

**Document accompagnant la demande de dérogation pour la capture d'espèce protégée à des fins scientifiques.**

**Les informations données concernent aussi la suite sur papier libre demandée dans la section « C. Finalité de l'opération » du formulaire cerfa N° 13 616\*01.**

**Demandeur :** Groupe Feiner-Uller de l'Université de Lund (Suède) ; référents : Prof. Tobias Uller ; Dr. Quentin Horta-Lacueva.

**Description détaillée de l'opération.**

L'opération a pour but la collection de données biométriques et de matériel génétique pour une étude sur des variations morphologiques et génétiques ainsi que sur l'état de conservation de populations de lézard des murailles (*Podarcis muralis*).

L'étude nécessite la capture directe, la prise de mesures au pied à coulisse, la prise de photographies standardisées et le prélèvement salivaire d'environ 30 lézards adultes.

Les spécimens seront capturés avec une méthode sélective (prospection pedestre à vue et capture à la canne à nœud coulant), mesurés et relâchés le jour même. Nous préleverons aussi les tissus avec une technique non-invasive pour analyses génomiques et phylogénétiques. Les spécimens seront disposés dans des pochons en tissus prévus à cet effet entre le moment de capture et le relâché, ceci de manière à minimiser le stress. Aucun individu ne sera prélevé.

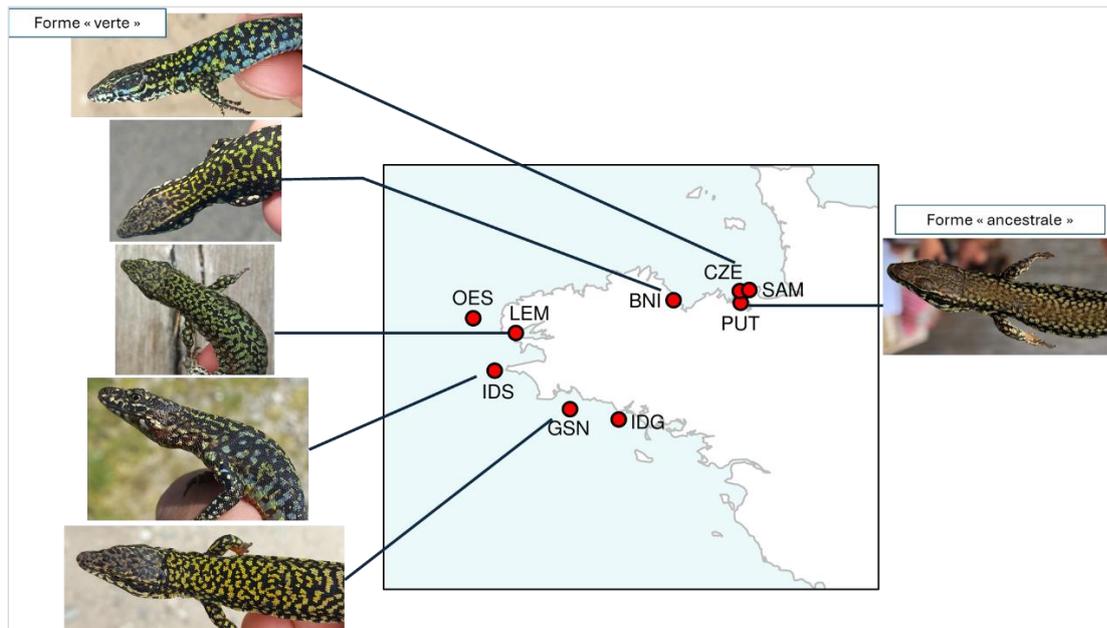
**Espèce :** Lézard des murailles, *Podarcis muralis*. 30 individus adultes, environ 15 mâles et 15 femelles.

**Finalité et justification de la recherche.**

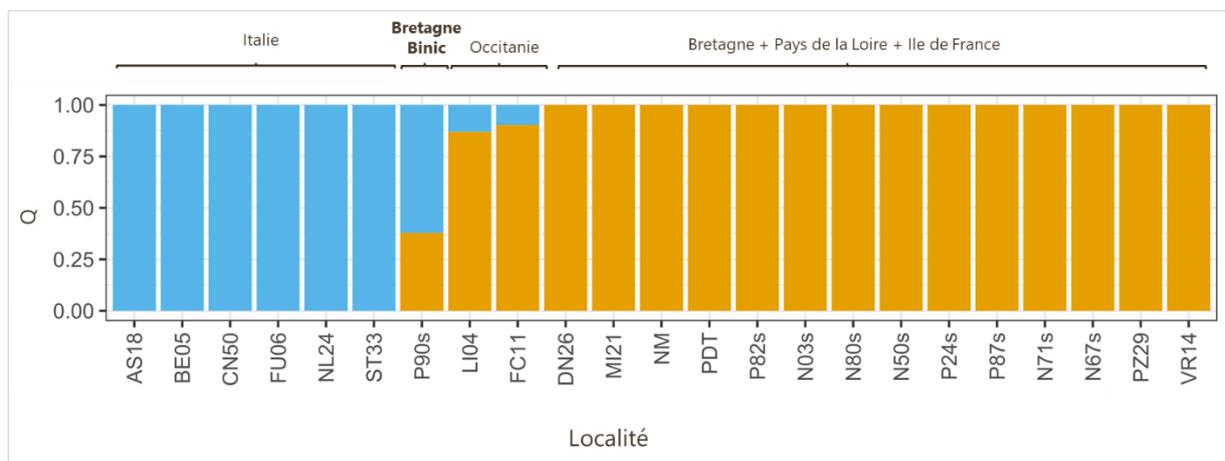
L'objectif premier du projet est d'établir les origines évolutives de caractères morphologiques extravagants observés chez le lézard des murailles (*Podarcis muralis*). Les populations de lézards des murailles d'Europe de l'Ouest, Bretagne incluse, arborent communément des

couleurs discrètes à dominante brune. Cependant, des individus abordant des couleurs dorsales vives majoritairement vertes ont été signalés sur plusieurs localités bretonnes. Ces observations d'individus « de robe verte » semblent principalement concerner des milieux insulaires (comme l'île de Cézembre et l'île d'Ouessant) mais aussi quelques sites continentaux (commune de Binic). Ces animaux ressemblent fortement à ceux de populations d'Italie centrale (la forme « *nigriventris* », autrefois considérée comme la sous-espèce *P. muralis nigriventris*). **Cela pousse à s'interroger sur l'origine des individus à robe verte signalés sur le littoral Atlantique. Celle-ci pourrait résulter de l'introduction potentielle de lézards italiens ou de l'évolution indépendante de ces traits** (au cours d'un événement évolutif unique ou répété). Le fait que beaucoup d'observations d'individus de robe verte proviennent d'îles isolées est particulièrement intrigant à ce sujet car les milieux insulaires sont connus pour faciliter des changements évolutifs.

Pendant une étude pilote en mai et juin 2024, nous avons échantillonné 300 individus sur 10 sites en région Bretagne. Nos analyses préliminaires ont permis de détecter une population introduite ou fortement hybridée à au moins une localité (commune de Binic, 22). Cependant, nous avons identifié sur plusieurs localités des individus aux caractères morphologiques exagérés comparables à la formes *nigriventris* Italienne alors que nos analyses phylogénétiques suggèrent que les populations dont ils sont issus ne sont ni hybridées, ni introduites (Figures 1 et 2). De plus, nos données préliminaires suggèrent que les populations non introduites présentant la forme verte appartiennent à une lignée encore non décrite, certainement originaire d'un refuge glaciaire isolé. **Nous souhaitons établir jusqu'où le long de la côte Atlantique les lézards de forme verte sont présents, s'ils appartiennent à une lignée commune et/ou s'ils sont issus d'événements d'introduction d'individus provenant d'Italie.**



**Figure 1. Sites échantillonnés en 2024 et photographies d'individus capturés illustrant des caractères morphologiques exubérants observés sur plusieurs localités.**



**Figure 2. Résultats de l'analyse ADMIXTURE permettant d'estimer la proportion d'ascendance des populations étudiées.** Chaque colonne décrit la proportion de variation génétique provenant d'une des deux grandes lignées évolutives pour chaque échantillon (un individu par localité). Plus de 60% du génome de l'individu échantillonné à Binic provient de la sous-espèce italienne *P. muralis nigriventris*. La moindre portion d'ascendance italienne chez les populations occitanes semble être un artéfact provenant de la non prise en compte des lignées ibériques dans nos analyses.

Nous souhaitons en outre **élucider les processus développementaux à l'origine de l'évolution indépendante de la forme verte** chez les populations de *P. muralis* en Bretagne. En collectant des données sur la couleur et les variations génétiques (cf. détails de la procédure ci-dessous) nous serons en mesure d'établir si ces populations de lézards à robe verte sont en lien avec des introductions d'individus provenant d'Italie ou sont issus de l'évolution indépendante d'une nouvelle forme de type « *nigriventris* ».

### **Nécessité d'échantillonner en Haute-Marne.**

Nos analyses préliminaires suggèrent que certaines populations de lézard en Bretagne appartiennent à une lignée ancienne cependant plus proche des populations de l'Est de la France que de celles de la côte Atlantique (Figure 3). Ces résultats contrastent avec l'état des connaissances actuelles considérant que les populations des moitiés est et ouest de la France sont originaires de deux lignées séparées par ~1.2 millions d'années d'évolution (Gassert et al. 2013). Il se pourrait donc que les lézards de type « vert » observés en Bretagne appartiennent à des populations reliques d'une lignée ancienne, supplantée depuis par les populations de la lignée présente à l'est de la France. Ces dernières auraient colonisé la péninsule depuis la dernière glaciation en contournant la Loire depuis le nord. Pour tester cette hypothèse, nous avons besoin d'échantillonner des populations de référence de la lignée est. La Haute-Marne présente des populations typiques de cette lignée et présente peu de formations géographiques permettant de suspecter un scénario complexe de recolonisation par plusieurs lignées, le département n'ayant aucune barrière physique majeure vers le Languedoc (le refuge glaciaire probable). La zone ciblée est aussi éloignée des grands centres d'urbanisme présentant des risques d'introductions de lézards d'autres lignées.

### **Implications scientifiques et d'intérêt public.**

Elucider l'origine de *P. muralis* à robe verte en Bretagne permettra la production de connaissances fondamentales aussi bien pour les sciences de l'évolution que pour les efforts de conservations menés en faveur de l'espèce.

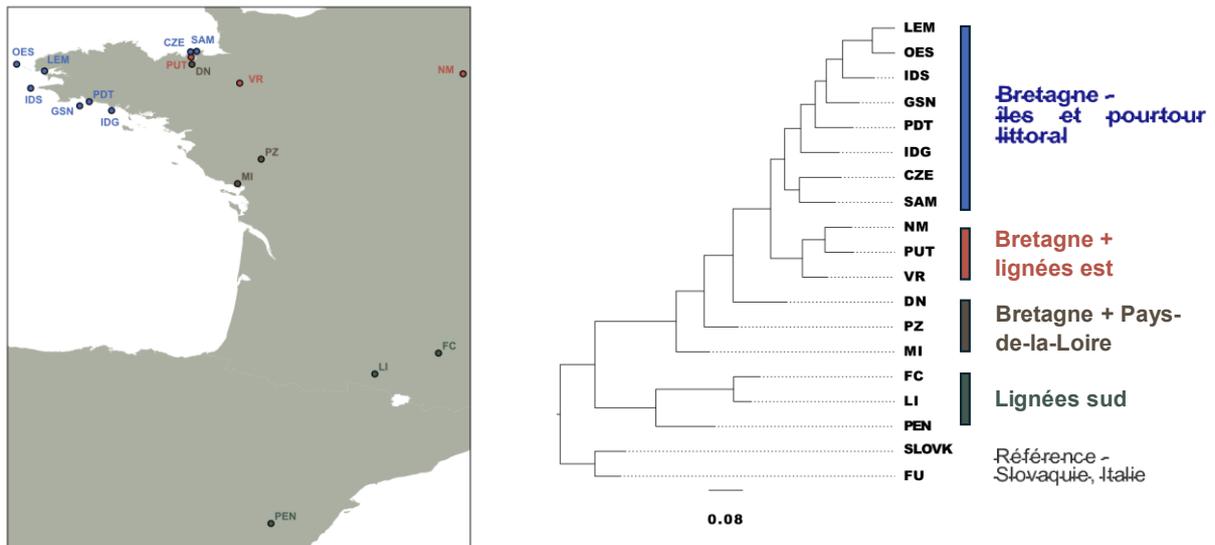
Premièrement, si les individus de forme « verte » sont issus d'une innovation évolutive indépendante apparues plusieurs fois au sein de la même lignée, les données collectées apporteront une contribution significative au projet actuellement financé par le Conseil Européen pour la Recherche (ERC, [projet 948126 « EvoOnRepeat »](#)) visant à comprendre

pourquoi l'évolution se produit de manière répétée. Les lézards appartenant au genre *Podarcis* sont un excellent exemple de groupe d'animaux très diversifiés mais chez lesquels différentes espèces ont évolué de nombreux caractères de manière récurrente. Notre programme de recherche a donc pour objectif de comparer les variations phénotypiques et génétiques entre différentes espèces de *Podarcis* afin de mieux comprendre les processus à l'origine de la biodiversité.

D'autre part, si les individus de forme « verte » forment une lignée unique en marge du littoral Breton et sur certaines îles, de nouveaux enjeux de conservation de l'espèce seront à considérer. La description de populations relictuelles appartenant à une lignée ancienne, actuellement restreinte le long de la côte Atlantique apporterait non seulement un intérêt patrimonial conséquent à l'échelle des régions Bretagne et Pays-de-la-Loire mais représenterait un enjeu majeur de préservation de l'espèce.

D'autre part, l'identification de nouvelles populations introduites d'Italie sur au moins un site (Binic) soulève des enjeux de conservation vis-à-vis de l'intégrité génétique des populations locales et de la compétition entre population introduites et autochtones. Notre équipe de recherche a déjà établi l'origine d'environ 30 populations exotiques de *P. muralis* introduites en Angleterre (Michaelides et al. 2015 ; Yang et al. 2021 ; Yang et al. 2020), à laquelle vient s'ajouter la population hybridée nouvellement découverte à Binic. Cartographier les populations introduites ou hybrides permettra d'orienter les institutions et associations gestionnaires d'espaces naturels dans leur réponse réactive et optimale face à cette problématique.

Enfin, les données génétiques collectées sur les populations insulaires permettront d'évaluer leur degré de divergence vis-à-vis des populations continentales (donc leur contribution au patrimoine naturel régional), leur diversité génétique et par extension leurs risques d'extinction. **Dans le cas de la Haute-Marne, nos données génétiques permettront aussi d'établir la diversité génétique des populations (taille effective, taux de consanguinité) qui pourront être utilisées pour orienter les stratégies de conservation de l'espèce si besoin. Nos données morphologiques permettront aussi d'établir les particularités des populations du département et ainsi d'évaluer leur valeur patrimoniale.**



**Figure 3.** Premiers résultats phylogénétiques et localisation des échantillons utilisés pour les analyses préliminaires. Plusieurs populations des îles et du littoral Breton semblent appartenir à une lignée indépendante.

### Protocole détaillé de l'opération.

#### *Capture :*

Les lézards seront capturés à vue au moyen d'une ficelle à nœud coulant tenu en bout d'une canne. Il s'agit d'une méthode sélective communément utilisée en herpétologie. Cela permet notamment de capturer l'individu ciblé rapidement et sans générer de blessure ou de perte de queue. La position GPS exacte de chaque individu sera enregistrée au moment de la capture. Les lézards seront immédiatement placés dans des pochons en tissus créés à cet effet (de manière à minimiser le stress) en attendant la prise de mesures biométriques, sous trois heures. **Aucun lézard ne sera prélevé, tous seront relâchés à l'endroit exacte de capture.**

#### *Collecte et analyse des données :*

Des mesures biométriques et des prélèvements génétiques non-invasifs seront effectués sur chaque individu. La longueur du corps, de la queue et de la tête sera mesurée au pied à coulisse digital. Des photographies standardisées seront prises pour documenter la couleur et les motifs de la robe dans le spectre du visible et dans les ultraviolets. Le temps de manipulation de chaque lézard sera d'environ cinq à dix minutes. Les lézards seront relâchés immédiatement après la prise de mesure à l'endroit même de leur point GPS de capture respectif.

Nous souhaitons collecter de matériel génétique par prélèvements au ciseau des derniers millimètres de la queue. Lors de notre étude pilote en 2024, nous avons effectué les prélèvements par écouvillonnage salivaire, alors recommandés par nos partenaires locaux car considéré en règle générale comme non invasifs. Nous avons cependant constaté que l'écouvillonnage salivaire augmente de plusieurs minutes le temps de manipulations, les individus mordant l'écouvillon et le gardant verrouillé entre leurs mâchoires. La prise de tissus sur la queue est pratiquée en routine par notre équipe dans d'autres pays soumis à la législation Européenne (Feiner et al., 2024; Yang et al., 2021, 2018) et nous n'avons jamais observé de réaction des animaux suite à ces opérations. De plus, des expériences montrent que ce type d'opération n'engendre pas d'augmentation du stress à court ou moyen terme en comparaison de la simple manipulations de l'animal (Langkilde & Shine, 2006). Nous n'avons donc pas de raison de suspecter que la collection de tissus par section du bout de la queue soit une méthode plus invasive que l'écouvillonnage salivaire ; celle-ci permettant même de limiter le stress en réduisant le temps de manipulation. Nous souhaitons donc en priorité collecter le matériel génétique par prélèvement de tissus sur la queue mais nous pourrions nous en remettre aux écouvillonnages salivaires en fonction de votre jugement.

Les analyses génétiques seront effectuées à l'Université de Lund (Suède), notre équipe de recherche étant elle-même spécialisée dans les analyses biométriques et génétiques. Nous prévoyons d'utiliser la technique ddRAD-seq pour établir la structure génétique des populations de lézards échantillonnées. En parallèle, nous effectuerons des analyses basées sur le reséquençage de génomes entiers pour identifier les variants génétiques à l'origine des variations de couleur. Ces mêmes analyses permettront aussi de déterminer l'apparentement avec les populations italiennes de lézards des murailles. Grâce à nos études précédentes chez *P. muralis nigriventris*, nous disposons déjà d'un large jeu de données génétiques sur un grand nombre de populations italiennes, ce qui aura une importance centrale dans nos analyses.

*Taille d'échantillon requise :*

Nous avons pour objectif de collecter 30 individus (~15 mâles et 15 femelles). Nous échantillonnerons 1 sites parmi les communes listées ci-dessous. Le choix final de la commune s'effectuera pendant le terrain, en fonctions de la densité de lézard observée sur les sites. Les communes candidates sont :

- Eurville-Bienville
- Chamouilley

- Chevillon
- Curel
- St-Dizier
- Voillecomte

### **Impact de l'activité envisagée.**

Nous n'avons pas de raison de suspecter un impact significatif de l'opération sur les populations échantillonnées. La méthode de capture est non-léthale et rapide. Lors de notre étude préliminaire en Bretagne sur la saison 2024, aucune mortalité n'a été constatée sur 300 lézards échantillonnés. Les animaux retrouvent un comportement normal dans les minutes qui suivent leur relâché. Tous les participants étant formés à la manipulation de reptiles, le stress des animaux et leur temps de manipulation seront minimisés pendant la prise de mesures.

Les opérations de nécessitent pas de protocole sanitaire. Les lézards seront disposés en pochons individuels lavés en machine après chaque utilisation. Les animaux ne seront jamais exposés entre eux par contact direct.

### **Modalité de compte-rendu et accès aux données et résultats.**

Les résultats seront publiés en revues scientifiques internationales et validée par critiques des pairs. Notre équipe de recherche adhère à la politique d'accès libre Open Science. Cela signifie que les publications scientifiques issues de ces travaux seront en accès libre et que les données biométriques et génétiques seront mises à disposition sur des répertoires publiques.

Les données seront aussi transmises aux services de la DREAL. Ces données serviront à alimenter le Système d'Information de l'Inventaire du Patrimoine Naturel (SINP).

Notre équipe est en communication directe avec le CPIE du sud-Champagne, structure coordinatrice de la Société Herpétologique de France à l'échelle du Grand Est. Nous nous engageons à communiquer au CPIE toutes les données qui pourraient améliorer les connaissances et les efforts de conservation de l'espèce à l'échelle de la région. Nous prévoyons d'être accompagnés sur le terrain par le personnel du CPIE.

Nous travaillons aussi en collaboration avec le Le CEntre de Recherche et de Formation en Eco-éthologie (CERFE), Université de Reims. Nous partagerons toutes les données utilisées aux programmes scientifiques de cette structure avant nos publications si besoin. Le CERFE est un relais national pour les questions liées à l'UAFS et comprends plusieurs membres formés à l'Utilisation d'Animaux de la Faune Sauvage Non-Hébergée à des Fins Scientifiques (EXPEFS), dont Maden LE BARH, ingénieur d'étude avec qui nous serons en contact tout au long des opérations.

### **Equipe scientifique.**

Notre équipe est composée de cinq chercheurs de l'Université de Lund (Suède) et de l'Institut Max Planck de Biologie Evolutive (MPI, Plön, Allemagne), dirigée par Prof. Tobias Uller et D<sup>re</sup> Nathalie Feiner (<https://feiner-uller-group.se/current-members/>). Ils sont experts sur l'histoire évolutive et la biologie générale des lézards de murailles et combinent à eux deux plus de trente ans d'expérience dans la supervision d'expéditions scientifiques. D<sup>r</sup> Quentin Horta-Lacueva supervisera les opérations sur le terrain et sera épaulé par D<sup>r</sup> Ivan Prates, D<sup>r</sup> Javier Abalos et D<sup>re</sup> Guannan Wen, tous chercheurs membres du groupe Feiner-Uller.

Les opérations seront réalisées par :

- D<sup>r</sup> Quentin Horta-Lacueva (responsable des opérations de terrain), Docteur en biologie, titulaire d'une formation Législation & Ethique, Bien-être animal et 3R («Swedish legislation & Ethics, animal welfare and 3R») en conformité avec l'Article 23 de la Directive Européenne 2012/62/EU et de son application en loi Suédoise : Swedish animal welfare act 2018:1192. D<sup>r</sup> Quentin Horta-Lacueva est spécifiquement formé à la manipulation des spécimens du genre *Pardarcis* et cumule trois expéditions sur le terrain ciblant ces animaux, dont l'étude préliminaire en Bretagne en 2024.
- D<sup>r</sup> Ivan Prates, titulaire d'une formation CITI sur le soin animal et leur utilisation dans la recherche - travail avec reptiles en conditions de recherche.
- D<sup>re</sup> Guannan Wen, Docteure en Biologie.
- D<sup>r</sup> Javier Abalos, Docteur en biologie, titulaire d'une formation sur l'éthique et la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques « Laboratory Animal Science for Researchers »,

Tous les participants ont une expérience conséquente de terrain en herpétologie et ont les qualifications requises pour la capture et la manipulation de lézards sauvages.

## Littérature.

Blanchard, R. A. É. (1891). Sur quelques variétés françaises du lézard des murailles. *Mémoires de la Société Zoologique de France* 5(5), pp. 502-508

Feiner, N., Yang, W., Bunikis, I., While, G. M., Uller, T., & Bay, S. (2024). Adaptive introgression reveals the genetic basis of a sexually selected phenotype in wall lizards. *Science Advances*, 10(14), doi:10.1126/sciadv.adk9315

Langkilde, T., & Shine, R. (2006). How much stress do researchers inflict on their study animals? A case study using a scincid lizard, *Eulamprus heatwolei*. *Journal of Experimental Biology*, 209(6), 1035–1043. <https://doi.org/10.1242/jeb.02112>

Michaelides, S. N., While, G. M., Zajac, N., & Uller, T. (2015). Widespread primary, but geographically restricted secondary, human introductions of wall lizards, *Podarcis muralis*. *Molecular Ecology*, 24(11), 2702-2714. doi:10.1111/mec.13206

Yang, W., Feiner, N., Laakkonen, H., Sacchi, R., Zuffi, M. A., Scali, S., ... & Uller, T. (2020). Spatial variation in gene flow across a hybrid zone reveals causes of reproductive isolation and asymmetric introgression in wall lizards. *Evolution*, 74(7), 1289-1300.

Yang, W., Feiner, N., Pinho, C., While, G. M., Kaliontzopoulou, A., Harris, D. J., . . . Uller, T. (2021). Extensive introgression and mosaic genomes of Mediterranean endemic lizards. *Nature Communications*, 12(1), 2762. doi:10.1038/s41467-021-22949-9

Yang, W., Feiner, N., Salvi, D., Laakkonen, H., Jablonski, D., Pinho, C., . . . Uller, T. (2022). Population Genomics of Wall Lizards Reflects the Dynamic History of the Mediterranean Basin. *Molecular Biology and Evolution*, 39(1). doi:10.1093/molbev/msab311

Yang, W., While, G. M., Laakkonen, H., Sacchi, R., Zuffi, M. A. L., Scali, S., ... Uller, T. (2018). Genomic evidence for asymmetric introgression by sexual selection in the common wall lizard. *Molecular Ecology*, 27(21), 4213–4224. <https://doi.org/10.1111/mec.14861>

Uller, T., Laakkonen, H., Michaelides, S., While, G. M., Coulon, A., & Aubret, F. (2019). Genetic differentiation predicts body size divergence between island and mainland

populations of common wall lizards (*Podarcis muralis*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 127(4), 771-786. doi:10.1093/biolinnean/blz052