



Annexe technique au CERFA n° 13 616*01
Demande de dérogation pour la capture de spécimens de Crapaud vert
(*Bufo viridis*) à des fins scientifiques et de conservation
dans les départements du Bas-Rhin, du Haut-Rhin et de la Moselle
pour l'année 2021/2022

Projet de suivi télémétrique du Crapaud vert dans le Grand Est (2021-2022)

1. Contexte et objectifs

Le Crapaud vert *Bufo viridis* (Laurenti, 1768) est un Amphibien anoure dont la répartition en France se limite au Nord-Est du territoire continental (Moselle, Bas-Rhin, Haut-Rhin et Doubs). L'espèce est en déclin en Europe occidentale. En France continentale, elle est exposée à un risque d'extinction à moyen terme. Elle a fait l'objet d'un Plan National d'actions (PNA) sur la période 2014-2018.

En Région Grand Est, le Crapaud vert occupe principalement des milieux très ouverts, au sol faiblement végétalisé, où il peut aisément se déplacer. De par ces caractéristiques, l'espèce est presque uniquement trouvée dans des milieux pionniers créés ou modifiés par les activités humaines : carrières d'extraction de granulats, secteurs au passé minier et industriel, ou encore près des mares ou bassins artificiels, créés dans des zones remaniées et/ou environnées de terres agricoles intensives. Il occupe ainsi principalement des zones où les pressions foncières sont particulièrement élevées.

Suite à des projets d'aménagement du territoire susceptibles d'impacter les populations, des mesures d'évitement, de réduction et de compensation sont fréquemment mises en place (mares compensatoires par exemple). Cependant, ces mesures visent presque exclusivement la partie aquatique de son habitat, qui est la plus facile à caractériser. Étant plus difficile à identifier ou à délimiter, la partie terrestre de l'habitat du Crapaud vert, est rarement prise en compte et concernée par des mesures compensatoires, compte tenu d'un manque de connaissances. Ce déficit de connaissance est, pour les porteurs de projets, les services instructeurs de la DREAL et les bureaux d'études, un facteur limitant l'évaluation des impacts des projets d'aménagement et l'application de la séquence ERC.

En conséquence, la DREAL Grand Est a missionné le Cerema et l'association BUFO, afin « *d'améliorer les connaissances sur l'écologie terrestre du Crapaud vert et préconiser des*

mesures de gestion et d'aménagements des habitats terrestres ». En parallèle, un comité de pilotage, constitué d'herpétologistes et de spécialistes de l'écologie de l'espèce, a été constitué pour accompagner ce projet.

Ce comité est composé de : Damien AUMAITRE (CEN Lorraine) ; Cédric BAUDRAN (ONF / animateur national PNA Crapaud vert) ; Rémi DUGUET (expert indépendant) ; Christophe EGGERT (expert indépendant) ; Matthieu GAILLARD (Neomys) ; Myriam LABADESSE (SHF) ; Claude MIAUD (CEFE/CNRS)] ainsi que de plusieurs autres personnes travaillant sur l'espèce : Antonin CONAN (CNRS / Université de Strasbourg) ; Yves HANDRICH (CNRS/Université de Strasbourg) ; Jonathan JUMEAU (CD du Bas-Rhin) ; Jean-Baptiste LUSSON (GECNAL) ; Alix MICHON (LPO Franche-Comté) ; Marc THAURONT (Ecosphère) ; Vincent VIGNON (OGE) ; Thomas WALTZER (L'Atelier des Territoires).

Le projet faisant l'objet de la présente demande d'autorisation de capture s'insère à la suite d'un travail démarré en 2019 avec une synthèse bibliographique sur l'écologie du Crapaud vert¹, puis poursuivi en 2020 avec, notamment, une caractérisation des grandes typologies d'habitats utilisés par l'espèce à l'échelle du paysage dans la région².

En 2021-2022, les objectifs visés sont :

- **de caractériser finement les milieux terrestres utilisés par les individus au sein du domaine vital, durant la phase d'activité estivale (sites d'alimentation, refuges terrestres) et pendant la période hivernale (sites d'hivernage) ;**
- **de collecter des informations sur l'écologie spatiale de l'espèce (fréquence et amplitude des déplacements, comportement des individus en déplacement, matrice paysagère et corridors écologiques utilisés), dans des contextes paysagers représentatifs de l'aire de présence du Crapaud vert, en région Grand Est.**

2. Le protocole

2.1. Localisation des sites de l'étude

Nous envisageons de réaliser des suivis d'individus de Crapaud vert dans deux ensembles paysagers de la région Grand Est, en Moselle et dans le Bas-Rhin (Fig. 1) :

1. Moselle : site de capture initial envisagé : commune de Creutzwald (lieu-dit la Houve). Sites de recapture : département de la Moselle ;
2. Bas-Rhin : site de capture initial : commune d'Achenheim. Sites de recapture : département du Bas-Rhin.

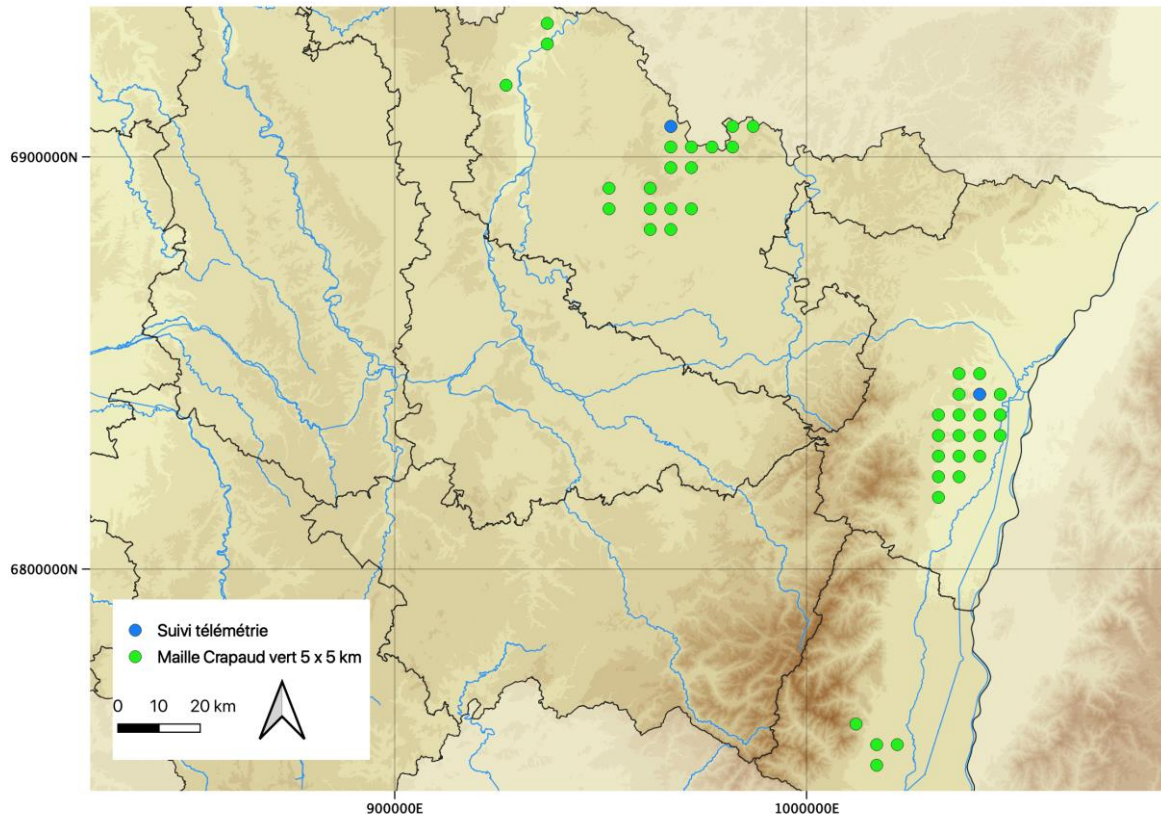


Figure 1 : Répartition du Crapaud vert dans le Grand Est par mailles de 5 km x 5 km (points verts), et localisation des sites pressentis pour le suivi télémétrique en 2021 (points bleus).

Le site de capture initial de la Houve se situe dans le Nord de la Moselle, dans la région naturelle du Warndt, proche de la frontière allemande (Sarre). Ce premier site a été choisi car il se trouve dans un contexte paysager représentatif du principal noyau de population mosellan. Il s'agit d'un vaste site au passé industriel (houillère) en cours de reconversion, à proximité de zones urbaines et forestières.

Le site de capture initial d'Achenheim (67) est une carrière d'extractions de granulats dans un contexte d'agriculture intensive, ponctué de zones d'habitations (villages), et proche de la vallée de la Bruche (prairies, boisements et canal).

Il s'agit de deux sites de reproduction, qui ont déjà fait l'objet de suivis de l'espèce et dont les milieux aquatiques rassemblent plusieurs centaines d'individus en période printanière. De surcroît ces deux sites sont facilement accessibles et nous avons l'autorisation de nous y rendre.

2.2. Capture et suivi des individus

Le projet vise à capturer sur ces deux sites un échantillon d'individus adultes ou subadultes, mâles et femelles, de les équiper d'émetteurs VHF, puis de les relâcher et de les suivre à l'aide d'un récepteur et d'une antenne.

Le suivi sera conduit sur deux périodes clés du cycle de vie du Crapaud vert, au cours desquelles les individus utilisent principalement des milieux terrestres d'après la bibliographie consultée³⁻⁵.

Sur le site Mosellan :

- la période estivale (20 individus - 2021) ;
- L'installation sur les sites d'hivernage (10 individus - 2021/2022).

Sur le site Bas-Rhinois :

- la période estivale (20 individus - 2022) ;
- L'installation sur les sites d'hivernage (10 individus - 2022/2023).

- Période estivale :

Les individus seront capturés, à l'aide d'une époussette ou à la main, en fin de période de reproduction, entre la fin avril et la fin juin : les opérations de capture seront organisées en fonction de la phénologie observée et des conditions rencontrées (durée et fin de la période de reproduction variables selon les années).

Il est envisagé de réaliser ces captures de nuit, c'est-à-dire lorsque les individus seront le plus facilement repérable (en particulier les individus en déplacement aux abords des sites de reproduction). Pour cette phase, nous envisageons d'équiper 20 crapauds en Moselle et 20 crapauds dans le Bas-Rhin.

- Installation sur les sites d'hivernage :

Nous privilégions le suivi continu des individus, depuis la fin de la période de reproduction jusqu'à l'hivernage, ce qui implique une capture avant la fin de la durée de vie de la batterie de leur émetteur. Pour cette phase nous envisageons d'équiper 10 crapauds en Moselle et 10 crapauds dans le Bas-Rhin.

Département	Commune	Nom du site	Nombre d'individus
Moselle	Creutzwald	La Houve	30
Bas-Rhin	Achenheim	Carrière d'Achenheim	30

2.3. Matériel utilisé et protocole de pose

Le matériel qui sera utilisé pour réaliser ce suivi consistera en :

- des émetteurs VHF (modèle : Ag376 ; marque : LOTEK) de masse : 0,76 g, ce qui correspond à moins de 5% de la masse corporelle moyenne des individus d'après la bibliographie disponible^{4,5}, valeur préconisée pour réduire les risques de blessures et d'impact sur la physiologie ou le comportement des individus^{6,7} ;

- une antenne active (modèle : HB9CV) et un récepteur (modèle : DJ-X11), de marque Andreas Wagener.

Nous envisageons une fixation externe des émetteurs, via un harnais en position lombaire, comme cela a déjà été réalisé dans d'autres travaux sur l'espèce^{4,5}. Nous disposons par ailleurs d'une bonne expérience dans l'utilisation de cette technique de fixation sur d'autres espèces (thèse et post-doctorat de Julian Pichenot, respectivement sur le Sonneur à ventre jaune et sur la Grenouille rousse).



Illustration d'après la thèse d'Indermaur (2008)

Par ailleurs, cette technique de pose dite « en externe » présente plusieurs avantages en comparaison d'une implantation chirurgicale (pose « en interne ») :

- elle ne nécessite ni anesthésie, ni opération chirurgicale ;
- les émetteurs peuvent être facilement retirés ou remplacés en cas de recapture des individus ;
- le dispositif de pose peut être choisi de manière à pouvoir se détacher spontanément après le suivi, si les individus ne peuvent être recapturés (par usure du harnais) ;
- la portée d'émetteurs en fixation externe est légèrement supérieure à celle d'émetteurs implantés, ce qui peut être un avantage sur des espèces mobiles comme le Crapaud vert ou dans des environnements encombrés.

Elle nous permet également de pouvoir vérifier, en cours de suivi, l'apparition éventuelle de blessures ou abrasions liées au harnais et, dans ce cas, de pouvoir retirer immédiatement l'émetteur.

2.4. Respect des règles sanitaires

Durant toute la durée du suivi nous respecterons le protocole sanitaire préconisé pour l'étude des amphibiens⁸ (voir Annexe n°2).

3. Bilan ou transmission des résultats

Un bilan des opérations et les résultats seront transmis annuellement à la DREAL GE

Références

1. Vacher, J.-P., Pichenot, J. & Morand, A. Bilan des études existantes sur l'habitat terrestre et la dispersion du Crapaud vert (*Bufo viridis*). De l'analyse des lacunes à une perspective d'acquisition de connaissances utiles à l'application de la séquence ERC dans le Grand Est. DREAL Grand Est & Bufo & Cerema. 14p. (2020).
2. Lemble, C. Description des habitats favorables au Crapaud vert (*Bufo viridis* Laurenti, 1768) : recherche des variables discriminantes à l'échelle du paysage. Université de Rennes 1, Master Patrimoine Naturel et Biodiversité & association Bufo et Cerema. 25 pages + annexes. (2020)
3. Beckmann, H., Schneeweiss, N. & Greulich, K. Die Wechselkröte (*Bufo viridis* Laurenti, 1768) in einer intensiv genutzten Agrarlandschaft Brandenburgs. *Mertensiella* **14**, 218–228 (2003).
4. Indermaur, L. Aquatic and terrestrial habitat selection by amphibians in a dynamic floodplain. Thèse. (2008).
5. Ott, M. Telemetriestudie zur Raum- und Habitatnutzung der Wechselkröte (*Bufo variabilis* Pallas, 1769) im Sommerlebensraum auf der Ostseeinsel Fehmarn. (2015).
6. Dodd, C. K. J. *Amphibian Ecology and Conservation. A Handbook of Techniques*. (Oxford University Press, 2010).
7. Richards, S. J., Sinsch, U. & Alford, R. A. Radio Tracking. in *Measuring and Monitoring Biological Diversity: Standard Methods for Amphibians* (eds. Heyer, W. R., Donnelly, M. A., McDiarmid, R. W., Hayek, L.-A. C. & Foster, M. S.) 155–158 (Smithsonian Institution Press, 1994).
8. Dejean, T., Miaud, C. & Schmeller, D. S. Protocole d'hygiène pour limiter la dissémination de la Chytridiomycose lors d'interventions sur le terrain. *Bull. la Société Herpétologique Fr.* **134**, 47–50 (2010).

4. L'équipe Bufo/Cerema

Les manipulations réalisées durant cette étude seront effectuées et/ou encadrées par des personnes expérimentées en biologie de la conservation, en particulier sur la batrachofaune en France, il s'agit de :

Fanny Gosselin

- Formation initiale : Master 2 recherche en Eco-éthologie à l'université de Neuchâtel en Suisse et Master 2 professionnel Génie écologique -Ecologie et biologie des populations à l'université de Poitiers.
- De 2013 à 2018, chargée d'étude au sein de l'association BUFO :
 - En charge du suivi des populations d'Amphibiens (carrières, ENS) et particulièrement du Crapaud vert dans le Bas-Rhin.
 - Expérience en manipulation d'amphibiens, avec des individus échantillonnés pour l'ADN par frottis buccal pour l'étude de génétique des populations et de phylogénie, pour détecter le chytride *Batrachochytrium dendrobatidis* par frottis cutané, et pour du marquage par photographie (Sonneur à ventre jaune, Pélobate brun).
- Depuis 2018, responsable coordination de projets au sein de l'association BUFO.

Vincent Clément

- Formation initiale : Master en herpétologie à la Vrije Universiteit Brussel (Belgique, 2017), incluant un inventaire herpétologique au Venezuela durant lequel diverses espèces d'anoures ont été testées pour le chytride (frottis cutané) ou échantillonnées pour d'autres études, sous la supervision de Philippe Kok.
- Expérience de terrain au sein de l'association BUFO, notamment à travers des suivis (rainette verte, sonneur à ventre jaune) et inventaires batrachologiques réalisés en tant que technicien. Chargé d'études depuis décembre 2020.

Julian Pichenot

- Formation initiale : Doctorat d'université en Biologie de la Conservation (sous la direction de Rémi Helder, Sylvie Biagianti et Pierre Joly, soutenu en décembre 2008).
- Réalisation d'études scientifiques et d'expertises naturalistes depuis près de 20 ans. Travaux de recherche portant plus particulièrement sur l'écologie spatiale et la sélection de l'habitat chez divers vertébrés dont les amphibiens. Expérience en manipulations et suivis télémétriques d'amphibiens :
Capture-Marquage-Recapture (photographie), suivi télémétrique et prélèvement d'ADN buccal sur le Sonneur à ventre jaune (doctorat) ;
Suivi télémétrique sur la Grenouille rousse (post-doctorat) ;

Anesthésies au phénoxyéthanol pour la réalisation de mesures morphométriques sur des Grenouilles vertes, des Tritons alpestres et palmés et des Grenouilles rousses ; Capture et relâcher d'amphibiens dans le cadre de sauvetages bénévoles associatifs.

- Depuis 2018, ingénieur d'études « Biodiversité et aménagement » au Cerema. Membre du Conseil Scientifique Régional du Patrimoine Naturel (CSRPN) de la région Grand Est.

Liste des travaux et publications en batrachologie : voir en annexe.

Alain Morand

- Formation initiale : Diplôme d'études approfondies (DEA) d'Analyse et Modélisation des Systèmes Biologiques en 1992 puis Thèse européenne de Doctorat (option Ecologie) en 1996 sous la direction de Pierre Joly (alors Professeur à l'Université Claude Bernard Lyon 1, *UMR 5023 Ecologie des Hydrosystèmes Fluviaux*) intégrant un Post Doctorat sous la direction de Cristina Giacomini et d'Emilio Balletto professeur(e) à l'Université de Turin.
- Expériences et compétences en identification, capture et manipulation des amphibiens (larve et adultes) ; frottis buccal et recherche du chytride sur Grenouille rousse et Alyte accoucheur, morphométrie et anesthésie au phénoxyéthanol de Grenouilles vertes, expérimentation et élevage de plusieurs larves d'espèces d'anoures, protocole CMR sur Triton crêté (photocopie de pattern ventral), etc.
- Depuis 2015, Ingénieur d'études « Biodiversité, Aménagement et Infrastructure » au Centre d'études et d'expertise sur les risques, l'environnement, la mobilité et l'aménagement » (Cerema) et Membre du Conseil scientifique de la Réserve Naturelle Nationale du Marais de Lavours au titre d'expert en batrachologie.

Liste de travaux et publications en batrachologie : voir en annexe.

Emilie Busson

- Formation initiale : formation en Aménagement du Paysage (BTSA AP en 2011 et Licence Pro. Spécialité Développement Durable du Paysage en 2012) puis BTSA Gestion et Protection de la Nature en 2018.
- Depuis 2019, assistante d'étude en Biodiversité et Aménagements au Centre d'études et d'expertise sur les risques, l'environnement, la mobilité et l'aménagement » (Cerema)

En appui à l'équipe de permanents, plusieurs stagiaires seront amenés à participer aux travaux d'analyse et/ou de terrain. Ils bénéficieront d'une formation initiale sur le terrain apportée par l'équipe de permanents ; Ils seront systématiquement accompagnés sur le terrain et effectueront les manipulations en présence d'une des trois personnes expérimentées en batrachologie et citées précédemment

ANNEXE n°1
Liste de travaux et publications en batrachologie

Thèse, publications et ouvrages (chapitre d'ouvrages) de vulgarisation scientifique

BUFO

BUFO (coord.) 2003- Liste Rouge des Amphibiens et Reptiles d'Alsace, in ODONAT (coord.), Les listes rouges de la nature menacée en Alsace. Collection Conservation, Strasbourg. 104-112.

MICHEL V. 2013. Le Crapaud vert (*Bufo viridis*) - Plan Régional d'Actions Alsace 2012-2016. BUFO / Direction régionale de l'environnement, de l'aménagement et du logement d'Alsace, 57 pages.

MICHEL V. 2013- Le Crapaud vert (*Bufo viridis*) en Alsace : statut, menaces et plan régional d'actions. Ciconia, 37 : 72-80.

MICHEL V., ZRAK E. 2015- Bilan de dix années de suivi des indicateurs de la biodiversité en Alsace. Les effectifs de Crapaud vert (*Bufo viridis*). Ciconia, 39 (2-3) : 144–151.

THIRIET J. & VACHER J.-P. (coord.) 2010- Atlas de répartition des Amphibiens et Reptiles d'Alsace. Collection Atlas de la Faune d'Alsace. Bufo, Colmar/Strasbourg, 273 p.

Fanny GOSSELIN

Gosselin F., Fizesan A., Vacher J.-P., 2018-2019-2020. Synthèse annuelle des plans régionaux d'actions en faveur des amphibiens. Association BUFO.

Gosselin F., 2010. Caractéristiques des communautés d'Amphibiens dans les marais littoraux de Brouage et d'Oléron : Modélisation de l'occupation et de l'habitat de reproduction en vue d'une gestion conservatoire. 63p

Julian PICHENOT

Publications scientifiques (* à comité de lecture)

https://www.researchgate.net/profile/Julian_Pichenot

* Cayuela H., Besnard A., Cote J., Laporte M., Bonnaire E., Pichenot J., Schtickzelle N., Bellec A., Joly P. & Léna J.-P., 2020. Anthropogenic disturbance drives dispersal syndromes, demography, and gene flow in amphibian populations. *Ecological Monographs*. 10.1002/ecm.1406.

- * Cayuela H., Lemaître J.-F. & Bonnaire E., Pichenot J. & Schmidt B., 2020. Population position along the fast-slow life-history continuum predicts intraspecific variation in actuarial senescence. *Journal of Animal Ecology*. 89. 10.1111/1365-2656.13172.
 - * Boualit L., Pichenot J., Besnard A., Helder R., Joly P. & Cayuela H., 2019. Environmentally mediated reproductive success predicts breeding dispersal decisions in an early successional amphibian. *Animal Behaviour*. 149. 10.1016/j.anbehav.2019.01.008.
 - * Cayuela H., Besnard A., Quay L., Helder R., Léna J.-P., Joly P. & Pichenot J., 2018. Demographic response to patch destruction in a spatially structured amphibian population. *Journal of Applied Ecology*. 10.1111/1365-2664.13198.
 - * Cayuela H., Joly P., Schmidt B. R., Pichenot J., Bonnaire E., Priol P., Peyronel O., Laville M. & Besnard A., 2016. Life history tactics shape amphibians' demographic responses to the North Atlantic Oscillation. *Global Change Biology* (février 2017), DOI : 10.1111/gcb.13672
 - * Cayuela H., Boualit L., Arsovski D., Bonnaire E., Pichenot J., Bellec A., Miaud C., Léna J.-P., Joly P. & Besnard A., 2016. Does habitat unpredictability promote the evolution of a colonizer syndrome in amphibian metapopulations ? *Ecology*, 97(10) : 2658-2670
 - * Cayuela H., Joly P., Thirion J.-M., Bonnaire E., Pichenot J., Léna J.-P., Miaud C. & Besnard A., 2016. Contrasting patterns of environmental fluctuation contribute to divergent life histories among populations. *Ecology* 97(4) : 980-991
 - * Cayuela H., Arsovski D., Thirion J.M., Bonnaire E., Pichenot J., Boitaud S., Miaud C., Joly P. & Besnard A., 2016. Demographic responses to weather fluctuations are context dependent in a long-lived amphibian. *Global Change Biology* (mars 2016), DOI : 10.1111/gcb.13290
- Lescure J., Pichenot J. & Cochard P.-O., 2011. Régression de *Bombina variegata* (Linné, 1758) en France par l'analyse de sa répartition passée et actuelle. *Bulletin de la Société Herpétologique de France*, 137 : 5-41.
- Pichenot J., 2009. Le point sur la répartition du Sonneur à ventre jaune (*Bombina variegata* L.) dans le département de la Marne. *Bulletin de la Société des Sciences naturelles de Reims*, 23 : 25-31.
- Pichenot J., 2009. Répartition passée et actuelle du Sonneur à ventre jaune dans les Ardennes et en Argonne. *Naturelle*, 3 : 21-30.

Thèse, publications et ouvrage de vulgarisation scientifique, guides et rapports d'étude

- Pichenot J., 2008. Contribution à la biologie de la conservation du Sonneur à ventre jaune (*Bombina variegata* L.). Écologie spatiale et approche multi-échelles de la sélection de l'habitat en limite septentrionale de son aire de répartition. Doctorat d'Université, Université de Reims Champagne-Ardenne, 2C2A-CERFE /Laboratoire éco-toxicologie UPRES EA 2069, 191 p.
- Puissauve R., De Massary J.-C. & Pichenot J., 2013. Le Sonneur à ventre jaune *Bombina variegata* (Linnaeus, 1758). Fiches d'information sur les espèces aquatiques protégées. Service du Patrimoine naturel du MNHN & ONEMA, 5 p.
- Vacher J.-P. & Pichenot J., 2012. *Bombina bombina* (Linnaeus, 1761). Sonneur à ventre de feu. In : Lescure J. & De Massary J.-C. (coord.) « Atlas de Répartition des Amphibiens et Reptiles de France ». Biotope, Mèze & Muséum national d'Histoire naturelle, Paris (collection Inventaires & biodiversité), pp. 236-237.

Alain MORAND

Publications scientifiques (*à comité de lecture)

- *Joly P. & Morand A., 1994.- Theoretical habitat templates, species traits, and species richness : amphibians in the Upper Rhone and its floodplain. *Freshwater Biology*, 31, 455-468.
- *Morand A. & Joly P., 1995.- Space utilization and habitat variability in amphibian communities in the French Upper-Rhone floodplain. *Actes du Second Congrès International Limnologie-Océanographie Hydrobiologia*. 300/301: 249-257.
- *Joly P. & Pagano A. & Morand A., 1995.- Biometrical investigations of water frogs in an alluvial valley and a plateau in Eastern France. *Zool. Poloniae.*, 39: 509-515.
- *Morand A., 1997.- Stabilité et instabilité relative de l'habitat de développement larvaire et de reproduction de *Bombina variegata* et *Bufo calamita*. L'insuffisance des modèles r-K et r-K-A. *Geobios*, MS n°21, p 23-36. *Actes du Colloque "Stratégies adaptatives des organismes récents et passés"*. 6,7,8 Novembre, Lyon 1996.
- *Morand A., Joly P. & Grolet O., 1997.- Phenotypic variation in metamorphosis in five anuran species along a gradient of stream influence *C.R. Acad. Sci. Paris*, 320, 645-652.
- Jakob C., Morand A. & Crivelli A., 1999.- Amphibian communities in a mosaic of mediterranean seasonally-flooded ponds : species richness and composition (Nature Reserve of Roque-Haute, France). Pp. 221-225. In Miaud C. & G. Guyétant (eds) : *Current Studies in Herpetology, le Bourget du Lac (SEH)*, 480 p.
- Morand A. & Yoccoz N.G., 1999.- Application of morphological analysis to the study of the species assemblages. Correlation between tadpole morphology of the two *Bufo* species and their ecology. Pp 331-337 In Miaud C. & G. Guyétant R. (eds) : *Current Studies in Herpetology, le Bourget du Lac (SEH)*, 480 p.
- *Joly P., Morand A., Plénet S. & Grolet O., 2005.- Canalization of size at metamorphosis despite temperature and density variations in *Pelodytes punctatus*. *Herpetological Journal*, 15, 45-50.
- Morand A. & Bovero S., 2013.- Les amphibiens du Parc national du Mercantour (PNM) et du Parco naturale Alpi Marittime (PNAM) : bilan des connaissances et perspectives d'études. *Nature de Provence, revue du CEN-PACA* n°2, 79-89.
- *Jumeau J, Lopez J, Morand A., Petrod L, Burel F, Handrich Y, 2020.- Factors driving the distribution of an amphibian community in stormwater ponds: a study case in the agricultural plain of Bas-Rhin, France. *European Journal of Wildlife Research*, 66, 1-18.

Thèse, publications et ouvrage de vulgarisation scientifique, guides et rapports d'étude

- Morand A., 1996.- Dynamique de la coexistence des espèces : de la théorie des perturbations à la théorie des traits d'histoire de vie. L'exemple du modèle amphibien dans l'espace alluvial du Haut-Rhône. *Thèse Européenne*. Universités Lyon 1 & Turin, 250 p
- Joly P. & Morand A., 1997.- Amphibian diversity and ecotonal habitat. In "*Biodiversity in Land-Inland water Ecotones*" Lachavanne J.B. (Ed.) *MAB-UNESCO publication*. 161-182.
- Joly P. & Morand A., 1997.- Diversité des stratégies d'histoire de vie sous un régime multifactoriel de perturbations: les amphibiens de la plaine alluviale du Haut-Rhône français. Rapport de synthèse. Rapport dans le cadre du programme intégré

« *Dynamique de la biodiversité et gestion de l'espace* ». SRAE - Ministère de l'Environnement. 33 p.

Morand A., 2001.- Une espèce vulnérable : le sonneur à ventre jaune. *Le Courrier de la Nature*, n°194, p33-37.

Morand A., 2001.- Amphibiens et reptiles, écologie et gestion. Conservation des zones humides méditerranéennes, n°11, 112 p. Série MedWet, La Tour du Valat. (disponible en Anglais).

Morand A., 2003.- Quelques réflexions en matière d'herpétologie et de gestion...De la connaissance à la gestion...et inversement. *Zones Humides Infos*, n°39, p 16-17.

Morand A. & Joly P., 2012.- *Bombina variegata* (Linnaeus, 1758). Pp 98-99 dans "*Atlas des Amphibiens et Reptiles de France*. (Lescure J. & Massary de J.-C. (coord.). Biotope, Mèze ; Muséum national d'Histoire naturelle, Paris (collection inventaires & biodiversité). 272p.

Morand A. & Joly P., 2012.- *Hyla arborea* (Linnaeus, 1758). Pp 112-113 dans "*Atlas des Amphibiens et Reptiles de France*. (Lescure J. & Massary de J.-C. (coord.). Biotope, Mèze ; Muséum national d'Histoire naturelle, Paris (collection inventaires & biodiversité). 272p.

Morand A., 2018.- Les amphibiens à la loupe. 60 clés pour comprendre. 152p. Edition Quae.

Morand A. & Carsignol J., 2019.- Amphibiens et dispositifs de franchissement des infrastructures de transport terrestre. La collection « Connaissances » du Cerema (disponible www.cerema.fr) 58p.

Morand A., 2019.- Des amphibiens dans nos paysages agricoles : quelles perspectives ? Pp 53-55 dans *Sesame* n°6 novembre 2019 – Sciences et Société, Alimentation, Mondes Agricoles et Environnement. (<https://revue-sesame-inrae.fr/des-amphibiens-dans-nos-paysages-agricoles-quelles-perspectives-1-3/>)

ANNEXE n°2

Protocole sanitaire

Bull. Soc. Herp. Fr. (2010) 134 : 47-50



Protocole d'hygiène pour limiter la dissémination de la Chytridiomycose lors d'interventions sur le terrain

A l'échelle mondiale, les amphibiens subissent d'importants déclin de populations dûs à la Chytridiomycose, une maladie émergente provoquée par le champignon *Batrachochytrium dendrobatidis* (noté par la suite *Bd*). Des déclin catastrophiques ont été observés en Australie, Amérique du Nord, Amérique centrale, Amérique du Sud et dans les Caraïbes. En Europe, des mortalités massives associées à *Bd* ont été observées en Espagne et en France, mais nos connaissances sur la prévalence de *Bd* en Europe ne sont encore que fragmentaires.

Les causes exactes de l'émergence récente de la Chytridiomycose sont encore mal connues. Néanmoins, les scientifiques s'accordent aujourd'hui à penser que ce champignon aurait été récemment disséminé à travers le monde par l'intermédiaire de matériel ayant été au contact avec *Bd*, d'eau contenant des zoospores ou d'amphibiens infectés (notamment lors de l'introduction d'espèces exotiques). Les activités humaines, dans ou à proximité de sites aquatiques, participent donc fortement à la dissémination du champignon et représentent un risque majeur pour les populations d'amphibiens. Si un individu infecté peut être efficacement traité avec un fongicide, le champignon ne peut pas être contrôlé, à ce jour, dans le milieu naturel. Néanmoins, quelques procédures simples de désinfection permettent de décontaminer les équipements, ce qui réduit notablement le risque que le champignon soit passivement transféré lors des déplacements.

L'objectif de ce document est de fournir aux personnes travaillant sur les amphibiens, ou plus largement en milieu aquatique, un ensemble de mesures de précaution à mettre en œuvre lors de leurs campagnes de terrain. Bien que ciblées sur la Chytridiomycose, ces précautions permettront également de limiter la dissémination d'autres maladies ou d'espèces végétales ou animales envahissantes.

Certaines de ces procédures peuvent être appliquées dans les laboratoires et élevages, mais il est nécessaire que les personnels impliqués se confèrent à la réglementation vétérinaire. Les mesures de biosécurité pour les amphibiens captifs pourraient différer de celles proposées pour le terrain.

RÈGLES GÉNÉRALES

1. Il existe dans le commerce plusieurs produits désinfectants efficaces pour éliminer *Bd* (alcool à 70 %, eau de javel). Néanmoins, pour des raisons d'efficacité sur *Bd* et d'autres agents infectieux (bactéries, virus et champignons), et de respect de l'environnement, nous recommandons l'utilisation du Virkon®. Le rejet de ce désinfectant dans l'environnement doit cependant être limité. Le fabricant recommande son élimination par les réseaux d'eaux usées. Avant utilisation, lire les instructions d'usage fournies par le fabricant (www.dupont.com).
2. Avant toute sortie sur le terrain, il est indispensable de s'assurer que l'ensemble du matériel qui va être utilisé (bottes, wadders, époussette) a été correctement désinfecté. En cas de doute, désinfectez-le.
3. Si plusieurs sites aquatiques doivent être visités au cours d'une même campagne de terrain, désinfecter le matériel entre chaque site. Lors d'intervention sur une pièce d'eau importante (marais, rivière, grand lac), désinfecter régulièrement le matériel.
4. En cas de manipulation d'amphibiens, il est recommandé d'utiliser des gants jetables non poudrés. Dans la mesure du possible, les individus capturés doivent être maintenus individuellement (sacs zip, boîtes plastiques) afin de limiter les contacts et les risques de transmission de la maladie entre animaux.
5. Si vous devez intervenir sur des sites où la présence de *Bd* est suspectée (observation de mortalités d'amphibiens, présence d'espèces exotiques), ou avérée, il est impératif d'appliquer rigoureusement le protocole d'hygiène.

PROTOCOLE STANDARD DE DÉSINFECTION

1. **Préparer dans un pulvérisateur une solution de Virkon® à 1 %.** Le produit devient inefficace lorsque la coloration rose disparaît. Nous recommandons néanmoins de préparer une nouvelle solution lors de chaque campagne. La solution peut être préparée sur le terrain en utilisant l'eau d'une rivière ou d'un étang.
2. **En sortant de l'eau, nettoyer le matériel** (bottes, wadders, époussette) **à l'aide d'une brosse** afin de retirer boues et débris.
3. **Pulvériser la solution de Virkon® sur l'ensemble du matériel** ayant été au contact de l'eau et **laisser agir pendant 5 minutes** avant réutilisation (de préférence jusqu'à ce que le matériel soit sec). Le petit matériel ayant été au contact avec des amphibiens (balances, ciseaux, ...) peut être désinfecté par immersion dans du Virkon® ou avec des lingettes imprégnées d'alcool à 70 %. Ne pas rincer l'équipement afin d'éviter que du Virkon® soit introduit dans l'environnement. Si besoin, le matériel peut être rincé au retour du terrain.
4. **Pulvériser du Virkon® (1 %)** sur les semelles de vos bottes ou chaussures de marche avant de quitter le site.
5. **Stocker le matériel désinfecté dans des sacs plastiques jetables** puis dans un bac plastique dans le véhicule.
6. **Désinfecter vos mains** à l'aide de lingettes imprégnées d'alcool à 70 % ou d'une solution hydro-alcoolique.
7. Au retour du terrain, **placer l'ensemble du matériel jetable** (gants, sacs, etc.) **dans un sac poubelle et pulvériser du Virkon® à l'intérieur avant de le jeter.** Les vêtements peuvent être désinfectés par un lavage en machine à 60° C.



LISTE DU MATÉRIEL NÉCESSAIRE

- Brosse
- Pulvérisateur
- Virkon® (pastilles) (*disponible notamment dans les cabinets vétérinaires*)
- Gants jetables non poudrés (*pour préparer la solution Virkon® et en cas de manipulation d'amphibiens*)
- Lingettes imprégnées d'alcool à 70° ou solution hydro-alcoolique (*disponibles en grandes surfaces et pharmacies*)
- Sacs plastiques jetables de différentes tailles (*à jeter à la fin de chaque campagne de terrain*)
- Bac plastique de stockage (*restant dans le véhicule et régulièrement désinfecté*)

(Si vous manquez de Virkon® au cours de votre campagne de terrain, et que le produit n'est pas disponible localement, vous pouvez le remplacer par de l'alcool à 70°).

Contacts

Tony DEJEAN
*Parc naturel régional Périgord-Limousin
La barde - 24450 La Coquille
t.dejean@pnrpl.com*

Claude MIAUD
*Laboratoire d'Ecologie Alpines
Université de Savoie
73376 Le Bourget du Lac
claude.miaud@univ-savoie.fr*

Dirk SCHMELLER
*Station d'Ecologie Expérimentale du CNRS
09200 Moulis
dirk.schmeller@EcoEx-Moulis.cnrs.fr*