



Caractérisation génétique des populations de l'Apollon (*Parnassius apollo*) Français.

Pièce jointe à la demande de dérogation pour la capture de spécimens
d'espèces animales protégées

Contexte de la demande de dérogation

Emblématique des montagnes européennes, l'Apollon (*Parnassius apollo*) a régressé au cours du XX^e siècle. Considérée comme Vulnérable (VU) à l'échelle mondiale, Cette espèce quasi-menacée (NT) en Europe, est actuellement, en Préoccupation mineure (LC) en France (UICN) ; il n'en demeure pas moins que nombre de populations de l'Apollon déclinent. La preuve en est, les "sous-espèces" du Massif central, *Parnassius apollo lioranus* et *Parnassius apollo lozerae* qui sont actuellement considérées comme En danger (EN) sur la liste rouge des espèces menacées de France. La France possède donc une responsabilité dans la conservation et la connaissance de cette espèce à l'échelle européenne.

Ce constat nous a amené en 2018 avec l'aide des parcs naturels régionaux de Chartreuse, du Vercors, des Bauges et des réserves naturelles qui leur sont associées ainsi que celle de Chastreix-Sancy en Auvergne à réaliser une première étude génétique. Les principaux résultats ont montré clairement que les populations sur ces massifs étaient pour la plupart en déclin et que génétiquement il n'y avait pratiquement pas de différence entre les populations des massifs étudiés dans les Alpes, mais que la population auvergnate était bien différenciée (Kebaïli et al 2022). Avec la mise en place du PNA Papillons de jour et grâce à une collaboration d'envergure avec tous les parcs, réserves et associations des territoires concernés, nous avons élargi cette étude à l'ensemble des massifs français (94 sites échantillonnés, 333 individus génotypés au total). Nous avons montré que les populations d'Apollon sont clairement différenciées par massif, confirmant la distinction entre les sous espèces *lioranus* et *lozerae* en Auvergne et Cévennes respectivement (Figure 1A), mais soulignant l'homogénéité génétique de l'Apollon sur l'ensemble des massifs des Alpes du Sud (Figure 1B), ce qui suggère une histoire relativement récente de colonisation des massifs alpins, depuis le massif du Jura. Malheureusement l'échantillonnage est très parcellaire dans les Alpes du Nord (Haute-Savoie, Savoie, Isère) et en Ardèche (seulement 7 individus).

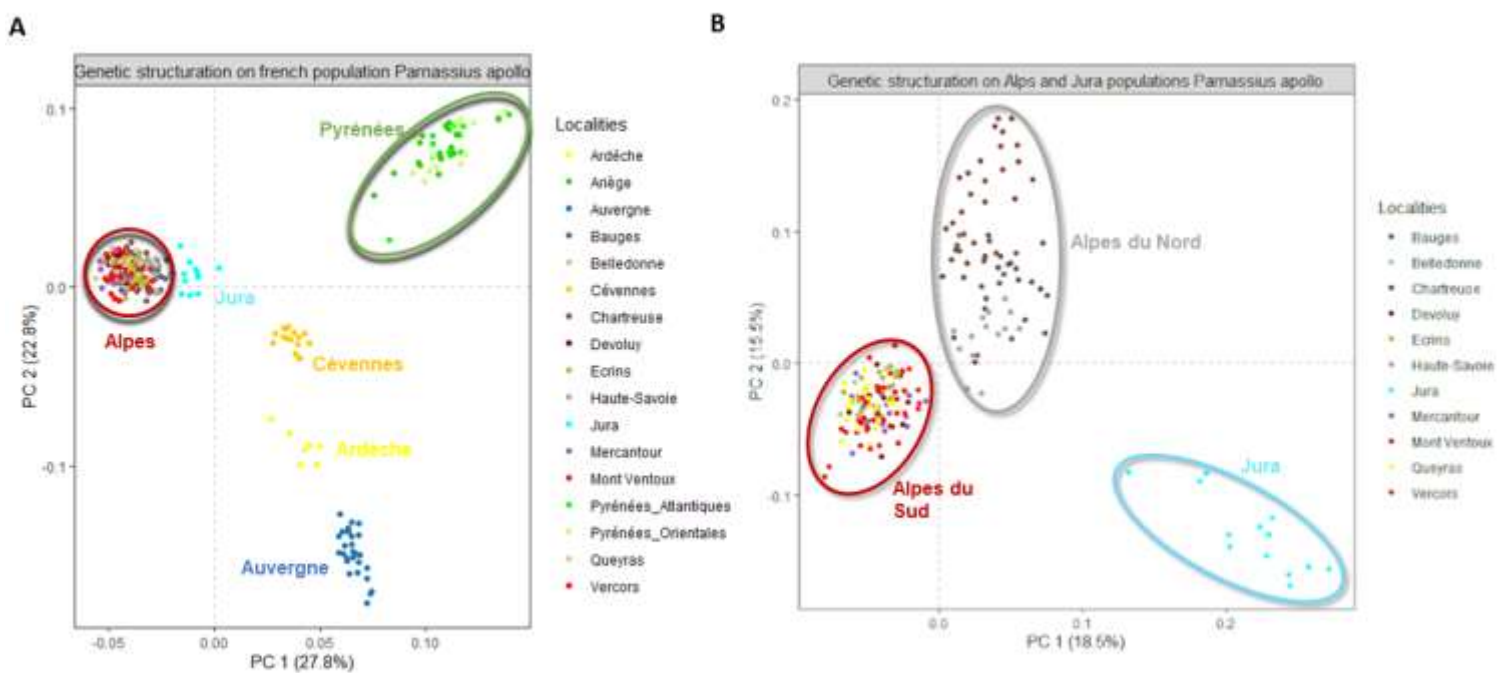


Figure 1 : Structure génétique de la population française d'Apollon (A) et focus sur les Alpes et le Jura (B). Chaque point correspond à un individu, coloré en fonction de son massif d'échantillonnage.

Nous avons mis en évidence 32 gènes dont la variation est associée au climat, ce qui suggère une adaptation locale, les populations du sud des Alpes, des Cévennes et des Pyrénées Atlantiques possédant des allèles adaptés au chaud et sec, alors que les populations du Jura et du Nord des Alpes possèdent les variants alternatifs adaptés au froid et aux précipitations (Figure 2).

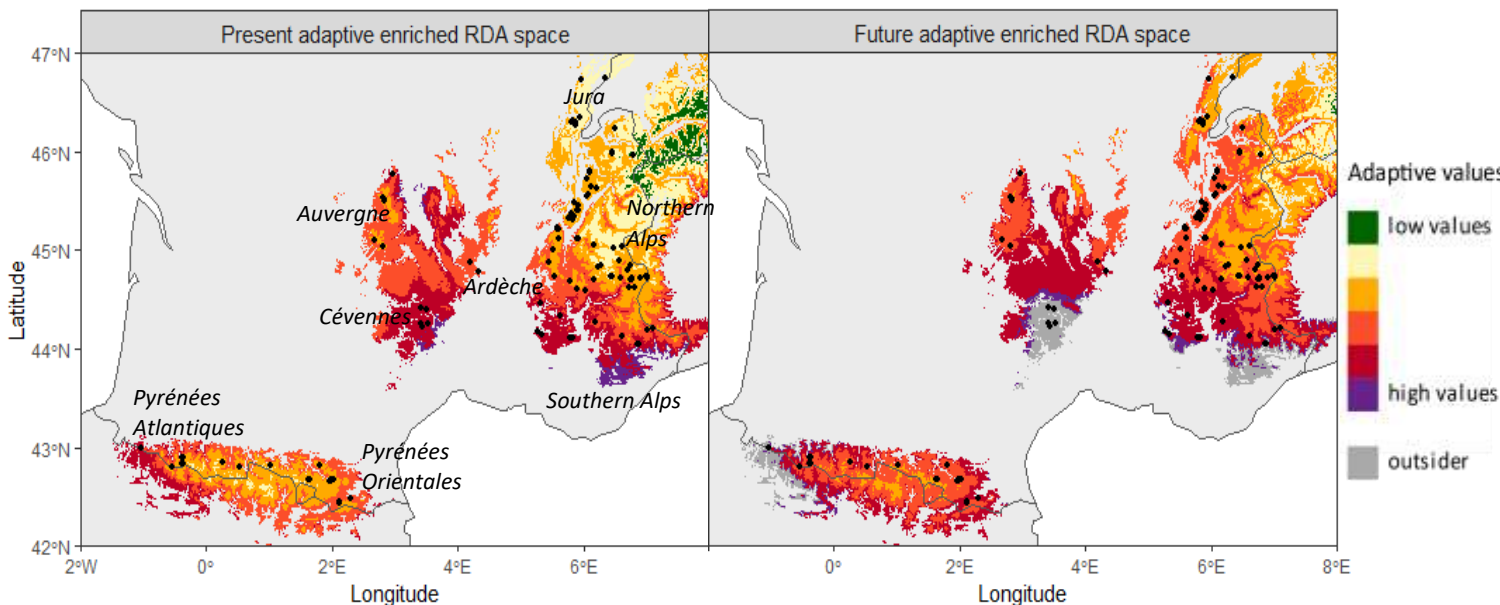


Figure 2 : Composition génétique (32 loci adaptatifs) des populations d'Apollon dans les massifs Français, et projection de la composition nécessaire pour se maintenir dans leur habitat dans les conditions climatiques futures (projection 2060-2080). En grisé, les zones où les conditions climatiques seront en dehors de la niche climatique actuelle. En rouge, les zones où les allèles 'chaud' sont présents/seront nécessaires, en vert celles où sont présents/seront nécessaires les allèles 'froid' dans les conditions climatiques actuelles/futures.

Objectif :

L'objectif de la demande de dérogation est de compléter notre échantillonnage (non légal : 1 patte médiane prélevée avec relâché immédiat) dans le cadre d'une thèse qui débute (Flora Lambert-Auger ; 2023-2026) grâce au financement d'une entreprise de l'Oisans (CMCA des Ougiers). Ce travail d'analyse génétique complémentaire permettra d'évaluer à plus fine échelle l'état de conservation des populations d'Apollon. De plus, nous mènerons une analyse de génétique du paysage afin d'identifier quelles sont les barrières à la dispersion dans les différents massifs. Notre hypothèse est que les vallées larges et profondes (vallée du Rhône, vallée de l'Isère) ainsi que la couverture forestière constituent des barrières majeures à la dispersion de l'Apollon.

À terme, le but de ce projet est de pouvoir connaître tant à l'échelle nationale que locale les enjeux de conservation pour cette espèce et ainsi agir efficacement (liste rouge, actions de gestion, renforcement de population, etc.).

Il s'agit donc essentiellement d'un objectif de recherche.

Les pattes prélevées sur le terrain par les différentes structures et partenaires impliqués dans ce projet (voir la partie 'Moyens humains') seront envoyées à Laurence Després au Laboratoire d'Ecologie Alpine (LECA-Grenoble) qui coordonne l'étude au niveau national et effectuera les analyses génétiques.

I- Sites et protocole

A - les sites

L'échantillonnage complémentaire dans les Alpes du Nord, et en Ardèche viendra s'ajouter aux 333 échantillons déjà génotypés (Figure 3).

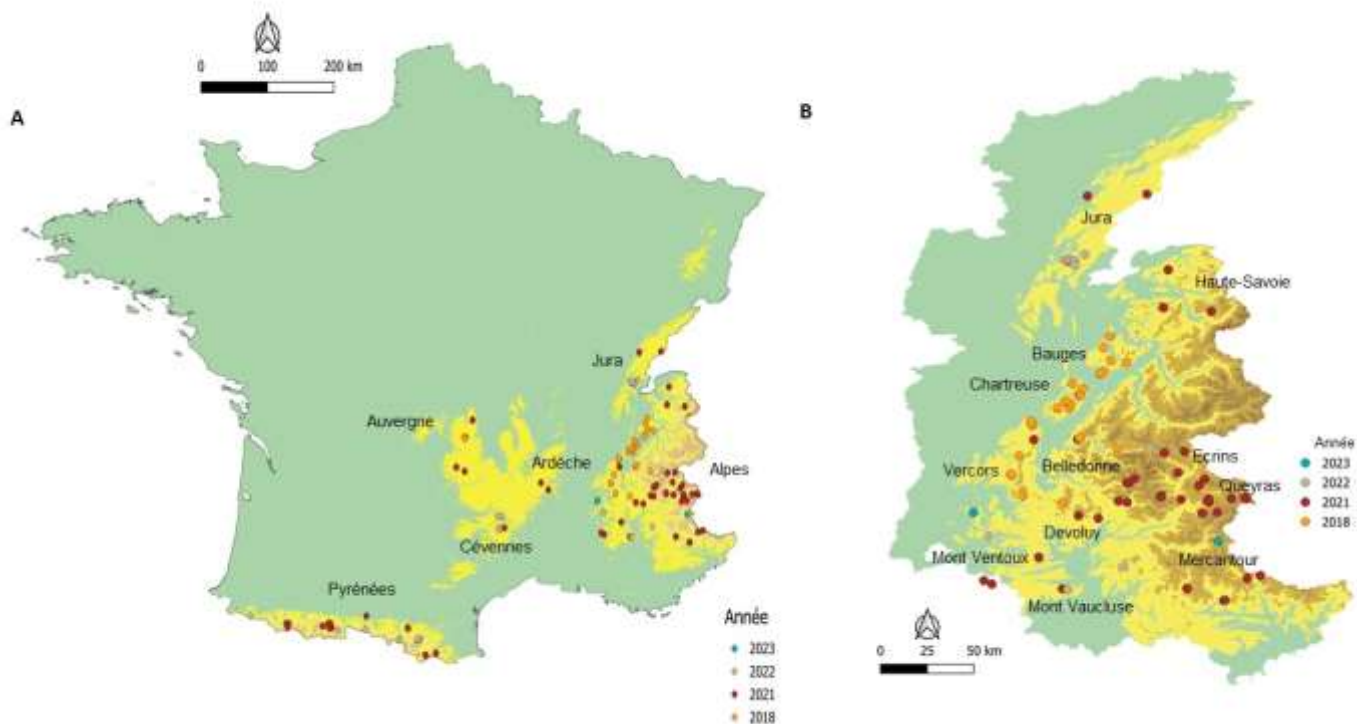


Figure 3 : Cartographie des 94 sites échantillonnés (333 individus) en 2018, 2021, 2022 et 2023 dans les différents massifs français (A), et dans le Jura et les Alpes (B).

Malheureusement étant donné les mauvaises conditions météo en 2023, plusieurs sites prospectés n'ont pas pu être échantillonnés, ou de façon incomplète (moins de 5 individus), ce qui compromet la robustesse des analyses génétiques.

L'objectif de cette demande de dérogation est de **compléter l'échantillonnage dans 4 départements de la région Rhône-Alpes** (sites partiellement échantillonnés ou prospectés sans succès ou pas encore prospectés) :

- **Dept 07 (Ardèche)**

Deux sites ont été échantillonnés en 2021 mais avec seulement 1 individu pour un des sites (ROC-07)
Collecteur : Damien Cocâtre (PNR Monts d'Ardèche)

2 sites : ROC-07 (complément) et PRA-07 (nouveau site sur la commune de St Clément)

10 individus maximum

Pour l'échantillonnage dans les Alpes du Nord, la population étant de grande taille et continues, nous indiquons les massifs où un complément d'échantillonnage est nécessaire sans indiquer précisément les sites d'échantillonnage.

- **Dept 74**

Collecteur : Bernard Bal (CEN 74) et Kevin Gurcel : massif du Mont-Blanc et Haut-Giffre

Philippe Bordet, Yann Baillet (FLAVIA) : Mont Salève et Mont Vuache, massif du Mont-Blanc et du Haut-Giffre

Laurence Després, Mathieu Joron et Flora Lambert-Auger : massif du Mont-Blanc et du Haut-Giffre, Mont Salève et Mont Vuache, Val Thorens

20 individus maximum

- **Dept 73**

Collecteurs : Philippe Francoz et Philippe Bordet, Laurence Després, Yann Baillet, Mathieu Joron et Flora Lambert-Auger

20 individus maximum

- **Dept 38**

Collecteurs : Laurence Després, Mathieu Joron et Flora Lambert-Auger (LECA), Philippe Bordet, Yann Baillet (FLAVIA)

24 individus maximum

Rappel : échantillonnage non léthal avec relâché immédiat : 1 individu= 1 patte médiane (cf. ci-dessous) Au total 74 individus maximum pendant les 3 saisons de terrain 2024-2026.

B - Méthodologie

Génétique des populations

L'analyse de la diversité génétique intra et inter-population permet d'inférer des paramètres démographiques clés pour la gestion des espèces menacées d'extinction. Grâce au développement de nouvelles techniques de séquençage (ddRADseq : double digest amplified DNA sequencing), il est maintenant possible, à partir d'une seule patte prélevée par individu, et sur un faible nombre d'individu par localité, d'avoir une estimation très précise des paramètres démographiques (taille efficace, consanguinité, dispersion/migration) des populations d'une espèce, car le faible nombre d'individus est compensé par un large échantillonnage de marqueurs génétiques co-dominants, permettant une excellente estimation de la diversité génétique intra et interpopulationnelle. L'étude de 2018-2019 s'est basée sur cette technique et elle s'est révélée efficace. Ainsi, comme lors de l'étude précédente, seule une des deux pattes centrales est prélevée sur l'individu. Cette technique ne semble pas ou peu affecter le taux de survie des papillons (Marschalek et al., 2013 ; Roland et al., 2000 ; Hamm et al., 2010 ; Koscinski et al., 2011). La patte est délicatement arrachée à la base (au niveau du thorax) à l'aide d'une pince et immédiatement placée dans un tube à vis contenant un mL d'éthanol 75°. Chaque échantillon est étiqueté avec un code qui permet de retrouver son site d'échantillonnage et les coordonnées géographiques précises de capture. Les échantillons sont conservés au frais avant envoi par la poste au LECA. Afin d'avoir un échantillon reflétant la population étudiée, 5 à 6 individus seront impactés. Le choix se portera si possible sur des individus mâles afin de ne pas provoquer de "stress" inutile chez les femelles. Les prélèvements se feront sur des populations plus ou moins éloignées, afin de tisser un réseau de populations qui couvre le plus grand territoire possible. Les populations échantillonnées contiennent au minimum 100 individus.

L'ADN extrait sera digéré et amplifié puis séquencé pour être analysé. Cette méthode permet d'obtenir plusieurs centaines de marqueurs nucléaires codominants et d'inférer tous les paramètres démographiques indispensables à une gestion concertée à l'échelle nationale de cette espèce menacée d'extinction.

C - Résultats attendus

- Des éléments de connaissance sur l'histoire évolutive des populations de *Parnassius apollo* dans les massifs montagneux français
- Une estimation de leur taille, du taux de consanguinité, et des flux géniques entre populations et entre massifs.
- Une caractérisation des facteurs environnementaux (altitude, température, précipitations, type d'habitat, degré de fragmentation...) qui influent sur la dispersion et la survie de cette espèce.
- Prédire le risque de maladaptation des populations face au réchauffement climatique.
- Proposer des actions en faveur de leur conservation (restauration d'habitat, amélioration de la connectivité paysagère, transplantation d'individus...).

II- La valorisation des résultats

Elle sera réalisée par différents outils de communication scientifiques et également à l'attention du grand public, comme le LECA le fait régulièrement. Un article a été publié sur les résultats de la saison d'échantillonnage 2018 en région AuRA (Kebaili et al 2022). Une vidéo présentant les résultats obtenus sur la vulnérabilité génétique de l'Apollon au réchauffement climatique est d'ores et déjà accessible à tous : <https://www.vertigestudios.com/apollon>

- Ce travail étant réalisé dans le cadre d'une thèse au LECA, au moins une publication scientifique est prévue à l'issue de l'étude.

- Les résultats des travaux de génétique des populations du LECA ont été régulièrement présentés lors des Comité de Pilotage nationaux de PNA Papillons (Décembre 2021 et Janvier 2024) et régionaux PRA (AuRa, Septembre 2019 ; PACA, Mars 2021; AuRA Janvier 2022) et continueront à l'être au fur et à mesure de leur avancement.
- Vis à vis du grand public, il est prévu de communiquer largement sur les résultats via les outils de communication du pôle invertébrés et de l'INPN : site internet, articles de vulgarisations, vidéos, etc.
- Les résultats de cette étude seront également communiqués de manière large à l'ensemble du réseau d'acteurs de l'environnement.

III- Planning prévisionnel

Les sessions d'échantillonnage commenceront en mai et se termineront en septembre. Compte tenu du caractère aléatoire des campagnes d'échantillonnage nous demandons une dérogation sur 3 années (Mai 2024-Septembre 2026).

IV- Moyens humains

Dans le cadre de cette étude, plusieurs personnes sont susceptibles d'intervenir lors des prélèvements. Comme précisé dans la méthodologie, les personnes citées ci-après captureront et prélèveront une patte centrale sur un individu mâle d'Apollon pour permettre une analyse génétique.

Association Flavia APE

- > Bordet Philippe / Trésorier.
- > Baillet Yann
- > Francoz Philippe / Animateur.
- > Gurcel Kevin / Animateur.

Laboratoire d'écologie alpine (LECA)

- > Després Laurence / Enseignant-chercheur.
- > Lambert-Auger Flora / Doctorante
- > Mathieu Joron / Chercheur

Asters-CEN74

- > Bernard BAL chargé de mission expertises et connaissances

PNR Monts d'Ardèche

- > Damien Cocatre / chargé de mission

Il est à signaler que toutes les personnes ci-dessus sont formées à la capture et à la manipulation d'un papillon.