we obtained 76 sampling stations full of DNA!

Then we took these samples directly to a laboratory in the Alps

Where they extracted all the DNA molecules from the filters.

...By quantitative PCR (qPCR)

Back in Montpellier, we analysed our samples in Lab...

The specific method allows to amplify only a target DNA - in our case Angelshark DNA.

This method relies on a fluorescent dye that binds only to Angelshark DNA.

So when Angelshark DNA is present in a sample, even in low quantity, we observe an increase in fluorescence due to amplification of this DNA.

Through these analyses, we detected 7 sites where the shark is present!

Through these analyses, we detected 7 sites where the shark is present!

Pero-Narrows, Marcin, Cap-Corse, Agriatz, Biguglia, river Golo, Samba-Lucia-El-Merland, Aléria, Solenzara

These positive results should lead to the implementation of protection measures on these sites.

Particularly on seagrass beds on which this species depends.

END.

© Aline & Nadia FAUSE
 Faure et al. (2022) Rapid detection of the critically endangered angelshark (Spharxias tiburo) in Corsica by environmental DNA barcoding. Biological Conservation from the "ANG" project led by the University of Montpellier, in partnership with Agence de l'Eau Rhône Méditerranée Corse, Office Français de la Biodiversité, Parc naturel Marin Cap Corse Agriatz, Aubmaïe Occitanique, École Pratique des Hautes Études and Basse Ouboue Fishing.



LES SOLUTIONS AUX EXERCICES

L'ADN environnemental (ADNe) est une technique permettant l'identification d'espèces à partir de l'ADN qu'elles laissent dans leur environnement. Cette méthode s'appuie sur des techniques de biologie moléculaire. L'ADNe peut être utilisé pour détecter des espèces présentes dans un milieu dans le passé (paléobiologie) ou actuellement (écologie).

Étapes : 3 / 4 / 2 / 5 / 6 / 1

Page 20

C - LAC - AN - TE => Coelacanth

Page 19

L'ange de mer est une espèce en danger critique d'extinction. Les menaces qui pèsent sur les anges de mer sont principalement liées aux activités humaines. Pour empêcher la disparition des anges de mer on peut réglementer la pêche et faire des études scientifiques.

Mots croisés :

Vertical : 1. Châlit / 2. Pêche / 3. Menace

Horizontal : 4. Pollution / 5. Capture / 6. Préserver

Page 17

1. Préoccupation mineure / 2. En danger critique / 3. Quasi menacé / 4. Vulnérable

1. Châlit / 2. Filet fixe de fond / 3. Palangre

Les 3 sont la cause de la disparition de l'ange de mer

Page 15

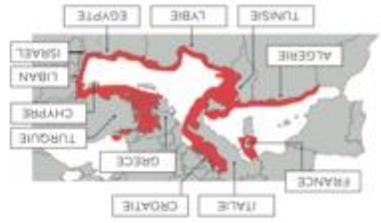


Toutes les côtes entre 0 et 150m de profondeur, les estuaires et les lagunes :



1. Il chasse à l'affût en attendant sa proie / Actuellement l'ange de mer est présent sur les côtes méditerranéennes et une île au nord ouest de l'Afrique / Il vit posé sur le fond

Page 13



R	T	U	R	Q	U	I	E	I	V	A	L	V	U	O	R
K	V	W	R	A	N	C	E	Q	X	R	G				
X	N	L	A	V	A	P	E	S	A	I	E				
N	Y	J	I	F	I	C	W	T	R	P	B	C	H		
Z	W	T	R	C	T	B	B	R	S	C	X	E	S		
C	S	S	A	Z	A	T	M	O	T	R	I	D			
O	W	N	O	L	U	C	T	X	O	S	Z				
I	C	B	O	T	I	N	L	A	R	E	A				
U	G	W	G	T	E	L	V	L	T	A	V	H			
J	O	L	S	P	T	R	J	O	L	E	A	D			
R	L	Y	A	W	J	R	Z	E	C	L	S	F			
B	A	R	M	V	M	B	E	Z	H	H	E	E			
T	R	I	O	D	N	J	R	O	I	O	C	O	Z		
Z	R	V	I	U	X	L	H	P	I	O	N				

Page 12

1. Poisson / 2. Raie / 3. Mollusques / 4. Crustacés

Page 10

1A / 2D / 3B / 4E / 5F / 6C

Page 9

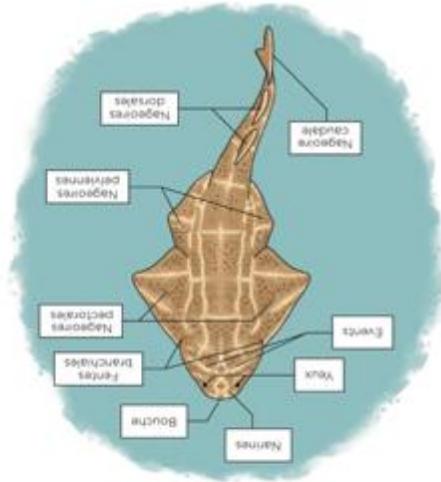
Taille du bébé ange de mer : 25 cm

1 portée par an / 7 petits minimum / 25 petits maximum / 10 mois de gestation

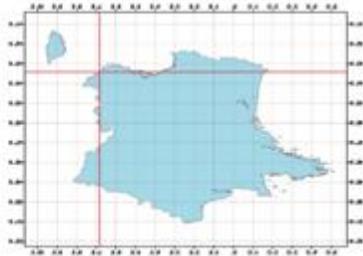
Page 8

1. Requin / 2. Raie / 3. Requin / 4. Raie / 5. Requin / 6. Raie

Page 6



Page 4



Page 3

Nom scientifique : *Squatina squatina*
Année : 1758

Page 2



Pour en savoir plus...
<https://angelsharknetwork.com/>
<https://www.asso-ailerons.fr/>
<https://parc-marin-cap-corse-agriate.fr/>
<https://gombessa-expeditions.com>



LIVRET DÉCOUVERTE
NIVEAU COLLÈGE

L'ANGE DE MER

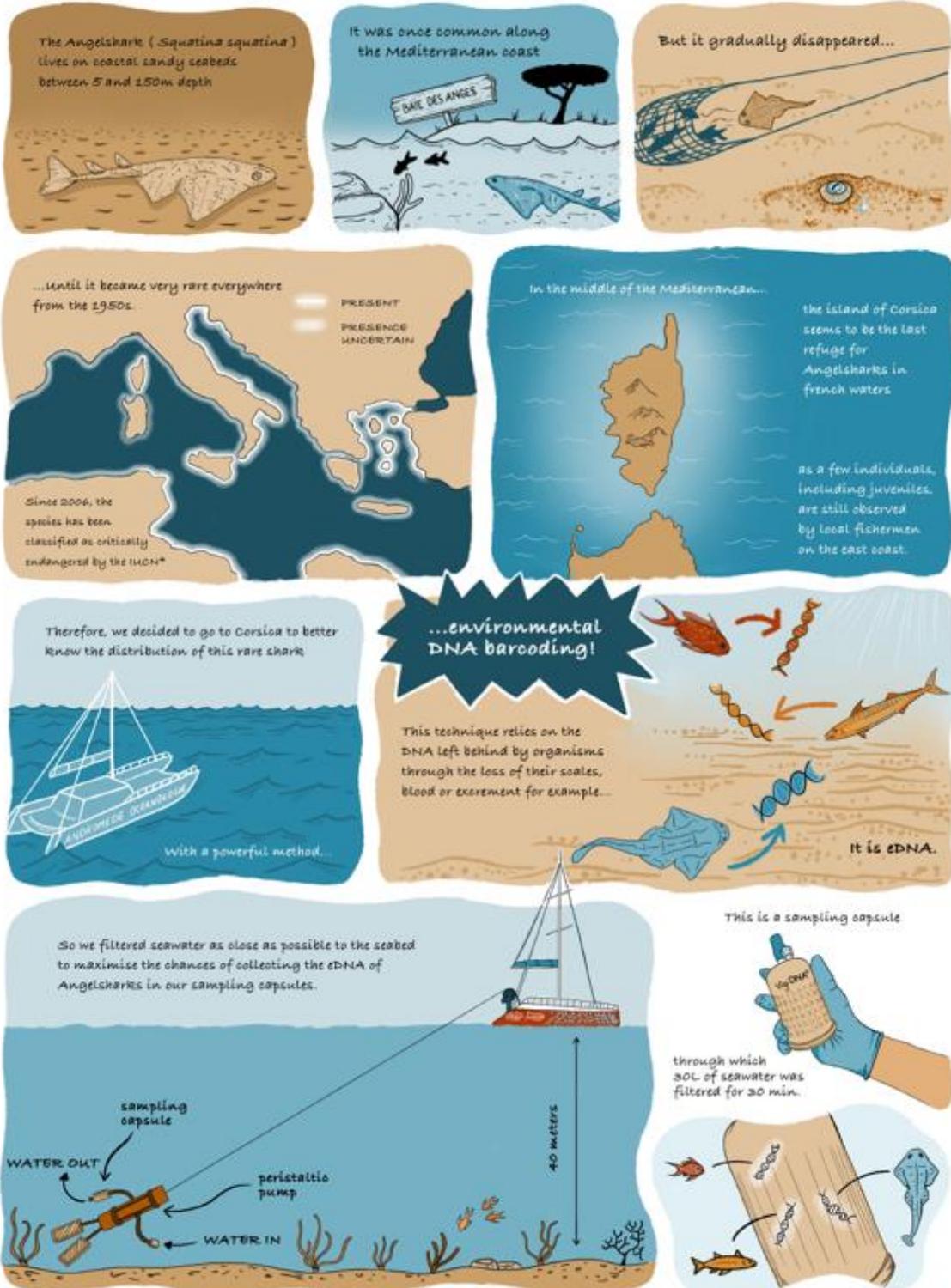
CONTACT

@andromede_oceanologie
media@andromede-ocean.com
www.andromede-ocean.com



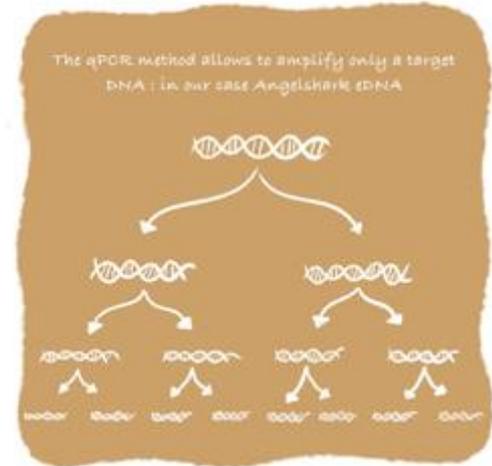
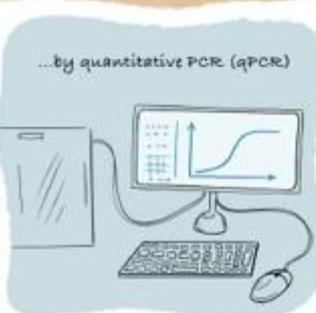
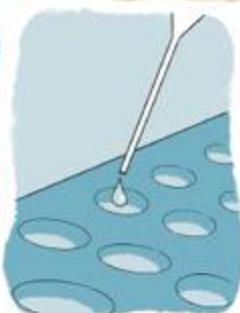
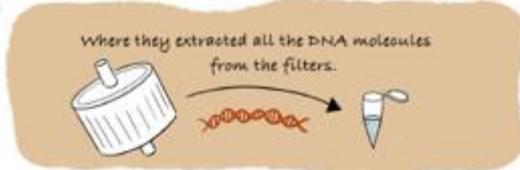
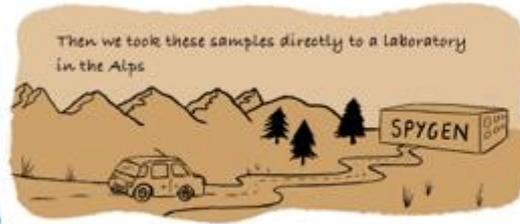
ANNEXE 15 : Bande-dessinée en lien avec l'article Faure et al., 2023

One of the last refuges for Angelsharks



*IUCN : International Union for Conservation of Nature

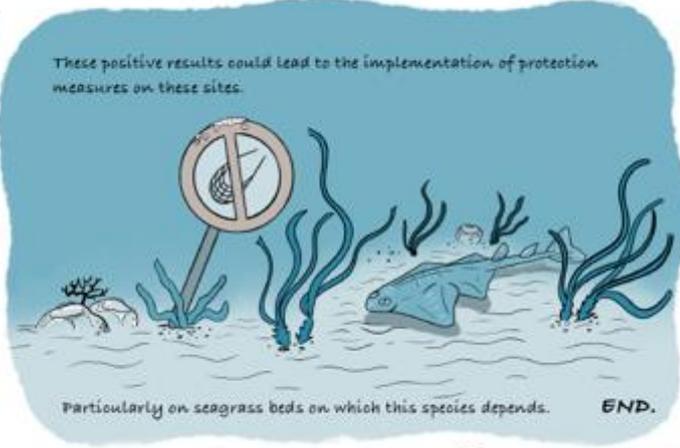
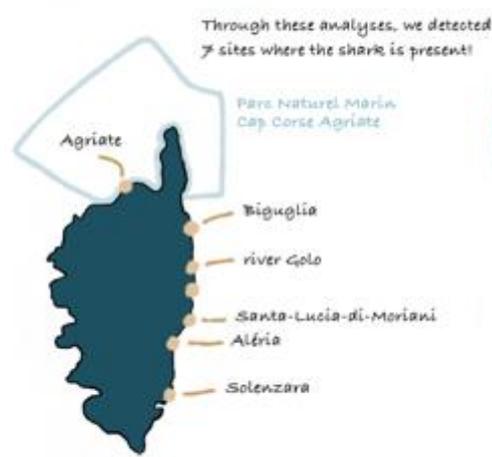
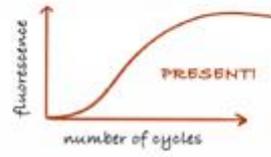
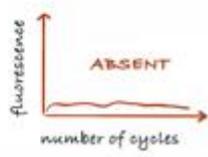
© Aline & Nadia FAURE



This method relies on a fluorescent dye that binds only to Angelshark eDNA.



So when Angelshark eDNA is present in a sample, even in low quantity, we observe an increase in fluorescence due to amplification of this eDNA.



© Aline & Nadia FAURE

Faure et al. (2022) Rapid detection of the critically endangered angelshark (*Squatina squatina*) in Corsica by environmental DNA barcoding. *Biological Conservation*. From the "ANSE" project led by the University of Montpellier, in partnership with Agence de l'eau Rhône-Méditerranée Corse, Office Français de la Biodiversité, Parc Naturel Marin Cap Corse Agriate, Andromède Océanologie and Bastia Offshore Fishing.

