



**Muséum
national
d'Histoire
naturelle**



Direction de la Recherche, de l'Expertise et de la Valorisation

Direction Déléguée au Développement Durable, à la Conservation de la Nature et à l'Expertise

Service du Patrimoine Naturel

Romain Sordello

&

Institut National de Recherche en Sciences et Technologies pour
l'environnement et l'Agriculture

UMR TETIS - Maison de la Télédétection

Jennifer Amsallem, Victoria Dubus



Trame verte et bleue

Suivi et Évaluation

Quelle faisabilité d'utiliser l'outil génétique ?



Le Service du Patrimoine Naturel (SPN)

Inventorier - Gérer - Analyser - Diffuser

Au sein de la direction de la recherche, de l'expertise et de la valorisation (DIREV), le Service du Patrimoine Naturel développe la mission d'expertise confiée au Muséum national d'Histoire naturelle pour la connaissance et la conservation de la nature. Il a vocation à couvrir l'ensemble de la thématique biodiversité (faune/flore/habitat) et géodiversité au niveau français (terrestre, marine, métropolitaine et ultra-marine). Il est chargé de la mutualisation et de l'optimisation de la collecte, de la synthèse et la diffusion d'informations sur le patrimoine naturel.

Placé à l'interface entre la recherche scientifique et les décideurs, il travaille de façon partenariale avec l'ensemble des acteurs de la biodiversité afin de pouvoir répondre à sa mission de coordination scientifique de l'Inventaire national du Patrimoine naturel (code de l'environnement : L411-5).

Un objectif : contribuer à la conservation de la Nature en mettant les meilleures connaissances à disposition et en développant l'expertise.

En savoir plus : <http://www.mnhn.fr/spn/>

Directeur : Jean-Philippe SIBLET

Adjoint au directeur en charge des programmes de connaissance : Laurent PONCET

Adjoint au directeur en charge des programmes de conservation : Julien TOUROULT



Porté par le SPN, cet inventaire est l'aboutissement d'une démarche qui associe scientifiques, collectivités territoriales, naturalistes et associations de protection de la nature en vue d'établir une synthèse sur le patrimoine naturel en France. Les données fournies par les partenaires sont organisées, gérées, validées et diffusées par le MNHN. Ce système est un dispositif clé du SINP et de l'Observatoire National de la Biodiversité.

Afin de gérer cette importante source d'informations, le Muséum a construit une base de données permettant d'unifier les données à l'aide de référentiels taxonomiques, géographiques et administratifs. Il est ainsi possible d'accéder à des listes d'espèces par commune, par espace protégé ou par maille de 10x10 km. Grâce à ces systèmes de référence, il est possible de produire des synthèses quelle que soit la source d'information.

Ce système d'information permet de mutualiser au niveau national ce qui était jusqu'à présent éparpillé à la fois en métropole comme en outre-mer et aussi bien pour la partie terrestre que pour la partie marine. C'est une contribution majeure pour la connaissance, l'expertise et l'élaboration de stratégies de conservation efficaces du patrimoine naturel.

En savoir plus : <http://inpn.mnhn.fr>

IRSTEA

Irstea est un organisme de recherche qui, depuis plus de 30 ans, travaille sur les enjeux majeurs d'une agriculture responsable et de l'aménagement durable des territoires, la gestion de l'eau et les risques associés, sécheresse, crues, inondations, l'étude des écosystèmes complexes et de la biodiversité dans leurs interrelations avec les activités humaines.

Recherche pluridisciplinaire, expertise et appui aux politiques publiques « agro-environnementales », partenariat avec les collectivités territoriales et les acteurs du monde économique, telles sont les caractéristiques d'Irstea, labellisé « Institut Carnot ». Dans la continuité du modèle de recherche du Cemagref, nos ingénieurs et nos chercheurs s'investissent au quotidien dans leur mission : relever le défi de la compréhension du changement global pour un développement durable et éco-responsable.

UMR TETIS

Unité Mixte de Recherche Territoires, Environnement, Télédétection et Information Spatiale (Irstea-Cemagref, AgroParisTech, Cirad)

L'UMR TETIS a pour objectif de développer des méthodes de maîtrise de l'information spatiale au service de la connaissance et de la gestion des milieux et des territoires : acquisition de données spatialisées notamment satellitaires et leur traitement, analyse et modélisation spatio-temporelle des systèmes agro-environnementaux et territoriaux, gestion des systèmes d'information, conditions de l'utilisation de l'information spatiale par les acteurs territoriaux. Le fil directeur des travaux de l'UMR est donc l'élaboration et la transmission d'une information spatialisée « utile, utilisable et utilisée ».

Outre la production de connaissances et de méthodes sur la chaîne de l'information spatiale, les activités de l'UMR portent également sur la formation, formation initiale, formation par la recherche et formation continue, et sur le transfert, notamment par l'appui aux politiques publiques, le partenariat au sud et l'expertise ou le partenariat avec des opérateurs privés.

Trame verte et bleue (TVB)

MNHN-SPN :

Convention MNHN/MEDDE fiche 3i

Julien Touroult, Directeur adjoint en charge des programmes de conservation N2000 et TVB

Romain Sordello, Chef de projet

Géraldine Rogeon, Chargée de mission Grand Est

IRSTEA :

Jennifer Amsallem, Ingénieur d'étude

Victoria Dubus, Stagiaire "Étude de faisabilité des indicateurs de suivi et d'évaluation des Schémas régionaux de cohérence écologique"

Référence du rapport conseillée :

SORDELLO R., AMSALLEM J. & DUBUS V. (2012). *Trame verte et bleue - Suivi et évaluation - Faisabilité d'utiliser l'outil génétique*. Muséum national d'histoire naturelle (MNHN) - Service du Patrimoine naturel (SPN) & Institut National de Recherche en Sciences et Technologies pour l'environnement et l'Agriculture (IRSTEA) - UMR TETIS. 34 pages.

1^{ère} de couverture : Parc naturel du Vercors, Isère (R. Sordello)

4^{ème} de couverture : Crapaud commun (*Bufo bufo*) (R. Sordello)

SOMMAIRE

I. INTRODUCTION ET CONTEXTE.....	6
I.1. Rappel sur la TVB.....	6
I.2. Rappel sur le suivi/évaluation de la TVB et propositions du MNHN	6
II. L'UTILISATION DE L'OUTIL MOLÉCULAIRE SUR LE THÈME DES CONTINUITÉS ÉCOLOGIQUES EN FRANCE	7
II.1. Rappel du principe	7
II.2. L'utilisation de l'outil moléculaire en France.....	7
II.3. Questions auxquelles peut répondre l'outil moléculaire	10
II.4. Groupes biologiques	10
II.5. Échantillons possibles.....	12
III. RÉUNION DE TRAVAIL SUR LA FAISABILITÉ D'UTILISER L'OUTIL GÉNÉTIQUE POUR LE SUIVI DE LA TRAME VERTE ET BLEUE EN FRANCE.....	12
III.1. Identification préalable d'experts en génétique	12
III.2. Périmètre de la réunion et ordre du jour	13
III.3. Retranscription des échanges	14
IV. CONCLUSION	31
V. GLOSSAIRE.....	33
VI. BIBLIOGRAPHIE	34

I. INTRODUCTION ET CONTEXTE

I.1. Rappel sur la TVB

En 2007, le Grenelle de l'environnement a souligné l'importance du phénomène de fragmentation des habitats comme l'une des causes de déclin de la biodiversité. Cette prise de conscience a débouché sur le lancement d'une nouvelle politique portée par le Ministère de l'Écologie, du Développement Durable et de l'Énergie (MEDDE) : la Trame verte et bleue (TVB).

Ce projet, tel que son cadre a été défini par le Comité opérationnel (Comop) mis en place pendant le Grenelle de l'environnement, prendra place à différentes échelles du territoire selon un principe fondamental de subsidiarité.

Au niveau national, des grandes orientations ont été définies par le MEDDE, en association avec le Comité national TVB. Ces orientations font actuellement l'objet d'un décret d'application.

La Trame verte et bleue a proprement parlé sera identifiée au niveau des régions, par l'intermédiaire de Schémas Régionaux de Cohérence Écologique (SRCE) co-élaborés par l'État – représenté par la Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement (DREAL) - et la Région – représentée par le Conseil Régional (CR). La méthode d'identification de la Trame verte et bleue par les régions est laissée libre par le niveau national mais les SRCE devront néanmoins respecter les orientations nationales et notamment les différents critères permettant d'assurer une cohérence nationale.

Au niveau infrarégional, les documents d'urbanisme (Plans Locaux d'Urbanisme (PLU) et Schémas de Cohérence Territoriale (SCOT)) doivent désormais prendre en compte le SRCE de leur région et intégrer également, indépendamment du SRCE, les enjeux de continuités écologiques propres à leur territoire.

I.2. Rappel sur le suivi/évaluation de la TVB et propositions du MNHN

- *Historique de la démarche :*

1 - En 2010 un premier travail exploratoire a été effectué par Julie Chaurand concernant le suivi et l'évaluation de la TVB, dans le cadre de son stage de fin d'études au sein d'Irstea (ex-CEMAGREF) (Chaurand, 2010),

2 - En 2011, le MEDDE a souhaité engager une réflexion nationale sur le sujet et a sollicité à cet effet ses partenaires techniques : Irstea, l'Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques (ONEMA) et le MNHN-SPN. Irstea a été identifié comme pilote de cette réflexion. Cinq « blocs » thématiques ont été listés et le MNHN-SPN a été sollicité afin de proposer des éléments concernant le bloc relatif aux espèces et aux habitats.

3 - En 2011, le MNHN-SPN a publié ses propositions dans un rapport (Sordello *et al.*, 2011). Parmi elles, deux principales sont à noter :

- la généralisation du protocole de relevé de collisions expérimenté depuis deux ans en Franche-Comté (Rogeon & Girardet, 2011),

- l'utilisation de l'outil génétique pour mesurer l'évolution de l'état de fragmentation à l'échelle régionale.

- *Outil génétique : protocole pensé à ce stade :*

L'objectif est de considérer quelques espèces sensibles à la fragmentation pour lesquelles la structuration génétique de leur population reflèterait la fragmentation globale du milieu auquel elles sont inféodées (notion d'indicateur). Pour chacune de ces espèces (par exemple 2 espèces par sous-trames). Chaque espèce serait donc vue ici comme un indicateur de la fragmentation régionale du milieu (sous-trame) auquel elle est inféodée, qui est donc sensée avoir été réduite (ou au moins contenue) grâce à l'application du SRCE. L'avantage fort de cette proposition est qu'elle permet un diagnostic à l'échelle régionale et ciblé sur la fragmentation, objet majeur de la TVB.

- **Objet du rapport :**

Cette proposition doit être affinée et sa faisabilité doit être étudiée, aussi bien sur le plan technique qu'administratif ou budgétaire. Pour cette raison, le MNHN et Irstea ont organisé une réunion de travail d'experts en génétique du paysage*. L'objectif de cette réunion était d'estimer la pertinence de cette proposition et sa faisabilité. Quatre chercheurs étaient présents : Michel Baguette (CNRS Moulis), Marina Mergey (CERFE), Damien Picard (Université d'Angers), Jean-Pierre Vacher (BUFO & Université de Bâle). Ce rapport présente le déroulé et les conclusions de cette réunion, après avoir exposé quelques principes sur l'outil moléculaire.

II. L'UTILISATION DE L'OUTIL MOLÉCULAIRE SUR LE THÈME DES CONTINUITÉS ÉCOLOGIQUES EN FRANCE

II.1. Rappel du principe

Le recours à l'outil moléculaire consiste à effectuer une étude sur l'ADN d'un individu, support de son information génétique. Par le génotypage d'ADN d'individus différents, il est ensuite possible de comparer ces « cartes d'identité » et d'obtenir ainsi des distances génétiques entre individus ou populations et des indices de différenciation (F_{st} *) entre populations. Par conséquent, l'outil génétique permet d'estimer une dispersion efficace c'est-à-dire la dispersion d'individus qui a été suivie d'une reproduction réussie (Pour rappel : les individus dispersants et qui se reproduisent n'apportent pas pour autant de nouveaux allèles* à leur population d'accueil s'ils en sont justement génétiquement identiques). L'outil génétique ne permet donc pas au final de connaître exhaustivement tous les déplacements d'individus, notamment si ceux-ci ne se reproduisent pas. Par contre, il mesure bien des déplacements effectifs et relate donc la connectivité fonctionnelle* d'un paysage, à distinguer de la connectivité structurelle*.

Selon l'objectif de l'étude et son protocole, les distances génétiques sont mesurées entre populations ou entre individus d'une même population. Différentes analyses peuvent être effectuées :

- analyses de parentalité [quel degré de parentalité entre individus échantillonnés ?],
- détermination de la structuration génétique entre populations [les individus échantillonnés peuvent-ils être assignés à leurs populations d'origine, autrement dit chaque population a-t-elle ou non une identité génétique particulière permettant l'identification de l'origine de chaque individu ?] (Pour rappel : il peut ne pas être possible d'assigner les individus à leurs populations d'origine si par exemple le déplacement d'individus entre populations est trop important pour permettre aux populations d'avoir une identité génétique particulière),
- analyse des causes de structuration génétique [la distance génétique observée est-elle due simplement à la distance géographique ou existe-t-il des facteurs paysagers ?].

II.2. L'utilisation de l'outil moléculaire en France

Le MNHN-SPN et l'Office pour les insectes et leur environnement (OPIE) réalisent depuis janvier 2012 un travail de rédaction de synthèses bibliographiques sur certaines espèces de cohérence nationale TVB (cf. encadré plus loin).

Cet exercice a permis de recenser dans la littérature un certain nombre d'études génétiques couvrant en tout ou partie la France. Le recensement exposé ci-après n'est pas exhaustif mais il permet de témoigner du nombre important d'études aujourd'hui existantes sur ce sujet et de montrer également la diversité des contextes et objectifs de ces études. Concernant les insectes, les études génétiques référencées par les synthèses bibliographiques concernent exclusivement des pays étrangers.

Synthèses bibliographiques sur certaines espèces proposées pour la cohérence nationale de la TVB

Ce travail est réalisé conjointement par le MNHN-SPN et l'OPIE.

L'objectif est de compiler la connaissance la plus évidente et la plus actuelle concernant les déplacements et les besoins de continuités de quelques unes des espèces proposées pour la cohérence nationale de la TVB. Le choix des espèces proposées pour la cohérence nationale de la TVB bénéficiant d'une synthèse a été effectué en privilégiant celles proposées dans le plus grand nombre de régions.

Ces synthèses peuvent constituer une base d'information pour l'ensemble des intervenants impliqués dans la mise en œuvre de la TVB. Chaque synthèse passe en revue différentes échelles et différents traits de vie de l'espèce considérée. Plusieurs items retranscrivent donc des conclusions d'études utilisant l'outil moléculaire, tels que la phylogéographie et la phylogénie, l'impact de la fragmentation ou encore l'importance de la structure paysagère.



Les synthèses TVB sont mises en lignes sur le site internet du Centre de ressources Trame verte et bleue : <http://www.trameverteetbleue.fr>

Espèces concernées par une synthèse biblio TVB pour lesquelles des études génétiques sur des populations françaises existent :

Campagnol amphibie :

CENTENO-CUADROS A., DELIBES M. & GODOY J.-A. (2009a). Dating the divergence between Southern and European water voles using molecular coalescent-based methods. *Journal of zoology*. Numéro 279. Pages 404-409.

CENTENO-CUADROS A., DELIBES M. & GODOY J.-A. (2009b). Phylogeography of Southern Water Vole (*Arvicola sapidus*): evidence for refugia within the Iberian glacial refugium?. *Molecular biology*. Numéro 18. Pages 3652-3667.

Cerf élaphe :

HARTL G.-B.. *Les conséquences de la fragmentation du paysage sur les mammifères : bilan des études génétiques - Étude de cas 1 : Le Cerf européen en liberté*. Pages 39-40. In: CETE DE L'EST. 3ème rencontre « Routes et faune sauvage ». Strasbourg du 30 septembre au 2 octobre 1998. Actes du colloque. Ministère de l'équipement, des transports et du logement et Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement. 460 pages.

HARTL G.-B., ZACHOS F.-E., NADLINGER K., RATKIEWICZ M., KLEIN F. & LANG G. (2005). Allozyme and mitochondrial DNA analysis of french Red deer (*Cervus elaphus*) populations : genetic structure and its implications for management and conservation. *Mammalian biology*. Volume 70. Numéro 1. Pages 24-34.

Cincle plongeur :

HOURLAY F. (2011). *Impacts des changements climatiques passés et présents sur la génétique et la démographie du Cincle plongeur (Cinclus cinclus)*. Thèse pour l'obtention du diplôme de Docteur en Sciences biologiques de l'Université de Liège. 465 pages.

HOURLAY F., LIBOIS R., D'AMICO F., SARA M., O'HALLORAN J. & MICHAUX J.-R. (2008). Evidence of a highly complex phylogeographic structure on a specialist river bird species, the dipper (*Cinclus cinclus*). *Molecular phylogenetics and evolution*. Numéro 49. Pages 435-444.

Chouette Chevêche :

Auteur inconnu In: GÉNOT J.-C. & LECOMTE P. (2002). *La chevêche d'Athéna - biologie, mœurs, mythologie, protection*. Éditions Delachaux & Niestlé. Paris, France. 143 pages

Gorgebleue à miroir :

JOHNSON A., ANDERSSON S., FERNANDEZ J.-G., KEMPENAEERS B., PAVEL V., QUESTIAU S., RAESS M., RINDAL E. & LIFJELD J.-T. (2006). Molecular and phenotypic divergence in the bluethroat (*Luscinia svecica*) subspecies complex. *Molecular ecology*. Numéro 15. Pages 4033-4047.

QUESTIAU S. (1998). *Évolution intraspécifique et système de reproduction de la Gorgebleue à miroir Luscinia svecica = Intraspecific evolution and mating system in the Bluethroat Luscinia svecica.* Thèse universitaire de doctorat. Taberlet Pierre, Eybert Marie-Christine (Co-Directeurs de thèse). Université de Grenoble 1. Saint-Martin-d'Hères, France. 98 pages.

QUESTIAU S., EYBERT M.-C., GAGINSKAYA A.-R., GIELLY L. & TABERLET P. (1998). Recent divergence between two morphologically differentiated subspecies of bluethroat (Aves: *Muscicapidae: Luscinia svecica*) inferred from mitochondrial DNA sequence variation. *Molecular ecology*. Numéro 7. Pages 239-245.

ZINK R.-M., DROVETSKI S.-V., QUESTIAU S., FADDEV I., NESTEROV E.-V., WESTBERG M.-C. & ROHWER S. (2003). Recent evolutionary history of the bluethroat (*Luscinia svecica*) across Eurasia. *Molecular ecology*. Numéro 12. Pages 3069-3075.

Grand rhinolophe :

ROSSITER S.-J., BENDA P., DIETZ C., SHUYIZHANG & JONES G. (2007). Rangewide phylogeography in the Greater horseshoe bat inferred from microsatellites: implications for population history, taxonomy and conservation. *Molecular ecology*. Numéro 16. Pages 4699-4714.

Lézard vivipare :

LALOI D., RICHARD M., LECOMTE J., MASSOT M. & CLOBERT J. (2004). Multiple paternity in clutches of common lizard *Zootoca vivipara*: data from microsatellite markers. *Molecular ecology*. Numéro 13. Pages 719-723.

SURGET-GROBA Y., HEULIN B., GUILLAUME C.-P., THORPE R.-S., KUPRIYANOVA L.-M.-S., VOGGRIN N., MASLAK R., MAZZOTTI S., VENCZEL M., GHIRA I., ODIERNA G., LEONTYEVA O., MONNEY J.-C., SMITH N.-D. (2001). Intraspecific phylogeography of *Zootoca vivipara* and the evolution of viviparity. *Molecular phylogenetics and evolution*. Volume 18. Numéro 3. Pages 449-459.

Loutre d'Europe :

RANDI E., DAVOLI F., PIERPAOLI M., PERTOLDI C., MADSEN A. & LOESCHKE V. (2003). Genetic structure in otter (*Lutra lutra*) populations in Europe : implications for conservation. *Animal conservation*. Volume 6. Numéro 1. Pages 1-10.

Pélodyte ponctué :

JOURDAN-PINEAU H. (2010). *Pélodyte ponctué : Petites histoires évolutives Variabilité des traits d'histoire de vie en populations fragmentées : stratégies de reproduction chez le Pélodyte ponctué, Pelodytes punctatus (Anoure)*. Thèse en vue d'obtenir le grade de Docteur de l'Université Montpellier 2, Discipline : Évolution, Écologie, Ressources Génétiques, Paléontologie. 216 pages.

JOURDAN-PINEAU H., DAVID P. & CROCHET P.-A. (2012). Phenotypic plasticity allows the Mediterranean parsley frog *Pelodytes punctatus* to exploit two temporal niches under continuous gene flow. *Molecular ecology*. Volume 21. Numéro 4. Pages 876-886.

VEITH M., FROMHAGE M., KOSUCH J. & VENCES M. (2006). Historical biogeography of Western Palaearctic pelobatid and pelodytid frogs: a molecular phylogenetic perspective. *Contributions to zoology*. Volume 75. Numéro 3/4. Pages 109-120.

Triton marbré :

JEHLE R., ARNTZEN J.-W., BURKE T., KRUPA A.-P. & HÖDL W. (2001). The annual number of breeding adults and the effective population size of syntopic newts (*Triturus cristatus*, *T. marmoratus*). *Molecular ecology*. Numéro 10. Pages 839-850.

JEHLE R., WILSON G.-A., ARNTZEN J.-W. & BURKE T. (2005). Contemporary gene flow and the spatio-temporal genetic structure of subdivided newt populations (*Triturus cristatus*, *T. marmoratus*). *Journal of evolutionary biology*. Numéro 18. Pages 619-628.

Vipère péliade :

URSENBACHER S., MONNEY J.-C. & FUMAGALLI L. (2009). Limited genetic diversity and high differentiation among the remnant adder (*Vipera berus*) populations in the Swiss and French Jura Mountains. *Conservation genetics*. Numéro 10. Pages 303-315.

II.3. Questions auxquelles peut répondre l'outil moléculaire

Ce panel d'études montre que, tout en restant dans le domaine des déplacements et des continuités écologiques, l'outil moléculaire peut permettre d'atteindre des objectifs de connaissance à différentes échelles spatio-temporelles, comme :

- retracer l'histoire d'une espèce (phylogénie*, phylogéographie*), à l'échelle de son aire de répartition mondiale ou nationale,
- connaître l'organisation spatiale d'une espèce (populations distinctes, organisation en métapopulation*, ...) : de telles études permettent de constater si des populations distinctes existent à une échelle donnée et si celles-ci échangent ou non des individus (connectivité fonctionnelle),
- déterminer le degré de diversité génétique au sein d'une même entité (population par exemple), en connaissant son degré d'hétérozygotie*.

Dit autrement, l'outil moléculaire permet :

- de connaître les phénomènes passés liés au climat et d'envisager ceux à venir,
- de connaître l'impact fragmentant d'éléments existants (infrastructures de transports, urbanisation, artificialisation des sols au sens large),
- de connaître les conséquences de reconnections/suppression d'éléments fragmentants.

Enfin, si l'on constate que l'outil moléculaire est utilisé depuis plusieurs années (années 1990) dans le monde de la recherche pour acquérir de la connaissance fondamentale (comportement, répartition, ...), il commence déjà à être employé dans le domaine du projet et de l'expertise. Il permet ainsi d'aider les décideurs et les gestionnaires à quantifier l'impact d'aménagements et d'activités humaines (carriers par exemple : thèse MNHN/UNICEM Théo Flavenot sur Crapaud calamite et Crapaud commun) ou à connaître les effets d'action de restauration (Blanchet *et al.*, 2010).

II.4. Groupes biologiques

Les références citées ci-dessus, extraites des synthèses bibliographiques TVB concernent tous les groupes biologiques vertébrés visés par la liste des espèces de cohérence nationale TVB :

- les reptiles, aussi bien lézards que serpents,
- les amphibiens aussi bien anoures qu'urodèles,
- les mammifères, aussi bien cervidés que mustélidés, micromammifères ou chiroptères,
- les oiseaux.

D'autre part, les groupes suivants apparaissent également concernés par des études génétiques, avec quelques références en exemple citées après :

- les poissons : par exemple Blanchet *et al.*, 2010 qui ont utilisé l'outil génétique pour évaluer l'état de fragmentation en milieu aquatique,
- les insectes : les synthèses bibliographiques TVB ont permis de référencer des études étrangères chez les Odonates (l'Agrion de Mercure (*Coenagrion mercuriale*) a par exemple fait l'objet d'études génétiques en Angleterre telles que Watts *et al.*, 2004 et Watts *et al.*, 2006) et chez les Rhopalocères (par exemple le Damier de la Succise (*Euphydryas aurinia aurinia*) avec Joyce & Pullin, 2003 (Angleterre) et Vergeer *et al.*, 2003 (Pays-Bas) ou l'Azuré du Serpolet (*Maculinea arion*) avec Sielezniew & Rutkowski, 2011 (Pologne)). En revanche, les études génétiques semblent moins développées chez les Orthoptères faisant l'objet d'une synthèse bibliographique TVB. Pour

autant, le groupe des Orthoptères se prête lui-aussi à l'utilisation de cet outil (des études génétiques existent comme Vandergast *et al.*, 2007 à l'étranger),

- les araignées : à titre d'exemple Ramirez & Haakonsen, 1999 ou Roeloffs & Riechert, 1988,

- les mollusques : par exemple les limaces (*Arion lusitanicus*, *Arion rufus*, *Arion ater*) font actuellement l'objet d'études phylogénétiques en Suisse,

- la flore : la synthèse bibliographique réalisée par la Fédération des conservatoires botaniques nationaux (FCBN, 2011) a permis de mettre en évidence de nombreuses études mobilisant la génétique pour étudier les besoins des populations d'espèces végétales dans une logique de réseau écologique (à titre d'exemple : Brzosko *et al.*, 2002, Brzosko *et al.*, 2009, Kircher *et al.*, 2003 citées ci-dessous).

BLANCHET S., REY O., ETIENNE R., LEK S., LOOT G. (2010). Species-specific responses to landscape fragmentation: implications for management strategies. *Evolutionary applications*. Numéro 3. Pages 291-304.

BRZOSKO E., WROBLEWSKA A., RATKIEWICZ M. (2002). Spatial genetic structure and clonal diversity of island populations of lady's slipper (*Cypripedium calceolus*) from the Biebrza National Park (northeast Poland). *Molecular ecology*. Numéro 11. Pages 2499-2509.

BRZOSKO E., WROBLEWSKA A., RATKIEWICZ M., TILL-BOTTRAUD I., NICOLE F., BARANOWSKA U. (2009). Genetic diversity of *Cypripedium calceolus* at the edge and in the centre of its range in Europe. *Ann. bot. fennici*. Numéro 46. Pages 201-214.

CAMPAGNE P., BAUMEL A., AFFRE L., JUIN M., DUONG N., ROCHE P., TATONI T. (2009). Genetic signs of connectivity in *Primula vulgaris* (Primulaceae) in a hedgerow network landscape. *Comptes rendus biologies*. Numéro 332. Pages 652-661.

JOYCE D. A. & PULLIN A. S. (2003). Conservation implications of the distribution of genetic diversity at different scales: a case study using the marsh fritillary butterfly (*Euphydryas aurinia*). *Biological conservation*. Numéro 114. Pages 453-461.

KIRCHNER F., FERDY J.-B., ANDALO C., COLAS B., MORET J. (2003). Role of corridors in plant dispersal: an example with the endangered *Ranunculus nodiflorus*. *Conservation biology*. Numéro 17. Pages 401-410.

RAMIREZ M.-G. & HAAKONSEN K.-E. (1999). Gene flow among habitat patches on a fragmented landscape in the spider *Argiope trifasciata* (Araneae: Araneidae). *Heredity*. Volume 83, Issue 5, pages 580-585.

ROELOFFS R. & RIECHERT S.-E. (1988). Dispersal and population-genetic structure of the Cooperative Spider, *Agelena consociata*, in West African Rainforest. *Evolution*. Volume 42. Numéro 1. Pages 173-183.

SIELEZNIEW M. & RUTKOWSKI R. (2011). Population isolation rather than ecological variation explains the genetic structure of endangered myrmecophilous butterfly *Phengaris (=Maculinea) arion*. *Journal of insect conservation*. Numéro 16. Pages 39-50.

VANDERGAST A.-G., BOHONAK A.-J., WEISSMAN D.-B. & FISHER R.-N. (2007). Understanding the genetic effects of recent habitat fragmentation in the context of evolutionary history: phylogeography and landscape genetics of a southern California endemic Jerusalem cricket (Orthoptera: Stenopelmidae: Stenopelmatus). *Molecular Ecology*. Volume 16. Numéro 5. Pages 977-992.

VERGEER P., RENGELINK R., COPAL A. & JOOP OUBORG N. (2003). The interacting effects of genetic variation, habitat quality and population size on performance of *Succisa pratensis*. *Journal of Ecology*. Numéro 19. Pages 18-26.

WATTS P. C., ROUQUETTE J. R., SACCHERI I. J., KEMP S. J. & THOMPSON D. J. (2004). Molecular and ecological evidence for small scale isolation by distance in an endangered damselfly, *Coenagrion mercuriale*. *Molecular ecology*. Numéro 13. Pages 2931-2945.

WATTS P. C., ROUSSET F., SACCHERI I. J., LEBLOIS R., KEMP S. J. & THOMPSON D. J. (2006). Compatible genetic and ecological estimates of dispersal rates in insect (*Coenagrion mercuriale*: Odonata: Zygoptera) populations: analysis of 'neighbourhood size' using a more precise estimator. *Molecular ecology*. Numéro 16. Pages 737-751.

Au final, un très large panel de groupes biologiques, invertébrés et vertébrés, faune et flore font ou ont fait l'objet d'études génétiques concernant les continuités écologiques et la fragmentation. Rappelons que la molécule d'ADN est commune à l'ensemble du vivant et que donc, par définition, tous les groupes peuvent potentiellement faire l'objet de telles études. Pour un suivi biodiversité, c'est précisément un intérêt majeur de cet outil.

II.5. Échantillons possibles

Les analyses génétiques peuvent se faire à partir d'une grande diversité de méthodes d'échantillonnage de l'ADN dont beaucoup sont non invasives. Sont possibles :

- des prélèvements directs (sur l'animal vivant ou mort) : frottis buccaux, prise de sang, prélèvement d'un fragment de tissu (muscle par exemple) voire d'une partie du corps (queue sécable des lézards par exemple) ;
- des prélèvements indirects (indices de présences) : poils, fécès.

III. RÉUNION DE TRAVAIL SUR LA FAISABILITÉ D'UTILISER L'OUTIL GÉNÉTIQUE POUR LE SUIVI DE LA TRAME VERTE ET BLEUE EN FRANCE

III.1. Identification préalable d'experts en génétique

Le recensement d'études génétiques effectué dans le cadre des synthèses bibliographiques TVB et la veille que le MNHN-SPN mène sur cette thématique ont permis d'identifier différents contacts francophones, susceptibles d'être sollicités pour la réunion de travail prévue. Ces contacts sont répertoriés dans le tableau 1 ci-après.

Tableau 1 : Contacts francophones identifiés pour la réunion de travail.

Prénom	Nom	Laboratoire	Groupe	Exemple d'étude réalisée ou en cours	Objectif
Michel	BAGUETTE	CNRS de Moulis	Papillons	Recherche sur papillons du genre <i>Pieris</i>	Recherche fondamentale et réalisation de modèles
Simon	BLANCHET	CNRS de Moulis	Poissons	Études sur poissons (Blanchet <i>et al.</i> , 2010)	Évaluer l'état de fragmentation en milieu aquatique
Sophie	QUESTIAU	Université Rennes 1	Oiseaux	Thèse sur la Gorgebleue à miroir (Questiau, 1998)	Phylogénie et phylogéographie de l'espèce au niveau national
Pierre	JOLY	Université Lyon 1	Amphibiens	Recherches fondamentales sur amphibiens	Recherche fondamentale et réalisation de modèles
Damien	PICARD	Université d'Angers	Amphibiens	Étude sur Salamandre tachetée, Triton alpestre et Crapaud commun (Publication en cours)	Impact du réseau routier et ferroviaire sur l'organisation spatiale de populations d'amphibiens
Frédéric	HOURLAY	Université de Liège (Belgique)	Oiseaux	Thèse sur le Cincle plongeur (Hourlay, 2011)	Phylogénie et impact du changement climatique sur l'aire de répartition
Jean-Pierre	VACHER	Chargé de mission à BUFO + Institut de Biologie de la conservation, Université de Bâle	Serpents Amphibiens	Stage de M2 sur la Coronelle lisse en Alsace (Vacher, 2010 ; Vacher <i>et al.</i> , soumis)	Structuration génétique des populations à l'échelle régionale

David LALOI	Université Pierre et marie Curie	Lézards	Recherche fondamentale sur le Lézard vivipare	Multipaternité chez le Lézard vivipare
Marina MERGEY	Centre de recherche et de formation en éco-éthologie (CERFE)	Mammifères (Mustélidés)	Thèse sur la Martre des pins (Mergey, 2007)	Réponse comportementale à la fragmentation
Bertrand GAUFFRE	Centre d'Études Biologiques de Chizé	Mammifères (Micromammifères)	Thèse sur le Campagnol des champs (Gauffre, 2009)	Étude des flux de gènes chez ce rongeur dans un paysage agricole intensif
Christian MIQUEL	Laboratoire d'Écologie Alpine (LECA)	Mammifères (Grands carnivores)	Analyses génétiques grands carnivores (Publication en cours sur le Lynx)	Suivi de la répartition et des mouvements de colonisation éventuels de l'Ours, du Loup et du Lynx en France
Eric MARBOUTIN	Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS)	Mammifères (Grands carnivores)	Coordination études sur grands carnivores à l'ONCFS (Publication en cours sur le Lynx)	Suivi de la répartition et des mouvements de colonisation éventuels de l'Ours, du Loup et du Lynx en France

Références citées :

GAUFFRE B. (2009). *Flux géniques et dispersion chez un rongeur à démographie cyclique dans un paysage agricole intensif*. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur en Biologie des populations et écologie de l'Université de Montpellier II. 188 pages.

MERGEY M. (2007). *Réponses des populations de martres d'Europe (Martes martes) à la fragmentation de l'habitat : mécanismes comportementaux et conséquences*. Centre de Recherche et de Formation en Eco-éthologie (CERFE). Thèse soutenue pour l'obtention du grade de Docteur en Eco-éthologie de l'Université de Reims Champagne-Ardenne.

VACHER J.-P. (2010). *Génétique des populations et conservation de la Coronelle lisse Coronella austriaca (Squamata : Colubridae) en Alsace*. Rapport de stage effectué à l'Institut de biologie de la conservation de l'Université de Bâle (NLU), soutenu pour l'obtention du M2 « Systématique, évolution et paléobiodiversité » du Muséum national d'Histoire naturelle.

VACHER J.-P. & URSENBACHER S. (soumis). *Is fragmentation an actual threat for small vertebrates? The example of the smooth snake Coronella austriaca (Reptilia : Colubridae) in Alsace, France. Amphibia-Reptilia*.

III.2. Périmètre de la réunion et ordre du jour

• Rappel du Périmètre de la réunion :

Date : 21 août 2012

Horaire : 14h-17h

Lieu : MNHN Jardin des plantes (salle de réunion 2ème étage de la Maison Buffon (36 rue Geoffroy Saint-Hilaire, en face de la Grand Galerie de l'Évolution))

Participants :

Romain Sordello, MNHN-SPN

Jennifer Amsallem, Irstea Montpellier

Victoria Dubus, Irstea Montpellier

Michel Baguette, CNRS Moulis

Marina Mergey, CERFE

Damien Picard, Université d'Angers

Jean-Pierre Vacher, BUFO & Université de Bâle

Personnes excusées :

Frédéric Hourlay

David Laloi, UPMC

Éric Marboutin, ONCFS

Sophie Questiau

Simon Blanchet, CNRS Mouli

• **Rappel de l'Ordre du jour :**

1) Tour de table des participants et présentation du déroulé de la réunion

2) Présentation du cadre de la réflexion menée et des objectifs de la réunion :

- Réflexion générale engagée sur le suivi et l'évaluation de la TVB par Jennifer Amsallem
- Proposition d'utiliser l'outil génétique et protocole pensé à ce stade par Romain Sordello
- Objectifs de la réunion

3) Présentation des travaux menés par les différents participants dans le domaine de la génétique du paysage et du suivi de populations.

4) Discussion entre les participants pour étudier collectivement la faisabilité d'utiliser l'outil génétique pour le suivi de la TVB suivant une grille d'analyse proposée : quelles espèces ? Quel échantillonnage ? Quels acteurs ? Quel coût prévoir ? Quels résultats en attendre ?

5) Conclusions et perspectives post-réunion

III.3. Retranscription des échanges

1) PRÉSENTATION DU CADRE DE LA RÉFLEXION MENÉE ET DES OBJECTIFS DE LA RÉUNION

Rappel de l'objectif de la réunion : étudier la faisabilité d'utiliser la génétique du paysage comme outil pour l'évaluation de la TVB.

La réunion va se dérouler en trois temps :

- une partie consacrée présentation du contexte par le MNHN/Irstea,
- une partie où les experts sollicités vont présenter leurs projets de recherche en génétique du paysage,
- une partie de discussion permettant, sur la base des projets présentés, d'étudier concrètement la faisabilité d'utiliser l'outil génétique dans la TVB.

2) PRÉSENTATION DU CADRE DE LA RÉFLEXION MENÉE ET DES OBJECTIFS DE LA RÉUNION

• **RÉFLEXION GÉNÉRALE ENGAGÉE SUR LE SUIVI ET L'ÉVALUATION DE LA TVB PAR IRSTEA**

Jennifer Amsallem expose le cadre de la réflexion menée actuellement sur le suivi-évaluation des SRCE.

Pour rappel, la TVB est une politique issue de la loi « Grenelle 2 », déclinée à l'échelle régionale à travers les SRCE.

La loi précise que le SRCE doit faire l'objet d'une évaluation tous les 6 ans, qui peut mener à une révision du schéma. L'État va publier un décret qui prévoit un dispositif de suivi et d'évaluation dans les SRCE.

Le but de l'évaluation est de se poser la question : « Les continuités écologiques ont-elles bien été préservées et/ou restaurées et comment les SRCE y ont-ils contribué ? »

Pour répondre à cette question, l'objectif est d'intégrer un dispositif de suivi en amont, dès la validation du schéma, pour anticiper l'évaluation à t+6.

Jennifer Amsallem rappelle, d'une manière générale, les objectifs d'une évaluation sont :

- de rendre compte,
- d'optimiser la gestion,
- de réorienter ou non,
- d'améliorer les connaissances.

Il existe deux types d'évaluation :

- l'évaluation au sens de « mesurer »,
- l'évaluation au sens de « porter un jugement » (celle qui nous concerne ici).

On distingue également habituellement la gestion intentionnelle (ce qui a été fait spécifiquement dans le cadre de la politique en question) et la gestion effective (la totalité de ce qui a été fait donc à la fois grâce à la politique en question et par les autres politiques et activités)

En conclusion, l'évaluation doit porter sur :

- l'évolution de l'état des continuités écologiques,
- les processus qui influencent cette évolution (favorables et dommageables),
- le SRCE et sa mise en œuvre : quel effet peut-il avoir sur l'évolution de l'état des continuités écologiques et sur les processus ayant une influence sur celles-ci ?.

Jennifer Amsallem rappelle que l'objectif de l'évaluation n'est pas de critiquer, mais d'améliorer la politique concernée.

Jennifer Amsallem présente les critères d'évaluation et les questions évaluatives retenues par l'équipe technique pour l'évaluation des SRCE.

Il a été choisi de s'appuyer sur des indicateurs pour assurer un suivi qui permette de répondre aux questions évaluatives. Ces derniers pourront être déclinés aux échelles régionale ou nationale suivant l'objectif poursuivi et les informations recueillies. Nous nous intéressons ici à l'échelle régionale : les études génétiques menées à l'échelle régionale pourraient ensuite être capitalisées à l'échelle nationale.

• **PROPOSITION D'UTILISER L'OUTIL GÉNÉTIQUE ET PROTOCOLE PENSÉ À CE STADE PAR LE MNHN**

Romain Sordello expose l'historique de la démarche :

- il rappelle que la TVB est pilotée par MEDDE, avec un appui par une équipe technique constituée d'IRSTEA, du MNHN, et de l'ONEMA,
- un premier stage en 2010 (Julie Chaurand) a permis de dégager des pistes d'indicateurs potentiels,
- le travail a ensuite été séparé en plusieurs blocs au sein de l'équipe technique TVB,
- le bloc « espèces et habitats » étant porté par le MNHN, ce dernier a rédigé plusieurs propositions et a notamment mis en avant l'utilisation de l'outil génétique.

Romain Sordello présente la méthode proposée. Le protocole pensé à ce stade consisterait à utiliser les espèces comme indicatrices de l'état de fragmentation de leur sous-trame de rattachement à partir de l'état de fragmentation de leurs populations à l'échelle régionale (par exemple, la Martre comme indicateur de la fragmentation de la sous-trame « forêt »).

Un des avantages de l'outil est qu'il permettrait de cibler véritablement la fragmentation des habitats, qui est l'objet majeur du projet TVB.

Une des limites de cet outil peut reposer sur le pas de temps des 6 ans retenu pour l'évaluation des SRCE car il est possible que les effets de la fragmentation ou d'une restauration ne soient pas visibles sur un plan génétique à cette échelle de temps.

Romain Sordello rappelle les principales questions à résoudre :

- l'outil est-il pertinent pour l'évaluation des SRCE ?,
- est-ce faisable techniquement, financièrement, administrativement (prélèvement d'individus d'espèces protégées par exemple) ?,
- quelle méthode doit être utilisée ?

Romain Sordello présente également le travail de synthèses bibliographiques actuellement réalisé par le MNHN et l'OPIE. Ce travail concerne quelques espèces proposées pour la cohérence nationale de la TVB, vertébrés et invertébrés sélectionnées pour couvrir un panel d'espèce le plus varié possible et le plus de régions.

3) PRÉSENTATION DES TRAVAUX MENÉS PAR LES PARTICIPANTS EN GÉNÉTIQUE DU PAYSAGE

Le tableau 2 expose de manière synthétique les projets présentés par les 4 experts.

• MICHEL BAGUETTE

Michel Baguette est chercheur au CNRS de Moulis.

Il rappelle que :

- le danger principal pour une population est de se retrouver dans une situation isolée. Il faut donc chercher à maintenir la connectivité entre les populations. C'est ainsi qu'on est venu au concept de réseau écologique,
- le problème réside dans le fait que la fonctionnalité des réseaux n'est pas souvent testée. Cette connectivité dépend principalement de l'individu.

Il présente trois recherches qu'il mène actuellement :

- sur deux papillons Nacré de la bistorte (*Boloria eunomia*) et Nacré de la canneberge (*Boloria aquilonaris*).
- sur le Lézard vivipare (*Lacerta vivipara*),
- sur le Crapaud Calamite (*Bufo calamita*),

Les deux premières études (lézards et papillons) s'inscrivent dans le programme de recherche TenLamas (voir <http://www.biodiversa.org/131>).

Sur les Nacrés :

L'étude se déroule sur une zone d'étude de 25 km x 30 km.

15 individus sont prélevés au minimum par site, par sexe et par population. L'échantillonnage se fait par prélèvement d'une patte. 13 loci* sont étudiés chez *B. eunomia* et 16 chez *B. aquilonaris*. Le développement des marqueurs microsatellites* a été nécessaire chez *B. eunomia* et a coûté 15 000 €.

Les analyses mettent en évidence chez *B. eunomia* 3 sites séparés dont deux sont isolés et un troisième est composé de plusieurs sous-populations connectées entre elles. L'outil génétique prouve par contre que des échanges ont lieu entre ces 3 sites et leur histoire peut être reconstituée. Un brassage génétique a bien lieu entre les 3 sites.

Ces résultats de la génétique sont comparés avec les données fournies par Capture-Marquage-Recapture* (CMR) réalisée sur le même site. L'étude CMR a été poussée au maximum en termes de pression d'échantillonnage (temps passé sur le terrain, etc.) de façon à s'approcher au maximum de l'exhaustivité. Pourtant, la CMR n'avait permis de constater qu'un seul individu migrant.

Cette étude permet donc de se rendre compte de la réelle plus value que constitue l'utilisation de l'outil génétique car il met en avant des mouvements en réalité plus importants entre les 3 sites étudiés. Ces échanges varient d'une année à l'autre et parfois un seul individu est échangé entre deux populations ; il est donc très difficile, même avec une CMR très assidue, de pouvoir révéler ces échanges.

Sur le Lézard vivipare :

L'étude est menée dans le Massif central (Mont Lozère) (jeu de données Jean-Clobert & David Laloï, université Pierre et Marie Curie). 50 individus sont prélevés à chaque fois dans 11 populations différentes soit 554 individus échantillonnés au final. L'échantillonnage se fait par prélèvement d'un bout de queue. 14 microsatellites ont été analysés. Les résultats montrent parfaitement un isolement par la distance. L'outil génétique permet ainsi de mettre en évidence une valeur d'isolement très faible, synonyme de flux de gènes très importants entre populations. Au contraire, la CMR, elle, réalisée préalablement, n'avait jamais permis de détecter des mouvements entre populations. Il existe en réalité sûrement des individus isolés, entre les populations connues, qui ne sont jamais capturés par CMR mais qui réalisent les échanges nécessaires entre les populations.

Sur le Crapaud calamite :

1) Le coût de déplacement des individus a d'abord été étudié expérimentalement par analyse :

- de la résistance de l'habitat : quelle distance parcourt l'individu avant de s'arrêter ? => Tests de déplacements d'individus sur des substrats différents ;
- du choix de l'habitat : quel habitat l'individu choisi entre deux ? => Expérience du Y avec deux substrats différents dans chaque branche.

2) Ces résultats expérimentaux ont permis de calibrer un modèle « coûts de déplacement » à l'échelle d'une zone d'étude sous SIG (attribution de coefficient de rugosité à chaque compartiment du paysage puis identification des chemins de moindre coût)

3) Confronter étape 2 à des résultats génétiques pour évaluer la réalité du modèle construit.

• **MARINA MERGEY : PROGRAMME « IN SITU »**

Le CERFE est une station de terrain, située dans les Ardennes, qui étudie la relation animal/environnement depuis 15 ans.

Une première étude a été menée sur la Martre à l'échelle interdépartementale (Mergey, 2007). Dans cette thèse ont été étudiés :

- 3 scénarii paysagers,
- 3 types de modèles :
 - Isolement par la distance,
 - Isolement par le coût,
 - Isolement par le coût net du paysage.

L'étude présentée ici s'intéresse, elle, à un panel de 8 espèces de mammifères à échantillonner sur 10 sites différents. Le but est d'analyser les déplacements des animaux dans le paysage en utilisant 3 types d'outils (outil

génétique, GPS et parasitologie). A noter que les outils GPS et parasitologie ne seront mis en œuvre que dans une petite partie de ces sites et sur une partie des espèces.

Les espèces ont été choisies pour :

- leur capacité de déplacement,
- leur spécificité pour l'habitat depuis des espèces ubiquistes (Renard roux) jusqu'à des espèces strictement forestières (Campagnol roussâtre), en passant par des espèces intermédiaires (Chat forestier, Blaireau, ...).

Les 10 sites d'études s'inscrivent dans un contexte intéressant pour les continuités écologiques : en Champagne-Ardenne, on reconnaît l'existence d'un arc de forêts dit « Arc Humide » avec, de l'autre côté d'une plaine céréalière très large, la montagne de Reims. Dans cette plaine agricole, on note la présence de 3 taches forestières correspondant à des camps militaires.

Les campagnes de terrain sont des campagnes conséquentes et un référent sera désigné dans chacun des sites pour faciliter la collecte. 30 individus sont à prélever par site et par espèce.

Le protocole de prélèvement est différent suivant les espèces retenues mais en général il possède un faible impact sur les individus (sauf Campagnol roussâtre) :

- Murin de Bechstein (*Myotis bechsteini*) : participation à la capture d'individus vivants pour les besoins d'autres études (le plus souvent menées par des associations naturalistes) puis réalisation d'un « punch » alaire (prélèvement d'un fragment circulaire d'aile). L'utilisation de guano a été abandonnée car il s'agit d'échantillon à ADN rare (peu d'ADN contenu) qui sera donc difficile ensuite à exploiter. Cette espèce est pour l'instant mise en suspens, dans l'attente de renforcer les collaborations avec les différents partenaires.

Problème pour cette espèce :

- il est difficile de capturer 30 individus,
- l'espèce n'est pas présente sur l'ensemble du périmètre de l'étude.

- Campagnol roussâtre (*Clethrionomys glareolus*) : utilisation de pièges INRA

Aucun problème a priori pour capturer les 30 individus. Un problème peut toutefois survenir si les captures ont lieu les années où les micromammifères ciblés sont en faible densité. Ce type d'espèce est connu pour subir des cycles importants de variation de densité. Concernant le Campagnol roussâtre les individus capturés sont sacrifiés.

- Hérisson d'Europe (*Erinaceus europaeus*) : prélèvement de poils sur individus vivants capturés (prélèvement sur individus de nuit, par observation aux jumelles). Des prélèvements sont également réalisés sur les cadavres retrouvés sur les routes si l'occasion se présente.
- Chevreuil européen (*Capreolus capreolus*), Renard roux (*Vulpes vulpes*) : utilisation de prélèvements issus de la chasse. Les échantillons de Renard devront certainement être complétés avec le prélèvement de tissu sur cadavres issus de collision routière.
- Pour les autres espèces (Martre des pins (*Martes martes*), Chat forestier (*Felis silvestris*), Blaireau d'Europe (*Meles meles*)) : Fèces ou poils relevés par transect et prélèvement sur cadavres retrouvés sur les routes.

Des demandes d'autorisation sont nécessaires pour certaines espèces et posent parfois problème.

10-12 microsatellites sont étudiés pour chaque espèce. Il faut compter environ 40 € par échantillon pour les analyses génétiques lorsqu'il s'agit de fèces (donc à ADN rare) et si recours à un sous-traitant. Le coût des analyses est fortement diminué si celles-ci sont effectuées en interne par le laboratoire menant l'étude et si elles sont réalisées à partir de prélèvements « non ADN rare » (tissu par exemple) : il faut dans ce cas compter environ 5 ou 6 euros l'échantillon.

Après analyses, un croisement entre la distance génétique et la distance géographique est ensuite réalisé.

Deux outils sont utilisés en complément de la génétique :

- Parasitologie : Certains parasites peuvent servir de « traceurs » chez certaines espèces (Chevreuil et Renard) : la comparaison des bouquets parasitaires permet de savoir si les individus ont fréquenté un même lieu (fréquentation quotidienne d'un site) et donc en déduire leur déplacement. Il s'agit d'un outil nouveau rarement utilisé dans les études de déplacements.

- Suivi GPS (prévu sur le Blaireau, Renard, Martre, Chevreuil et peut-être Chat forestier) en partenariat avec l'entreprise Nexxtep (travail sur GPS pour sportifs). Le GPS permet de savoir exactement où l'individu passe, et donc quels sont les éléments utilisés dans le paysage pour les déplacements (comment, intérieur/extérieur, quelle fréquence) et ceux évités ; ce que l'outil génétique ne permet pas de connaître.

Exemple pour le blaireau :

Le suivi GPS va être réalisé dans le cadre d'un projet financé par RTE, pour savoir si les lignes à très haute tension, et plus précisément la gestion systématique en coupe rase des milieux sous-jacents sur des bandes de plusieurs centaines de mètres, ont un impact sur les déplacements. Des colliers ont déjà été posés sur des blaireaux pour les besoins d'une thèse. Un point était relevé toutes les 2 minutes, puis des lignes droites sont tracées entre les points. L'étude fait ressortir sur certains trajets que l'individu passe principalement par les linéaires boisés dans une matrice agricole pour connecter deux endroits cibles tels que le terrier et une zone de fourragement. Il est estimé que la précision du trajet de l'individu obtenu par l'étude est d'environ 5 m.

Le suivi GPS n'est pas possible pour toutes les espèces ou possède certaines contraintes selon leur taille. La Martre par exemple supporte 30 g. maximum. La batterie des GPS ne dépassant pas ce poids est donc beaucoup plus petite que celle des GPS pouvant être posés sur le Renard ou le Chevreuil ; par conséquent le collier tient beaucoup moins longtemps. Or chez la Martre, la recapture pour poser de nouveaux colliers n'est pas envisageable. Nexxtep a donc été sollicité pour créer des colliers adaptés pour des espèces aussi petites que la Martre.

• **DAMIEN PICARD**

Le projet réalisé a duré 2 ans et a représenté un budget de 20 000 €.

L'objectif était d'évaluer l'effet fragmentant d'infrastructures linéaires de transport (routières et ferrées) anciennes (pour optimiser la probabilité de pouvoir constater des effets sur le plan génétique) et d'évaluer la reconnexion via des éléments transversaux aux structures linéaires comme des ponts végétalisés, des buses. L'ancienneté minimale des infrastructures est variable selon l'espèce et la taille de la population étudiée. Globalement, sur les amphibiens, il a été considéré qu'à partir de 20 ans, les autoroutes ont un effet barrière avéré sur le plan génétique.

La première difficulté a finalement été de dater les infrastructures car aucun registre officiel n'existe à ce sujet. La datation a donc été réalisée par comparaison de photos aériennes.

L'étude a portée sur trois espèces d'amphibiens : la Salamandre tachetée (*Salamandra salamandra*), le Crapaud commun (*Bufo bufo*) et le Triton alpestre (*Ichthyosaura alpestris*).

L'étude a été menée en Île-de-France dans les forêts domaniales d'Arminvilliers et de Notre Dame et dans le triangle de Coubert, zone réputée pour son haut degré de fragmentation du à un enchevêtrement d'infrastructure de transport.

Deux stratégies d'échantillonnage ont été adoptées en parallèle :

- des prélèvements localisés de 30 individus par localité,
- des prélèvements continu et régulier de quelques individus.

L'échantillonnage a été réalisé par prélèvement de salive (fourni un ADN de qualité) ou de fragment de tissu (bout de queue de larves de Salamandre).

Résultats obtenus :

- Pour la Salamandre tachetée :

Il existe bien une structuration génétique. Par contre la fragmentation la plus importante n'est pas apparue là où il y a les autoroutes. Ce sont les milieux ouverts qui constituent les zones de fragmentations principales. La structuration génétique moins forte observée pour les autoroutes ne provient probablement pas d'une limitation à la dispersion moins importante des autoroutes mais plutôt de leurs présences plus récentes. On constate un début d'isolement par la distance d'un côté à l'autre de la zone (environ 15 km). La voie ferrée fait apparaître peu de distance génétique. L'impact de la ligne en termes de mortalité directe n'a pas été testé.

La Salamandre n'emprunte pas toutes les structures transversales aux autoroutes de façon identique. Ils ne passent pas du tout sur un pont piéton végétalisé (peut-être du fait des pollutions « sonore » et lumineuse engendrées par la voie routière qui font que le pont reste non attrayant). En revanche, ils empruntent une buse de grande section dans laquelle coule un ru.

Des travaux de restauration entre deux forêts isolées par un milieu ouvert sont en cours depuis 3 ans et la salamandre commence à recoloniser. Ce résultat est important car, s'il existe beaucoup d'études mesurant l'effet barrière, il y en a peu sur les mouvements de reconnexion.

- Pour le Crapaud commun :

L'étude montre que les deux populations les plus isolées géographiquement (par une autoroute normalement infranchissable), de part et d'autre de l'autoroute, ne sont en fait pas pour autant isolées génétiquement car les échanges se font par l'intermédiaire des populations voisines « relais », de proche en proche : en quelques sortes les individus contournent l'infrastructure autoroutière en se déplaçant de population en population jusqu'au premier passage utilisable.

La voie ferrée ne constitue pas non plus une barrière pour les crapauds.

Comme pour la Salamandre, le Crapaud commun n'emprunte pas le pont et emprunte la buse. Par contre, il passe plus facilement que la Salamandre dans les milieux ouverts.

- Pour le Triton alpestre :

Aucune structuration génétique n'a été observée sur toute la zone d'étude. Les individus présentent une répartition continue qui ne correspond pas à des populations génétiquement distinctes. Les œufs se dispersent passivement par le vent, dans les cours d'eau, ou sont véhiculés par les animaux.

Cette étude montre :

- qu'il est intéressant de regarder l'utilisation des passages « ordinaires » (non destinés à la faune). Ces passages peuvent suffire à la petite faune pour maintenir des populations connectées,
- que les amphibiens présentent en réalité souvent une distribution homogène dans un paysage (cas flagrant pour le Triton alpestre) et il s'avère donc difficile de parler véritablement de populations distinctes même si en période de reproduction leur regroupement sur les mares le laisse croire,
- que la distance occasionnant une différenciation génétique chez une espèce n'est pas forcément liée à sa taille. Dans un autre contexte, une étude sur un nématode qui vit dans le sol a mis en avant une dispersion jusqu'à 120 km, avec aucune différence significative d'un point de vue génétique sur cette distance. Les larves se dispersent dans les cours d'eau et grâce aux crues et les œufs sont aussi véhiculés par les animaux.

Damien Picard participe actuellement à une autre étude, le projet CUBA, destiné à comparer trois outils :

- télémétrie,
- capture/marquage/recapture,
- l'outil moléculaire.

Ce projet se déroule aux environs de Dunkerque et porte sur plusieurs espèces.

• ***JEAN-PIERRE VACHER***

Jean-Pierre Vacher mène différents projets au sein de l'association BUFO en Alsace. Il travaille sur 3 espèces de reptiles et amphibiens.

Les amphibiens présentent des avantages pour une étude moléculaire sur la fragmentation car :

- ils sont généralement sensibles aux infrastructures et à la fragmentation,
- ils sont faciles à échantillonner (manipulation des individus et prélèvement),
- leur écologie est bien connue (traits d'histoire de vie),
- des microsatellites sont disponibles pour beaucoup d'espèces.

Concernant les serpents :

- ils sont intéressants également pour les études de fragmentation (notamment pour les grandes espèces, qui ont des capacités de dispersion plus grandes),
- leur écologie est bien connue,
- ils sont très sensibles à l'écrasement (donc fragmentation par la mortalité directe due au trafic), surtout en ce qui concerne les grandes espèces,
- il existe des phases de dispersion chez les adultes en fonction du sexe et de la période,
- ils peuvent mettre en place des adaptations comportementales (pour ne pas aller sur l'autoroute, dispersion par les talus),
- l'écologie des espèces est bien connue dans l'ensemble,

Par contre, si la manipulation reste aisée chez les serpents, leur capture en nombre suffisant est plus difficile que pour les amphibiens, y compris avec le recours à des plaques. Il est souvent compliqué de trouver 30 individus sur un même site (plutôt 10 à 15 généralement). Les lézards sont déjà plus faciles mais comme ils sont rarement utilisés en écologie de la conservation, peu de données sont disponibles même si les travaux progressent petit à petit.

Les microsatellites sont également moins développés chez les reptiles que chez les amphibiens. Il en existe pour certaines espèces (Lézard vivipare, Lézard des murailles, Orvet fragile par exemple). Mais si les marqueurs sont à développer, les coûts de l'étude sont plus élevés.

Jean-Pierre Vacher met en garde sur le fait qu'avant de se lancer sur une étude il faut bien vérifier la qualité des marqueurs microsatellites pour l'espèce car les résultats en découleront. Une phase de test d'environ 2 semaines par espèce doit être prévue pour construire le protocole.

Jean-Pierre Vacher souligne quelques points importants dans une démarche d'étude génétique :

- privilégier une approche multi-taxon,

- privilégier une approche multi-outil : utiliser uniquement la génétique peut s'avérer limitant et il est souvent intéressant d'intégrer d'autres approches telles que l'estimation de l'effectif de population (méthode CMR) ou l'utilisation de l'espace (suivi par GPS) pour obtenir des résultats complets.

Il faut compter environ 10-12 € par échantillon pour une analyse génétique (terrain non compris). Le coût du terrain reste la part la plus importante dans un budget d'étude génétique.

Jean-Pierre Vacher présente trois études génétiques auxquelles il a contribué :

- une étude sur la **Coronelle lisse** (*Coronella austriaca*) en région Alsace (Vacher & Ursenbacher) : 8 microsatellites ont été étudiés et ont révélé une très faible structuration génétique à l'échelle des populations étudiées. Ces résultats montrent que la répartition de l'espèce à l'échelle régionale est sûrement sous-estimée, les populations sont connectées alors que visuellement cela n'est pas intuitif ;

- une étude sur le **Crapaud vert** (*Bufo viridis*) (Gerard, Vacher & Ursenbacher) : étude de 11 microsatellites dans deux isolats géographiques dans le nord (Strasbourg) et le sud (Mulhouse) de l'Alsace. 30 individus ont été prélevés par population. Les analyses génétiques ont révélées une corrélation entre cet isolat géographique et un isolat génétique. Également, l'outil génétique a permis de mettre en évidence, pour l'isolat du Nord (Strasbourg), une différenciation génétique marquée entre deux populations Ouest et Est ;

- une étude sur le **Sonneur à ventre jaune** (*Bombina variegata*) (Vacher & Ursenbacher) : étude en cours à cheval sur Alsace/Lorraine dont l'objectif était de connaître des éventuels cas d'hybridation entre *B. variegata* et *B. bombina* récemment introduit en Lorraine. 4 points d'échantillonnages ont été réalisés à 5-7 km d'écart. Les résultats montrent qu'il n'existe actuellement pas de contact entre les deux espèces. Concernant le Sonneur à ventre jaune, il n'existe pas de structuration entre les 4 points d'échantillonnages, dont les deux plus éloignés sont distants de 21 km. Par contre, il existe un effet de la distance sur l'isolement génétique des populations.

Tableau 2 : Retranscription synthétique des projets des experts présents

	Michel Baguette Projet 1 : Papillons	Michel Baguette Projet 2 : Léopard vivipare	Michel Baguette Projet 3 : Crapaud calamite	Marina Mergey Projet <i>In situ</i> Mammifères forestiers	Damien Picard Projet Amphibiens impact des anciennes autoroutes	Jean-Pierre Vacher Projet 1 : hybridation Sonneur ventre jaune/ventre de feu	Jean-Pierre Vacher Projet 2 : Crapaud vert	Jean-Pierre Vacher Projet 3 : Coronelle lisse
Échelle d'étude (site, département, région, ...)	Échelle d'un paysage Plateaux isolés dans le paysage Zone d'étude de 25x30km (=> 750 km² environ)	Échelle d'un paysage Massif central (Mont Lozère)	Échelle d'un paysage Plaine de Fagne	Régionale (Champagne-Ardenne)	Commune	Frontière Lorraine/Alsace Zone d'étude en Lorraine = environ 21 km de long	Région Alsace	Région Alsace
Acteurs impliqués	CNRS de Moulis Université de Louvain	CNRS de Moulis	Université de Louvain (CNRS de Moulis)	CERFE Les 3 PNR de la région, ONF, Fédé de chasse, Futur Parc National + récemment : PNR Avesnois pour certaines espèces	Université Angers	BUFO + Université de Bâle	BUFO + Université de Bâle	BUFO + Université de Bâle
Objectifs de l'étude	Comparaison entre les résultats d'études précédentes par CMR et les nouveaux résultats par analyse génétique Mise en avant des avantages de la génétique Test des estimateurs de connectivité du paysage	Comparaison entre les résultats d'études précédentes par CMR et les nouveaux résultats par analyse génétique Mise en avant des avantages de la génétique Test des estimateurs de connectivité du paysage	Comparer les résultats de la génétique avec les résultats issus d'expérimentation (sélection et résistance de l'habitat) ayant donné lieu à un modèle de chemin de moindre coûts.	Déterminer la capacité du paysage à fournir une connectivité fonctionnelle Identifier barrières et corridors, simultanément, et pour un panel d'espèce, en croisant 3 outils de diagnostic dont la génétique	Faire ressortir barrières et corridors pour chaque espèce Évaluer la connectivité fonctionnelle et l'efficacité d'ouvrages de franchissements ordinaires (buse, pont piéton végétalisé)	Enjeux de connexion avec la population de Sonneur à ventre de feu et donc potentiellement d'hybridation (situation identique à celle du Triton crêté dans la région du lac Léman)	Vérifier que l'isolement géographique observé chez le Crapaud vert en Alsace (2 populations disjointes) est associé ou non à un isolement sur le plan génétique	Impact de la fragmentation sur l'espèce (réseau autoroutier, agriculture intensive) Révéler la structuration génétique des populations à l'échelle régionale
Raison du choix de l'outil génétique (par ex : plus value par rapport à ce qu'auraient apporté d'autres méthodes)	Comparaison de différentes méthodes d'estimation de la connectivité : validation des estimateurs	Comparaison de différentes méthodes d'estimation de la connectivité : validation des estimateurs	Validation du modèle chemin de moindre coût	Comparaison de l'outil génétique avec 2 autres méthodes (GPS et parasitologie) car les résultats obtenus sont complémentaires	Qualité de la réponse comparée au coût et à la durée de l'étude	Pas d'étude existante sur la génétique des populations de cette espèce	L'objectif même de l'étude est de s'intéresser à l'isolement génétique (connectivité fonctionnelle), en comparaison de l'isolement géographique (connectivité structurale)	Facilité à recueillir des informations pour une espèce très discrète et difficile à suivre par le biais d'autres méthodes

Tableau 2 (suite) : Retranscription synthétique des projets des experts présents

	Michel Baguette Projet 1 : Papillons	Michel Baguette Projet 2 : Lézard vivipare	Michel Baguette Projet 3 : Crapaud calamite	Marina Mergey Projet <i>In situ</i> Mammifères forestiers	Damien Picard Projet Amphibiens impact des anciennes autoroutes	Jean-Pierre Vacher Projet 1 : hybridation Sonneur ventre jaune/ventre de feu	Jean-Pierre Vacher Projet 2 : Crapaud vert	Jean-Pierre Vacher Projet 3 : Coronelle lisse
Espèces ciblées	2 papillons : Nacré de la bistorte et Nacré de la canneberge	Lézard vivipare	Crapaud calamite	8 espèces de mammifères : Hérisson, Renard, Chevreuil, Martre, Blaireau, Campagnol roussâtre, Murin de Bechstein, Chat forestier	3 espèces d'amphibiens : Salamandre tachetée Triton alpestre, Crapaud commun	Sonneur à ventre jaune	Crapaud vert	Coronelle lisse
Raison du choix des espèces (en tant que telles ou indicatrices)	Recherche depuis de nombreuses années sur les papillons => déjà de nombreuses données éco-démographiques sur ces deux espèces	Espèce suivie de long terme => déjà de nombreuses données éco-démographiques	Enjeux de conservation	Choix des espèces par selon leurs capacités de dispersion et avec une spécificité croissante pour l'habitat forestier (ubiquiste à forestier strict)	Existence de marqueurs moléculaires appropriés et abondance dans la zone d'étude	Enjeux d'hybridation avec le Sonneur à ventre de feu	- Espèce cible en Alsace - Forts enjeux de conservation - Étude demandée par la DREAL Alsace - Espèce à PNA	Avantages évoqués des serpents vis-à-vis de l'outil génétique (écologie connue, marqueurs existants pour certaines espèces dont Coronelle lisse), sensibilité à la fragmentation, ...
Protocole d'échantillonnage	15 individus sont prélevés au minimum par site, par sexe et par population (soit > 30 individus par population) Prélèvement d'une patte. 13 loci sont étudiés chez <i>B. eunomia</i> et 16 chez <i>B. aquilonaris</i> .	50 individus prélevés dans 11 populations différentes Prélèvement d'un bout de queue. 14 microsatellites ont été analysés.	environ 30 individus par population	- 10 sites d'échantillonnage avec un minimum de 30 individus par site - Source de l'ADN différent suivi l'espèce mais généralement non invasif (excepté <i>C. roussâtre</i>) et utilisant des campagnes déjà existantes (captures chiroptérologues, prélèvements de chasse, collisions routières) - 10 à 12 microsatellites analysés par espèce	- 11 sites d'échantillonnage avec 20-30 individus par site - prélèvement de tissus (bout de queue larves de Salamandre par exemple) ou de salive (adulte Salamandre par exemple)	- Populations de sonneurs sur le Plateau lorrain (région d'Albestroff et vallée de la Sarre) - 10 microsatellites au départ	- 2 populations échantillonnées sur la région : Nord (Strasbourg) et Sud (Mulhouse) avec 30 individus prélevés par population. - 12 microsatellites étudiés	Nombreux points sur l'ensemble de la région
Durée de l'étude, fréquence des prélèvements	2009, 2010, 2011 soit 3 générations successives (génétique) et 20 générations (démographique)	1 génération (génétique), > 20 générations (démographique)	1 génération	- Projet sur 2012-2014 - Pour chaque site : 1 semaine de terrain - Automne-Hiver plus propices pour terrain	2 ans d'étude	un an (2012)	6 mois (2011)	2 ans (2009-2010)

Tableau 2 (fin) : Retranscription synthétique des projets des experts présents

	Michel Baguette Projet 1 : Papillons	Michel Baguette Projet 2 : Lézard vivipare	Michel Baguette Projet 3 : Crapaud calamite	Marina Mergey Projet <i>In situ</i> Mammifères forestiers	Damien Picard Projet Amphibiens impact des anciennes autoroutes	Jean-Pierre Vacher Projet 1 : hybridation Sonneur ventre jaune/ventre de feu	Jean-Pierre Vacher Projet 2 : Crapaud vert	Jean-Pierre Vacher Projet 3 : Coronelle lisse
Valorisation et informations tirées des résultats obtenus (par ex : état de fragmentation global de la zone étudiée)	Mise en évidence d'une structuration génétique mais détection de nombreux déplacements alors que la CMR n'avait permis d'en constater qu'1.	Mise en évidence d'échanges nombreux entre populations alors que la CMR n'avait permis d'en déceler aucun.		Étude en cours sur la génétique ainsi que pour les deux autres outils.	Existence d'une structuration génétique (Salamandre, Crapaud) ou non (Triton) Sources principales de fragmentation (milieu ouvert, infrastructure de transport) Utilisation ou non des ouvrages de franchissements	- Pas d'hybridation entre les deux espèces - Connectivité génétique à une échelle fine entre les populations de Sonneur à ventre jaune - Effet naturel de rupture du flux de gène du massif vosgien (comparaison avec une autre population alsacienne située à 50 km)	L'isolement géographique est effectivement associé à un isolement génétique entre la population du nord et celle du sud de l'Alsace. De plus, la population du nord (Strasbourg) est partagée en 2 sous-populations (Est et Ouest)	Résultats ne montre pas de structuration génétique entre les pop étudiées donc pas d'effet de fragmentation ni par la distance ni par le paysage Ces résultats indiquent que l'espèce, qui se déplace globalement peu, doit certainement être répartie partout dans les paysages et s'adapte aux divers changements induits par les activités humaines.
Coût de l'étude et ratio coût/info tirées	Nécessité de développer les marqueurs chez <i>B. eunomia</i> soit 15 000 €	Marqueurs existants donc coûts classiques d'une étude en interne au laboratoire de Moulis	Marqueurs existants coûts classiques d'une étude en interne au laboratoire de Moulis	Non renseigné	Budget de 20 000 € : 10 000 € pour le terrain (moitié du budget) 5 000 € pour la génétique	5 000 € (travail laboratoire + matériel laboratoire et primers) + 2 700 € terrain	3000 € + 2700 € terrain	5 000 € (travail laboratoire + matériel laboratoire et primers) + 2 700 € terrain
Difficultés particulières rencontrées		Très faible structuration génétique		Pour le moment (phase de collecte en cours), terrain très lourd en terme de temps. Problèmes évoqués d'une manière générale sur la génétique : - Autorisation de capture et prélèvement - Échantillons à ADN rare => besoin de nombreux réplicas (fèces notamment) - Possibilité de trouver 30 ind/site pour certaines espèces	- Dater les infrastructures de transport étudiées pour les choisir ensuite avec une certaine ancienneté - Échantillonnage de Salamandre (nécessité de passer par adultes et larves pour obtenir suffisamment d'échantillons)	Pas de difficultés particulières	Quelques individus sont peut-être polyploïdes	Pas de difficultés particulières

3) DISCUSSION ENTRE LES PARTICIPANTS SUR LA FAISABILITÉ D'UTILISER L'OUTIL GÉNÉTIQUE POUR LE SUIVI DE LA TVB

Le tableau 3 ci-dessous retranscrit les échanges de la réunion sous la forme d'une fiche synthétique.

- ***L'OUTIL GÉNÉTIQUE***

L'outil moléculaire permettra de renseigner sur l'état de fragmentation/connexion des populations à l'échelle régionale, par exemple en visant 20 populations prises au hasard dans la région. L'avantage majeur du recours à cet outil sera de pouvoir évaluer la connectivité fonctionnelle des réseaux écologiques identifiés dans les SRCE alors même que ces réseaux sont souvent identifiés par des méthodes basées uniquement sur la connectivité structurelle (par exemple méthode de moindre coût, ...). Pour rappel, le fait que les habitats soient visuellement proches ou même connectés (connectivité structurelle) ne garantit pas que les populations fonctionnent entre elles et qu'il y ait des échanges génétiques entre ces populations ; or c'est tout l'enjeu de la TVB.

Par contre, l'outil génétique ne permettra pas de connaître précisément les voies de déplacements entre les populations échantillonnées. Cette connaissance demande une phase d'interprétation des résultats génétiques par le dire d'expert, par exemple via l'analyse du paysage et des éléments fragmentants. Aussi, coupler la génétique avec d'autres protocoles déployés localement (notamment suivi par GPS ou télémétrie) permettrait d'obtenir directement un diagnostic complet (fragmentation + voies de déplacements).

Enfin, compléter le dispositif d'études génétiques avec de la CMR permettrait d'affiner les analyses en estimant la taille des populations.

- ***ÉCHANGES SUR L'ÉCHELLE D'ÉTUDE À RETENIR :***

Une articulation entre les échelles locale, régionale et nationale pourrait être intéressante selon les experts présents.

Par exemple, lors d'aménagements nouveaux, un prélèvement génétique « état 0 » pourrait être intégré désormais de manière systématique (dans les études d'impact par exemple). Ces résultats locaux permettraient :

- d'alimenter l'échelle régionale,
- d'intégrer les acteurs locaux à la démarche.

De la même façon, les résultats régionaux permettraient de mieux cibler les mesures locales de restauration de continuités écologiques (passages à faune, ...) en évaluant en amont le fractionnement de la sous-trame concernée. En effet, l'échantillonnage régional à t0, au-delà de pouvoir être ensuite comparé à un échantillonnage régional à t+X, pourrait aussi être valorisé en tant que tel pour estimer l'intérêt d'effectuer ou non des opérations de restauration et à quel endroit les faire en priorité. Actuellement, ces choix sont souvent réalisés à dire d'expert à partir de carte d'occupation des sols. Cependant, les études montrent que le comportement dispersif des organismes vivants est parfois très différent des attendus.

Enfin, les résultats régionaux pourraient être ensuite capitalisés à l'échelle nationale pour aboutir à une évaluation nationale de la TVB.

Il est noté que la pertinence de l'échelle régionale (au sens région administrative) pourrait être remise en cause dans le cas de grands ensembles écologiques (par exemple les Alpes ou les Pyrénées). Pour ces grandes zones biogéographiques l'évaluation serait peut-être davantage pertinente à cette échelle, en s'affranchissant des limites administratives.

- ***ASPECTS TEMPORELS :***

- Dans une optique d'évaluation (donc de comparaison entre deux états), il est toujours indispensable d'effectuer deux campagnes d'échantillonnage. Par exemple, pour évaluer la fragmentation d'une infrastructure, il faut effectuer :

- 1 mesure à T0 avant l'infrastructure,
- 1 mesure à T+X.

En ce sens, dans le cas présent, il faut envisager au niveau régional un échantillonnage à T0 à comparer ensuite X années plus tard.

- Ce pas de temps X à partir duquel des effets peuvent être constatés sur le plan génétique est variable.

Six ans (durée du SRCE) sont suffisants pour tester l'effet d'une remise en connexion (restauration de corridor). En revanche, selon les espèces, 6 ans peuvent se révéler trop courts pour constater des effets d'une fragmentation. Les espèces ayant un temps de génération court (2 générations par an par exemple) peuvent révéler des effets sur le plan génétique en 6 ans alors que pour d'autres, 10 ou 20 ans seraient nécessaires. Le choix des espèces sera donc décisif sur ce point. A noter que de nouvelles méthodes existent pour estimer la parenté de première ou deuxième générations mais cela nécessite de disposer d'un échantillon à T0 et d'une vingtaine de microsatellites avec un échantillonnage plus conséquent.

En conclusion, il pourrait donc être envisagé de choisir des espèces à temps de génération différents : des espèces à temps de génération court pourraient être étudiées dès la première génération des SRCE et d'autres espèces à temps de génération long seraient utilisées plus tard (par exemple pour une évaluation à T+12). Les conclusions que ces dernières permettront de dresser seront différentes car les espèces à temps de génération long vivent différemment la fragmentation ; notamment elles sont moins sensibles aux facteurs stochastiques* et offrent donc une réponse globale de long terme.

- Pour alléger la charge que peut représenter l'échantillonnage de toutes les espèces une même année, il pourrait aussi être envisagé de travailler en roulement au fil du SRCE en analysant chaque année les espèces d'une sous-trame.

• **SÉLECTION DES ESPÈCES :**

La sélection des espèces constituera un travail décisif dans ce dispositif. Il est proposé de sélectionner un ensemble d'espèces par sous-trame.

Les participants estiment que les groupes suivants, au moins, devraient être concernés :

- les mammifères (chiroptères, rongeurs, ...),
- les invertébrés (orthoptères, odonates, carabes),
- les poissons,
- les amphibiens.

Quid des autres groupes faunistiques évoqués précédemment tels que les papillons, les mollusques, les oiseaux et les poissons ainsi que de la flore. Ces groupes ne sont pas évoqués en séance.

Pour sélectionner les espèces, plusieurs paramètres seront très importants :

- le **temps de génération** : comme indiqué, s'il est court il permettra de voir des effets au bout de 6 ans,
- le **type d'habitat** : privilégier des espèces spécialistes pour les rendre effectivement indicatrices de leur sous-trame. Problème : cette spécificité est parfois variable selon l'étape du cycle de vie. Les observations effectuées par le CERFE sur la Martre permettent de faire ressortir une différence importante entre les déplacements routiniers des adultes (très forestiers et toujours sous couvert végétal) et la dispersion des juvéniles (beaucoup plus erratiques et à découvert). La notion d'indicateur a donc ses limites car elle est nécessairement un raccourci de la réalité. Toutefois, cette approche peut être pertinente si le panel d'espèces est bien choisi,
- leur **mobilité/dispersion** : privilégier les espèces peu mobiles, sensibles à la fragmentation et pour l'ensemble des étapes du cycle de vie. Par exemple : chez la Martre à nouveau, plus de 90 % des individus dispersent très peu mais 2 à 3 % des individus dispersent sur des distances énormes ce qui « brouille » au final les distances

génétiques et conduit donc à structuration génétique entre populations faible voire absente. Parfois, l'accueil d'un seul individu dans une population suffit à assurer un brassage génétique,

- leur **abondance** : privilégier des espèces abondantes, communes, afin de parvenir à prélever les nombres suffisants d'individus. Dans le même temps, des effectifs trop abondants contrebalancent l'effet de temps de génération court car l'impact génétique d'une barrière ou d'une reconnexion est plus lent pour des grandes populations,

- leur **répartition**, qui doit au maximum couvrir l'ensemble de la région pour ne pas effectuer une évaluation déconnectée de la zone couverte par le SRCE. Cependant, il est important de choisir des espèces dont la répartition est de fait sous la forme de population distinctes et donc non continue. Des espèces comme le Triton alpestre ou le Busard cendré (*Circus pygargus*) ne révéleraient aucun résultat pertinent car leur structuration spatiale est naturellement diffuse.

- leurs **caractéristiques bioclimatiques** : la France a la particularité d'être à cheval sur plusieurs domaines biogéographiques et donc d'être caractérisée par une grande variabilité de climat et de milieux à l'échelle nationale. Idéalement, il faudrait que les espèces choisies couvrent ces différents domaines.

Il est probable que peu d'espèces satisfassent l'ensemble de ces critères et des compromis seront donc sûrement à faire.

D'autre part, on peut se demander si le fait de privilégier des espèces à la fois plutôt abondantes et avec plusieurs générations par an, ne va pas revenir à choisir les espèces les plus à même de contrebalancer la fragmentation. Cela ne serait pas problématique dans un sens car si une fragmentation est alors observée sur ces espèces, c'est qu'il y a sans doute fragmentation aussi pour les espèces plus rares et à cycle plus long. L'inverse est par contre plus difficile à interpréter : si peu de fragmentation est observée pour ces taxons, cela ne veut certainement pas dire que les autres (rares, localisés) ne subissent pas d'impact fragmentant. Il semble donc important de sélectionner à la fois des espèces à temps de génération rapide et d'autres à temps de génération long comme évoqué plus haut. Le critère d'abondance, lui, reste *sine qua none* (tout en étant relatif) car le nombre de prélèvements doit rester suffisant pour les analyses.

Compte tenu de la complexité apparente de cette sélection d'espèces, la première génération de SRCE pourrait permettre de balayer une liste d'espèces pour garder les plus pertinentes. La méthode aura de toute façon besoin d'une phase de calibration.

• **SOUS-TRAMES :**

Dans la mesure où ce dispositif aurait pour objectif une capitalisation à l'échelle nationale, il faudrait peut-être se limiter à 2 ou 3 sous-trames que l'on retrouvera dans tous les SRCE et qui présentent le plus d'enjeux en termes de fragmentation. Par contre, le risque est donc de se retrouver avec des sous-trames peu précises et donc sans réel intérêt (par exemple, une sous-trame « milieux ouverts » ne suffirait pas car recouvre beaucoup trop de réalités écologiques différentes).

Il sera important de couvrir un panel de milieux car il faut garder à l'esprit qu'un corridor pour une espèce peut constituer une barrière pour une autre (exemple : un cours d'eau pris longitudinalement est un corridor pour des espèces aquatiques ou sachant nager et constitue transversalement une barrière pour une espèce ne pouvant pénétrer dans l'eau ni passer au-dessus). Viser une évaluation de l'état de fragmentation de plusieurs milieux (via des espèces inféodées à des milieux différents et spécialistes de ces milieux) est donc déterminant pour évaluer la fonctionnalité globale de la trame régionale.

• **ASPECTS ORGANISATIONNELS :**

- Les participants saluent le fait de réfléchir dès maintenant à mesurer plus tard l'efficacité du projet TVB. Cette initiative est à encourager d'autant plus que la volonté d'utiliser l'outil génétique est une démarche ambitieuse.

- Les participants estiment que le recul et les travaux menés en génétique du paysage sont suffisamment nombreux et que la connaissance est mûre pour que l'outil moléculaire, pour l'instant essentiellement utilisé par la Recherche, passe dans le domaine de l'expertise et du projet. Leurs laboratoires en tous cas seraient prêts et opérationnels pour cela.

Engager un tel dispositif permettrait de plus de faire travailler ensemble des laboratoires qui n'ont pas toujours cette habitude actuellement alors que leur outil d'étude (la génétique) est le même. En ce sens, le projet TVB pourrait se révéler fédérateur.

- La nécessité d'un travail de « vulgarisation » des futurs résultats est soulignée car la génétique du paysage est un domaine assez technique, avec un langage pas toujours accessible pour les décideurs.

- Compte tenu des budgets élevés des études génétiques, il serait intéressant de s'appuyer sur des structures locales pour réaliser les campagnes d'échantillonnage (associations naturalistes notamment) sous forme de partenariats par exemple. Cela permettrait de valoriser des prospections de terrains déjà existantes et de diminuer les coûts en « greffant » les prélèvements génétiques sur des campagnes de terrains de toute façon prévues. Dans le même temps, cette démarche peut poser un problème concernant l'homogénéité des futurs jeux de données qui ne seraient donc pas récoltés par des protocoles identiques. En ce sens, il faudrait alors bien rédiger les protocoles d'échantillonnage et proposer des formations aux personnes susceptibles de participer à ces études.

- Travailler sur des régions pilotes volontaires permettrait de réaliser la phase de calibration et donc de réaliser des économies.

- De part son ampleur, une telle étude apporterait plus que l'évaluation des TVB. Elle consisterait une première au niveau national et même mondial. Les résultats obtenus permettraient d'accroître nos connaissances sur la capacité de dispersion des espèces dans des environnements plus ou moins anthropisés et ainsi améliorer la mise en place des TVB.

Tableau 3 : Synthèse des éléments de réponse apportés par la réunion pour la mise en place d'un protocole de génétique dans le cadre du suivi de la TVB

Échelle la plus pertinente	Deux échelles possibles, complémentaires : - échelle locale, d'un projet d'aménagement (construction d'une infrastructure de transport comme construction d'un passage à faune) permettant d'alimenter l'échelle régionale, - échelle régionale directement pour évaluer la connectivité globale du territoire. L'échelle nationale est ensuite vue comme la somme des échelles régionales.
Protocole d'échantillonnage	Protocole différent suivant l'échelle considérée : - échelle du projet d'aménagement : échantillonnage avant action et après action (un certain temps après pour mesurer si l'action a permis une reconnexion), - échelle de la région : 20 populations au hasard pour chaque espèce indicatrice d'une sous-trame ; mesure avant SRCE (t0) puis après SRCE (t+6) pour comparer les distances et les points de rupture entre ces populations, - échelle nationale : capitalisation des résultats régionaux pour une évaluation nationale de la trame française Sélection de 2 ou 3 sous-trames revêtant le plus d'enjeux en termes de fragmentation et communes à toutes les régions (pour une capitalisation nationale) tout en étant assez précises (sous-trame « milieux ouverts » trop large) Panel large d'espèces pour chaque sous-trame Travailler sur des régions pilotes volontaires permettrait de réaliser la phase de calibration (méthode de prélèvement, liste d'espèces à affiner, ...) et donc d'optimiser le protocole avant sa généralisation (=> économies)
Acteurs à impliquer	Associations naturalistes et/ou autres professionnels de l'environnement (ONF ?, ONCFS ?, ONEMA ?,...) pour coupler les prélèvements aux études de terrain existantes Laboratoires intéressés pour travailler sur ce projet (Moulis, CERFE, Bales, Université d'Angers) => Nécessité de structurer les différents acteurs sous la forme d'un réseau

Quelles espèces/Comment les choisir	• Les groupes suivants seraient à privilégier mais liste non exhaustive : - Mammifères (chiroptères, micromammifères), - Poissons, - Amphibiens, - Invertébrés (orthoptères, odonates, carabes) • Critères de sélection : - Temps de génération : court (impacts visibles rapidement) et long (sensibilité différente à la fragmentation) - Habitat : espèce spécialiste - Mobilité/dispersion : espèces peu mobiles - Espèce commune et couvrant toute la région
Délai/Fréquence des prélèvements à prévoir	Six ans peuvent permettre des conclusions si les espèces sélectionnées ont un temps de génération court (1 à 2 générations par an) Réaliser un roulement (analyse d'une sous-trame tous les ans) permettrait de répartir la charge de travail (terrain)
Coût à prévoir	Il est difficile d'estimer les coûts à l'avance car ceux-ci dépendent de divers paramètres, notamment : - du choix des espèces (nécessité ou non de développer des marqueurs par exemple), - du choix (ou des possibilités) pour le prélèvement d'ADN (et donc à nouveau indirectement des espèces) : par exemple échantillons à ADN rare nécessitent plus de prélèvements donc plus de terrain, - si le génotypage en tant que telles est externalisé (1 laboratoire spécialisé génotype les individus pour celui qui réalise les analyses de génétique des populations et interprète ensuite les résultats) ou non, - des possibilités d'associer le tissu associatif pour réaliser les campagnes de terrain (ou si des campagnes propres doivent être menées)
Informations que l'on pourra espérer tirer sur l'efficacité de la TVB	• A l'échelle d'un aménagement, le recours à l'outil génétique permettrait : - de montrer l'efficacité réelle des actions de reconnexion (création passage à faune, replantation de haies, ...) (en montrant une diminution ou non de la distance génétique entre 2 populations en théorie reconnectées), - de constater l'impact d'une infrastructure de transport et donc de cibler ensuite les démarches de restauration (réalisation d'un ouvrage de franchissement, ...) (en constatant si les populations de part et d'autre d'une infrastructure sont réellement déconnectées ?). • A l'échelle régionale, le recours à l'outil génétique permettrait : - d'évaluer l'état de fragmentation global du territoire milieu par milieu c'est-à-dire le besoin plus ou moins important de restaurer des continuités, - de rattacher l'évolution de cet état de fragmentation au SRCE (et donc à son efficacité) en comparant cet état entre t0, t+6, t+12, • A l'échelle nationale, les résultats génétiques régionaux pourraient être additionnés pour chaque sous-trame afin d'évaluer : - l'évolution de la fragmentation en France milieu par milieu, - l'efficacité du projet TVB pris comme la somme de l'ensemble des SRCE
Difficultés restantes à lever	• Échanges à poursuivre sur le protocole et notamment les critères de sélection d'espèces (pas de temps, abondance, ...) • La faisabilité économique reste difficile à quantifier car les coûts sont difficiles à estimer • La concrétisation de ce protocole nécessiterait la mobilisation de nombreux acteurs qui devront travailler en réseau entre échelles de territoire : les associations (terrain), les laboratoires (analyses) puis des généticiens du paysage (interprétation) + DREAL/CR en tant que pilotes des SRCE => nécessiter de penser cette organisation (identification des acteurs, fédération, animation sur le long terme) • La gestion (stockage, standardisation, ...) des données génétiques que produiront toutes les études est à prévoir également très en amont et nécessite elle aussi une coordination entre échelles (du local au national) et entre acteurs (base de données communes entre laboratoires, centralisation des données au niveau national, ...). Des liens sont peut-être à faire avec le travail en cours concernant les données naturalistes (observatoires de la biodiversité).

IV. CONCLUSION

L'outil génétique apparaît comme un outil réellement approprié dans le cadre de la Trame verte et bleue et les experts présents confirment que la connaissance est mûre et suffisante pour réfléchir à son utilisation dans une démarche projet.

Son avantage tient essentiellement au fait qu'il cible le phénomène de fragmentation/connectivité (par rapport à des effets aires protégées, pratiques agricoles, etc.) et qu'il rendra un diagnostic à l'échelle du SRCE (région) en permettant d'évaluer une connectivité fonctionnelle proche de l'exhaustivité (par exemple contrairement à la CMR) et non uniquement structurelle (par rapport aux modèles de déplacements de moindre de coûts par exemple). Parmi les outils disponibles, l'outil génétique semble le plus pertinent à l'échelle régionale pour un diagnostic global de fragmentation (cf. tableau 4 ci-dessous).

De nombreuses interrogations restent à résoudre sur la concrétisation d'un tel protocole (organisation et coûts notamment) mais il semble en tous cas pertinent de continuer à approfondir ces questions de faisabilité.

Une phase de calibration avec une ou quelques régions pilotes est préconisée.

Tableau 4 : Comparaison de quelques techniques de suivis d'espèces sur la thématique des déplacements

	Principe	Quelques exemples	Avantages	Inconvénients
Outil moléculaire	Prélèvement d'ADN sur des individus puis analyses en laboratoire suivies d'une interprétation	Nombreux exemples évoqués dans le rapport Degré de parentalité, structuration génétique, taux d'hétérozygotie, phylogénie et phylogéographie ...	Permet un diagnostic fonctionnel d'un territoire (aussi bien national, régional que local) pour des objectifs très variés Permet de déceler des échanges très ponctuels	Phase d'échantillonnage lourde et nécessitant une phase préalable de calibrage Les coûts semblent encore élevés et, en tout cas, restent un paramètre incertain
Capture-Marquage-Recapture	Des individus sont capturés puis marqués et relâchés. L'objectif est ensuite de parvenir à recapter des individus marqués.	Surtout utilisée pour des paramètres populationnels (effectifs, taux de survie...), cette technique peut aussi permettre de connaître des distances parcourues par exemple par recapture de jeunes marqués avant la dispersion (utilisé chez le Lézard vivipare ou le Campagnol amphibie par exemple)	Permet théoriquement de mesurer tous les échanges (donc pas uniquement suivis d'une reproduction réussie comme l'outil moléculaire) mais reste pour autant beaucoup moins exhaustif (échanges ponctuels très dur à révéler)	Échelle relativement locale. Ne permet pas de révéler des échanges génétiques ponctuels participant pourtant au brassage (ce que peut faire l'outil moléculaire)
Baguage	Baguage d'individus jeunes ou adultes au nid ou en nichoirs. Puis la reprise d'individus bagués est notée.	Technique pratiquée sur les oiseaux sous la coordination du CRBPO (MNHN). Autrefois pratiquée sur chiroptères en France.	La reprise d'individus bagués permet de connaître leurs capacités de déplacements (dispersion, migration, ...) et d'autres traits de vie (cycle de vie, philopatrie, territorialité, ...)	Ne concerne que les oiseaux. Nécessite un diplôme de bagueur et le cas échéant ouverture d'un programme personnel de baguage pour certaines espèces Pas de renseignements précis sur les trajectoires ni sur le brassage génétique
Collisions	Relevé des cadavres sur infrastructure linéaire de transport puis analyses statistiques	Protocole expérimenté en Franche-Comté par le MNHN-SPN	Permet de localiser des voies de déplacements de la faune encore fonctionnelles mais conflictuelles avec le réseau de transport humain	Tous les groupes ne peuvent être suivis (cadavres de petite faune difficiles à détecter). Lourd en main d'œuvre (objectif de valorisation du personnel des routes) Limité à la problématique de fragmentation par les routes
Collier GPS	Un (ou des) individu est capturé et équipé d'un collier GPS. La localisation de l'individu est ensuite envoyée par le GPS, à intervalle de temps défini	Technique surtout utilisée sur des espèces à grand territoire difficile à suivre par d'autres méthodes (par exemple grands carnivores et grands cervidés)	Localisation très précise de l'individu (quelques mètres près), permet d'identifier les voies de déplacements réellement empruntées et d'apprendre sur le comportement de l'animal suivi	Technique lourde (capture d'individus) et coûteuse. Non opérationnel pour certains taxons (en raison du poids du GPS) Ne fournit pas d'information sur le brassage génétique effectif
Photopiégeage	Pose d'appareils photographiques prenant des clichés automatiquement par intervalles réguliers ou présence d'un individu	Méthode surtout utilisée sur des endroits stratégiques où le passage d'individus est pressenti ou souhaite être confirmé. Par exemple, le recours aux photopièges est fréquent pour suivre l'efficacité des ouvrages de franchissement	Permet de confirmer sans équivoque le passage d'individus Ne demande aucune main d'œuvre une fois l'appareil posé	Adapté pour un suivi très localisé (ouvrages de franchissement par exemple) mais moins pertinent pour un suivi global à l'échelle par exemple d'un territoire
Radiopistage	Des individus sont capturés, équipés d'émetteurs radio puis relâchés. Ces derniers sont ensuite suivis par récepteurs radio puis localisés avec un GPS ou par triangulation	Technique très utilisée chez les chiroptères Nombreuses autres espèces étudiées : Loutre, Genette, Blaireau, Chat forestier, Vipère péliade, Cerf élaphe, Campagnol amphibie, ...	Permet de récolter des informations sur les comportements de déplacements : trajets effectivement réalisés par les individus, cycles biologiques, ...	Technique lourde : forts besoins en temps et en main d'œuvre Pas d'information sur le brassage génétique

V. GLOSSAIRE

- * **Allèle** = Version d'un gène.
- * **Capture-Marquage-Recapture** = Technique consistant à capturer des individus d'une population, à les marquer (marquage peinture, marquage physique, ...) et à les relâcher avant d'effectuer une seconde campagne de capture. Cette technique permet d'estimer des paramètres populationnels (effectifs, taux de survie...) et aussi de connaître des distances parcourues entre lieu de lâcher/lieu de recapture.
- * **Connectivité fonctionnelle d'un paysage** = Échanges effectifs d'individus (et donc de gènes) dans un paysage. Ne nécessite pas forcément une contiguïté d'éléments physiques (connectivité structurelle) : cas pour les oiseaux par exemple.
- * **Connectivité structurelle d'un paysage** = Connectivité « visuelle » d'éléments de trames (par exemple un réseau de haies connectées les unes aux autres). Ne préjuge pas de déplacements effectifs d'individus à travers ce réseau (connectivité fonctionnelle).
- * **Facteurs stochastiques** = Facteurs dus au hasard, qui peuvent déterminer l'évolution d'une population au cours du temps. (Ramade, 2003)
- * **Fst** = Indice de fixation ou indice de différenciation = mesure le degré de différenciation entre populations.
- * **Génétique du paysage** = Étude des processus génétiques (flux de gènes) à l'échelle d'un paysage. L'objectif est d'identifier les effets des éléments du paysage sur le plan génétique, en s'intéressant aux déplacements prenant part à cette échelle (migration, dispersion).
- * **Hétérozygotie** = Fait qu'un individu diploïde (chromosomes réunis par paires) dispose de deux allèles différents pour un locus chromosomique porté par deux chromosomes homologues. (Ramade, 2003)
- * **Locus (Pluriel : Loci)** = Position invariante sur un chromosome (ne correspondant pas forcément à un gène, un gène peut comporter plusieurs locus).
- * **Marqueur microsatellite** = Les analyses génétiques peuvent être effectuées à partir de plusieurs sources d'ADN cellulaire (ADN nucléaire, ADN mitochondrial, ADN chloroplastique chez les végétaux). Parmi les séquences d'ADN nucléaire utilisables, il existe les microsatellites, qui correspondent à des répétitions de motifs dans le génome de 2 à 6 paires de base propre à chaque individu.
- * **Métapopulation** = Super-ensemble constitué dans un écosystème donné par les diverses populations d'une même espèce liées entre elles par un flux de gènes via les échanges de propagules entre chaque unité qui compose cette métapopulation. Ces populations qui possèdent des particularités communes dans leur patrimoine génétique (populations sympatriques) sont à différencier des populations de la même espèce n'ayant pas de liens dans leur reproduction par la suite, par exemple, du fait de leur éloignement géographique (populations allopatriques). (Ramade, 2003)
- * **Phylogénie** = Étude des origines évolutives d'un groupe d'être vivants établie par diverses méthodes fondées sur l'anatomie, la paléontologie, les affinités sérologiques et, en date plus récente, la comparaison de la structure moléculaire des ADN qui permet d'établir, de façon absolue, degré de parenté génétique de deux lignées d'être vivants. (Ramade, 2003).
- * **Phylogéographie** = Étude des principes et des processus qui gouvernent la distribution des lignées généalogiques.

VI. BIBLIOGRAPHIE

CHAURAND J. (2010). *Modalités de suivi et d'évaluation des Schémas Régionaux de Cohérence Écologique*. Rapport de stage effectué à l'UMR TETIS du Cemagref pour l'obtention du Master 2 « Espaces et Milieux » de l'Université de Paris Diderot. Montpellier. 198 pages.

FÉDÉRATION DES CONSERVATOIRES BOTANIQUE NATIONAUX (2011). *Trame verte et bleue – Critères nationaux de cohérence - Réflexion sur la méthodologie à adopter pour définir des listes d'espèces végétales « déterminantes »* Trame verte et bleue, 35 pages.

MNHN & OPIE (2012). *Synthèses bibliographiques sur les traits de vie relatifs aux déplacements et aux besoins de continuités écologiques de certaines espèces proposées pour la cohérence nationale de la Trame verte et bleue*. Disponibles en ligne sur : <http://www.trameverteetbleue.fr/documentation-outils/syntheses-bibliographiques-especes>

ROGEON G. & GIRARDET X. (2011). *Identification des points de conflits entre la faune sauvage et les véhicules : Méthode d'observation des collisions par les agents d'entretien des routes*. Service du patrimoine naturel du Muséum national d'Histoire naturelle. Paris. 24 pages.

SORDELLO R., ROGEON G., TOUROULT J. (2011). *Contribution à la réflexion sur le suivi et l'évaluation de la Trame verte et bleue - Enjeux nationaux de biodiversité : propositions sur les espèces et les habitats*. Rapport MNHN-SPN. 24 pages.



En 2007, le Grenelle de l'environnement a souligné l'importance du phénomène de fragmentation des habitats comme l'une des causes de déclin de la biodiversité ce qui a abouti à l'engagement du programme Trame verte et bleue (TVB) sous la forme de Schémas Régionaux de Cohérence Écologique (SRCE).

En 2011, le Ministère de l'écologie a engagé une réflexion nationale, pilotée par Irstea, sur le sujet du suivi et de l'évaluation du projet TVB et a sollicité à cet effet ses partenaires techniques. Le MNHN-SPN a ainsi formulé des propositions et notamment celle de recourir à l'outil moléculaire. L'idée est d'évaluer, grâce aux distances génétiques, l'évolution de l'état de fragmentation global à l'échelle de chaque région, milieu par milieu, entre l'avant SRCE et l'après SRCE.

Pour étudier la pertinence et la faisabilité de cette proposition, Irstea et le MNHN-SPN ont sollicité plusieurs experts en génétique du paysage. A travers quelques exemples de projets et des échanges entre experts, ce rapport constitue ainsi un premier apport destiné à affiner ces questions de faisabilité.

De nombreuses questions restent en suspens mais les différentes études menées par la recherche depuis quelques décennies confirment que l'outil moléculaire s'avère particulièrement pertinent pour l'objectif de suivi fixé par le Ministère de l'écologie. L'avantage fort de cet outil est qu'il répond à la question de la connectivité fonctionnelle (y a-t-il réellement des échanges entre populations ?) et pourrait ainsi permettre un diagnostic à l'échelle régionale ciblé sur la fragmentation, objet majeur de la TVB.