

Document complémentaire au formulaire CERFA 13616-10 concernant une demande de dérogation à d'éventuelles captures accidentelles d'espèces protégées dans le cadre d'une étude pilote sur la surveillance moléculaire de la biodiversité

Introduction au projet

L'**érosion de la biodiversité** est un phénomène avéré mais qui demeure difficilement mesurable et quantifiable. La question se pose notamment pour les **insectes**, dont le déclin est connu (Hallmann *et al.* 2017) mais pour lesquels l'extrême diversité et les difficultés d'identification rendent difficile l'étude et le suivi de leurs populations (Engel *et al.* 2021). Grâce aux développements technologiques liés au séquençage haut-débit de l'ADN, des techniques moléculaires innovantes ont vu le jour, combinant les approches par **codes-barres ADN** (Hebert *et al.* 2003) pour l'identification des espèces et celles de la métagénomique pour analyser simultanément de très grandes quantités d'individus et d'espèces (« metabarcoding ») ou même un substrat tel le sol ou l'eau (ADN environnemental).

Dans le cadre du **plan gouvernemental Biodiversité** et de son action 70 visant la création d'un réseau de surveillance de la biodiversité, le projet de suivi de l'entomofaune (BIOSCAN France) dans lequel se positionne cette demande est porté conjointement par le Museum national d'Histoire naturelle (MNHN) et l'Office Français de la Biodiversité (OFB). Il a pour objectif de tester un dispositif de surveillance moléculaire de la biodiversité terrestre permettant d'établir des listes de référence d'espèces sur des sites donnés et de réaliser un **suivi des communautés sur le long terme**. Cette étude pilote se focalise sur les arthropodes pour pallier au manque d'informations quant à leur déclin sur le territoire français (Métropole et Outre-mer). À terme, l'objectif est d'intégrer ce type de dispositifs dans un programme de surveillance de la biodiversité terrestre sur le long terme.

Bilan sites et acteurs du projet

L'objectif est de déployer ce dispositif pilote de surveillance sur plusieurs régions de France métropolitaine et ultramarines (Tableau I). Cette phase de test a eu lieu jusqu'à **fin 2024 et se poursuit sur plusieurs sites**, avec l'idée ensuite d'un déploiement plus large pour permettre un suivi généralisé de la diversité des insectes. Une deuxième phase test va avoir lieu de 2025 jusqu'en 2028.

Dans un but de collecte à large spectre de la richesse de l'entomofaune et de comparabilité avec les autres initiatives similaires récemment déployées à l'international, la technique de piégeage qui a été favorisée pour la capture des insectes dans notre projet s'appuie sur le déploiement de pièges Malaise.

Tableau I : Sites d'échantillonnage lors de l'étude pilote du suivi de la biodiversité terrestre lors de la période : 2022-2025.

Numéro de sites	Département	Site	Date de début	En cours
1	Alpes Maritimes	Jardin botanique du Val Rahmeh	11/05/2023	Non
2	Creuse	Saint-Martin-Château - Jardin	30/04/2023	Non
3	Creuse	Saint-Martin-Château - Forêt	01/07/24	Non
4	Hérault	Terrain expérimental du CEFE	07/02/23	Non
5	Hérault	Puéchabon - Site expérimental	02/02/23	Non
6	Loiret	Traînou	23/03/25	Oui
7	Ornes	Longny les villages	23/04/25	Oui
8	Pyrénées Orientales	Réserve naturelle nationale de Jujols	17/02/23	Oui
9	Haute Savoie	Jardin botanique alpin La Jaïsina	23/06/23	Non
10	Haute Savoie	Station de Sommand - Mieussy	19/06/24	Oui
11	Paris	Jardin des plantes - Jardin écologique	03/01/2023	Oui
12	Paris	Jardin des plantes - Jardin écologique	19/03/2024	Non
13	Seine et Marne	Saint-Fargeau-Ponthierry	15/10/23	Non
14	Seine et Marne	Saint-Fargeau-Ponthierry	15/10/23	Non
15	Yvelines	Arboretum de Versailles-Chèvreloup	18/01/23	Non
16	Vaucluse	Harmas de Jean-Henri Fabre - Zone intermédiaire	02/02/2023	Oui
17	Vaucluse	Harmas de Jean-Henri Fabre - Zone arborée	18/01/2023	Non
18	Essonne	Marais des Gravelles	21/03/2023	Non
19	Martinique	Morne Bigot	07/11/2022	Oui
20	Guyane	Centre Spatial Guyanais - Piste Agami	01/12/2022	Oui
21	Guyane	Centre Spatial Guyanais - Piste Agami (Forêt)	07/08/2024	Oui
22	La Réunion	Forêt de Mare Longue	21/06/24	Oui
23	La Réunion	Plaine des fougères	17/06/24	Oui

24	La Réunion	Maïdo	25/06/24	Oui
25	La Réunion	RNN Étang de St-Paul - Prairie	18/06/2024	Oui
26	La Réunion	RNN Étang de St-Paul - Zone agricole	19/06/2024	Oui
27	La Réunion	RNN Étang de St-Paul - Canal Matoutia	20/06/2024	Non
28	La Réunion	RNN Étang de St-Paul - Canal secondaire	20/06/2024	Non

Chacun des 28 sites tests de l'étude pilote, répartis dans 15 départements en France hexagonale et dans les outre-mer, dispose d'un point de collecte correspondant à un piège Malaise relevé de manière hebdomadaire ou bimensuelle (Tableau II). Les échantillons sont analysés par des approches de méta-codes-barres ADN (*i.e.* metabarcoding) au MNHN avec un traitement préalable non destructif (*i.e.* l'extraction d'ADN ne se fera pas par broyat mécanique des organismes collectés mais par diffusion passive de l'ADN dans un milieu de lyse, ce qui permet de conserver les individus collectés pour un retour ultérieur au spécimen si besoin).

Tableau II : Acteurs du projet et implications

Acteur	Organisme	Formation	Mission
Fabian Rateau	OFB-UTCANT	Formation initiale en Biologie : Master de gestion des milieux aquatiques	Collecte/Transport des échantillons
Mitsiou Grelot-Valade	OFB-UTC	Formation initiale : Master en Biologie - Conservation	Collecte/Transport des échantillons
Adélie Paris	OFB-UTC	Formation initiale : Master en biodiversité, écologie et évolution	Collecte/Transport des échantillons
Marie Lapègue	MNHN	Formation initiale : Master en biodiversité, écologie et évolution	Collecte/Traitement des échantillons
Rodolphe Rougerie	MNHN	Formation initiale en Biologie : Doctorat en systématique et évolution	Collecte/Supervision
Antoine Lévêque	OFB-Patrinat	Formation initiale en Biologie et Agronomie : DEA en systématique animale et ingénieur agronome	Collecte/Supervision

Protocole employé

Le piège Malaise de type Townes à toit blanc utilisé ici **collecte de manière passive et non spécifique** les insectes en les dirigeant vers un bocal contenant de l'alcool à 95% où ils trouvent la mort et sont conservés (Figure 1). Ces pièges récoltent majoritairement des diptères et des hyménoptères ; ils permettent en effet d'échantillonner les insectes volants avec phototropisme, notamment les pollinisateurs (Uhler *et al.* 2022). Plus rarement, les insectes volants avec géotropisme (coléoptères) ou les arthropodes du sol peuvent grimper le long du piège et se retrouver également dans l'échantillon. Au regard du seul insecte protégé sur le département de Martinique (*Dynastes reidi*, le Dynaste hercule), la taille du piège (orifice d'entrée dans le flacon) et de l'espèce en empêche sa capture.



Figure 1 : Piège Malaise placé sur le Morne Bigot dans le cadre de l'étude pilote sur la surveillance de la biodiversité terrestre.

Espèces protégées concernées et évaluation des risques

BIOSCAN France est un **projet de recherche** sur la biodiversité terrestre avec un **potentiel majeur de production de connaissances** sur son état actuel. Il s'inscrit également dans une démarche visant à terme à mieux **protéger une biodiversité relativement méconnue** en comprenant les enjeux qui pèsent sur les communautés d'insectes et leurs milieux souvent menacés.

Alors que notre étude et le type de piégeage utilisé ciblent des invertébrés, la présente demande de dérogation espèce protégée (DEP) vise à se prémunir d'une non-conformité réglementaire en cas de **captures accidentelles** de spécimens d'espèces d'amphibiens et reptiles protégés, listées dans l'*Arrêté 14 Octobre 2019 fixant la liste des amphibiens et des reptiles représentés dans le département de Martinique protégés sur l'ensemble du territoire national et les modalités de leur protection*.

À notre connaissance, **aucune étude ne fait état à ce jour de la propension du piège Malaise à capturer ces espèces**. Cependant, lors de la phase de test du dispositif de piégeage qui s'est déroulée durant le mois de novembre 2022, il a été constaté que quelques anolis de la Martinique (ou anolis roquet) *Dactyloa roquet* et éléuthérodactyles indéterminés *Eleutherodactylus sp.* ont été capturés par le dispositif. Les individus capturés sont morts. Les éléuthérodactyles capturés n'ont pas pu être déterminés précisément à ce stade de l'étude en raison de la décoloration des tissus par l'alcool mais leur localisation et taille indique qu'il est probable que ce soit des éléuthérodactyles de Johnstone (*Eleutherodactylus johnstonei*), espèce non protégée et exotique envahissante. Cependant, l'éléuthérodactyle de la Martinique (*Eleutherodactylus martinicensis*) étant une espèce protégée à l'écologie relativement proche, il paraît utile de réaliser une demande de DEP pour cette espèce également.

Solutions alternatives

Les espèces ciblées par ce type de piège déployés dans cette phase pilote de suivi de la biodiversité terrestre sont les insectes et arthropodes terrestres au sens large. En ce sens, **il n'existe aucune alternative de piégeage passif d'arthropodes exempte de tout danger pour les petits vertébrés**, compte-tenu du caractère non dirigé, passif et accidentel de ces captures dans ce dispositif. Par ailleurs, le choix du piège Malaise se base sur deux critères

techniques majeurs, relativement uniques et précieux pour les inventaires ou les suivis des populations d'arthropodes, rendant son remplacement difficile voire impossible :

- Son caractère non spécifique permettant une collecte d'information d'ampleur sur la diversité globale des arthropodes (Sire *et al.* 2022).
- Son caractère passif (aucun attractant utilisé), qui **réduit les biais de collecte** et **favorise la reproductibilité des résultats**, et qui permet une **standardisation** entre sites à de larges échelles géographiques (Tableau I), et entre différents projets français et/ou internationaux qui utilisent le même protocole et type de piège (Seymour *et al.* 2022 preprint, Sire *et al.* 2022, Steinke *et al.* 2022).

Néanmoins—**dans une optique de minimisation de ces captures accidentelles**—, une grille de protection spécifique devant limiter la capture d'espèces autres que les petits insectes volants a été testée. Aucune diminution des collectes d'anolis et éléuthérodactyles n'a été reportée. En revanche, une perte conséquente de données quant à la diversité de l'entomofaune qui n'était plus capturable a été observée (Figure 2). Cette grille a donc été retirée.



Figure 2 : Photos du résultat de la mise en place d'une grille pour limiter la capture accidentelle des petits vertébrés.

États de conservation des espèces pour laquelle la DEP est demandée

L'anolis roquet est une espèce endémique stricte de Martinique qui est classée « moindre préoccupation » (LC) dans les listes rouges régionales et mondiales de l'UICN. Il s'agit d'une espèce abondante et très largement répartie en Martinique où il occupe une grande diversité de milieux naturels et anthropisés.

L'éléuthérodactyle de la Martinique est répartie de Grenade à Anguilla. Elle est subendémique de la Martinique et de la Guadeloupe mais est considérée comme exotique envahissante dans les îles de Saint Martin et Saint Barthélemy. Elle est classée « quasi menacée » (NT) sur les listes rouges UICN régionales et mondiales. En Martinique, cette espèce est répartie plutôt dans les zones humides et naturelles, par opposition à l'éléuthérodactyle de Johnstone qui est une espèce invasive présente dans une grande variété d'habitats naturels et anthropisés. Dans la majorité des cas (90%), il s'agit de l'éléuthérodactyle de Johnstone qui est accidentellement capturée dans le piège.

Les premières estimations étaient de 1 à 2 spécimens d'anolis et d'éléuthérodactyle *sp.* par semaine, soit une collecte annuelle d'environ 50 individus d'anolis et de 5 éléuthérodactyle de la Martinique qui tient compte de la régulation des populations aux abords immédiats du piège. Les premiers résultats vis-à-vis de ces espèces sont dans le rapport 2022-2024.

Contribution de l'étude à la connaissance des espèces pour laquelle la DEP est demandée

Les anolis et éléuthérodactyles accidentellement capturés pourront faire l'objet d'un traitement spécifique visant à établir un indicateur d'abondance. Les individus qui auront été capturés et qu'il n'aura pas été possible de maintenir en vie seront déterminés et dénombrés. Les résultats de ce protocole permettront de poser un jalon qui à l'avenir pourra contribuer à l'évaluation des tendances d'évolution des populations, en termes d'abondance et de répartition. Selon l'état de conservation des tissus, ils pourront également être mis en collection si cela semble opportun pour les responsables de collections. Leur identification précise à partir des séquences d'ADN produites (notamment pour les éléuthérodactyles) nécessite un travail préalable de curation des librairies de référence disponibles pour ces vertébrés dans les Antilles.

Données et compte-rendu

Les données produites de surveillance des espèces seront disponibles sur le portail de l'Inventaire National du Patrimoine Naturel (INPN ; <https://inpn.mnhn.fr/>). Les données génétiques de metabarcoding générées seront elles aussi disponibles à terme via le portail de l'INPN, de la base de données mBRAVE (<http://www.mbrave.net/>) et de GBIF

Un rapport synthétique des principaux résultats techniques et scientifiques obtenus durant cette étude pilote sera aussi mis à disposition.

Références

- Engel M. S., *et al.* (2021) *The taxonomic impediment: a shortage of taxonomists, not the lack of technical approaches*. *Zoological Journal of the Linnean Society* 193 (2): 381–387. <https://doi.org/10.1093/zoolinnean/zlab072>
- Hallmann C. A., Sorg M., Jongejans E., Siepel H., Hofland N., Schwan H., Stenmans W., Müller A., Sumser H., Hörrén T., Goulson D. & de Kroon H. (2017) *More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas*. *PLoS ONE* 12 (10): e0185809. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185809>
- Hebert P. D. N., Cywinska A., Ball S. L. & deWaard J. R. (2003) *Biological identifications through DNA barcodes*. *Proceedings of the Royal Society B* 270 (1512): 313–321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Seymour M., *et al.* (2022) *Arthropod beta-diversity is spatially and temporally structured by latitude*. *Research Square preprint*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2180975/v1>
- Sire L., Schmidt Yáñez P. L., Wang C., Bézier A., Courtial B., Cours, J., Fontaneto D., Larrieu L., Bouget C., Thorn S., Müller J., Yu D. W., Monaghan M. T., Herniou A. H. & Lopez-Vaamonde C. (2022) *Climate-induced forest dieback drives compositional changes in insect communities that are more pronounced for rare species*. *Communication Biology* 5 (1). <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02968-4>
- Steinke D., deWaard S. L., Sones J. E., Ivanova N. V., Perez K., Braukmann T. W. A., Milton M., Zakharov E. V., deWaard J. R., Ratnasingham S. & Hebert P. D. N. (2022) *Message in a Bottle—Metabarcoding enables biodiversity comparisons across ecoregions*. *GiagaScience* 11: 1 – 11. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giac040>

Uhler J., Haase P., Hoffmann L., Hothorn T., Schmidl J., Stoll S., Welte E. A. R., Buse J. & Müller J. (2022). A comparison of different Malaise trap types. Insect Conservation and Diversity 1–7. <https://doi.org/10.1111/icad.12604>