

Présentation du projet RE-CO Crapauds

REstauration des **CO**ntinuités écologiques en faveur des **Crapauds** communs

Lieu : commune de Doussard (74)

Nombre d'années du projet : 3

Ce projet est porté par Asters-CEN74, également gestionnaire de la réserve naturelle nationale du bout du lac d'Annecy accompagné de Scimabio Interface, du CEFÉ-CNRS et de la LPO AuRA. Le protocole de marquage a fait l'objet d'un dépôt auprès du comité d'éthique en expérimentations animale CECCAPP n°CE015, et a reçu un avis favorable de ce comité en date du 19/02/2024. SCIMABIO Interface est en outre agréée pour l'utilisation d'animaux à des fins scientifiques sous le n°C74-1589 selon l'arrêté préfectoral 2022_01523 du 27/04/2022, étendu aux amphibiens (selon l'arrêté 2023_03901 du 7/12/2023).

L'objectif du projet est d'améliorer la fonctionnalité des corridors écologiques pour les amphibiens et mieux évaluer l'impact des actions de restauration :

- Evaluer le bénéfice des ouvrages de franchissement existants et en améliorer la fonctionnalité pour optimiser les investissements réalisés sur les sites ;
- Etudier plus largement la raison du déclin de ces populations pour trouver des solutions de restauration des corridors ;
- Développer des méthodologies d'analyse de l'impact des actions de restauration basées sur des technologies innovantes (RFID).

La demande d'autorisation concerne plus spécifiquement le suivi comportemental de la population de crapaud commun au niveau de route RD909a équipée de passages à amphibiens.

Il a pour but d'évaluer le bénéfice des récents aménagement (passages à petite faune notamment) pour éviter l'écrasement de la population de Crapauds communs.

Contexte

Les passages à petites faunes ou crapauducs sont des aménagements dont l'efficacité reste peu documentée. Un suivi des individus autour du dispositif pour comprendre leurs déplacements permettrait d'améliorer les aménagements existants, de guider de futurs aménagements et de justifier la mise en œuvre de dispositifs similaires sur d'autres sites d'écrasement.

Le projet sera supervisé par un comité de pilotage comprenant des représentants des services de l'état (Agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse, Conseil départemental, OFB = Office français de la Biodiversité, DREAL = Direction régionale de l'environnement, de l'aménagement et du logement, DDT = Direction Départementale des Territoires).

Il est financé en partie par l'agence de l'eau RMC dans le cadre de l'Appel à Projets « Eau et Biodiversité » et permettra de définir des conclusions techniques qui pourront être reprises sur d'autres projets du même type ou sur des futurs projets d'aménagement de passage à petite faune.

Description et objectif de l'action

Les amphibiens ont un cycle de vie complexe, composé d'une phase aquatique (reproduction et stade larvaire), mais aussi d'une importante phase terrestre généralement forestière qui constitue la plus grande partie du cycle de vie (zones de chasse, d'estivage, d'hivernage). Si la première phase est très étudiée, les connaissances sur la phase terrestre sont en revanche plus limitées, du fait de la difficulté de suivre des individus en déplacement. Dans le cas d'espèces protégées comme les amphibiens, il est d'autant plus essentiel de comprendre l'utilisation des habitats pour restaurer ou assurer leur connectivité. L'étude portera sur une population de crapaud commun dont les habitats terrestres et aquatiques se situent de part et d'autre d'une route départementale. Cette route a été récemment équipée de « batrachoducs » de manière à faciliter l'accès des crapauds aux mares qui constituent les sites de reproduction, et limiter les risques d'écrasements routiers. Le projet a pour but la conservation de cette population en agissant sur l'amélioration de la connectivité des habitats occupés par l'espèce.

L'objectif est d'évaluer le comportement des crapauds communs au voisinage de cette route : fonctionnalité des dispositifs de guidage, attractivité et franchissabilité des batrachoducs. L'étude se focalisera en priorité sur les périodes de migration avant et après reproduction. La méthodologie proposée implique l'implantation sous-cutanée de transpondeurs passifs RFID (Radio Frequency Identification), ci-après nommés « PIT tags ». Des dispositifs de détection fixes seront installés au niveau de 2 batrachoducs afin de caractériser le comportement des crapauds et mettre en œuvre le cas échéant des mesures complémentaires pour améliorer leur efficacité (attractivité et franchissabilité). Le suivi sera réalisé sur 2 années minimum et jusqu'à 3 ans, pour prendre en compte la variabilité des conditions environnementales et pouvoir tester d'éventuelles mesures correctives. Si le quota d'animaux marqué n'est pas atteint, le projet prévoit le report des marquages l'année suivante.

Déroulé de l'action

L'espèce cible est le crapaud commun (*Bufo bufo*), espèce protégée selon l'arrêté du 19 novembre 2007 qui figure parmi les espèces d'amphibiens rhônalpines les plus fréquemment observées et les plus abondantes. L'espèce est toutefois en déclin, notamment lié aux écrasements par les infrastructures routières et aux autres ruptures de continuités. La préservation et la restauration des corridors écologiques empruntés par cette espèce sont de nature à être bénéfiques à d'autres espèces cibles : micromammifères, reptiles, insectes et même d'autres amphibiens, présents en moindre abondance mais associés potentiellement à des statuts de protection plus forts.

Méthodologies envisagées :

La technologie RFID repose sur des « Passive Integrated Transponder » ou PIT-tag permettant l'identification individuelle des individus grâce à une marque dite passive car dépourvue de batterie ce qui lui permet d'avoir une durée de vie illimitée. Elle est chargée de façon inductive par le lecteur

lorsqu'elle passe à proximité. L'utilisation de cette technique **nécessite de capturer au moins une fois les individus à suivre pour pouvoir les marquer**. Ensuite la détection de la marque peut être réalisée à courte distance (20 à 40 cm) par des dispositifs fixes ou mobiles sans nécessiter la recapture des individus marqués.

- Capture des individus

Les captures des crapauds auront lieu pendant la période de migration pré-nuptiale, vers les zones de reproduction ; qui s'échelonne entre mi-février et mi-avril. Les migrations sont généralement nocturnes et sont déclenchées par le redoux et suite à des précipitations. Les crapauds seront capturés à l'aide de filets tendus à la lisière du cordon boisé, placés parallèlement à la route et en haut de talus afin que les individus se retrouvent bloqués. Cette méthode est communément employée sur les sites d'écrasements par la LPO AURA notamment qui réalise sur le département des opérations de captures d'amphibiens en migration pour limiter les écrasements routiers en période de reproduction. Pour cette étude, un filet en nylon de 200 mètres linéaires, 80 cm de haut et avec une maille de 14x3mm sera déployé. Le filet sera mis en place en début de saison de migration, puis vérifié chaque matin tant qu'il sera en place. Les crapauds se trouvant bloqués longeront le filet pour le contourner et tomberont dans des seaux de 15L enterrés placés tous les 10 mètres environ. Les seaux seront percés pour éviter toute accumulation d'eau, le fond sera recouvert de litière humide afin de réduire le risque de dessiccation des amphibiens, qui séjourneront plusieurs heures dans les seaux selon l'heure de capture. Les crapauds seront récupérés le matin à la main puis placés dans un bac de stabulation de 50L de couleur sombre et recouvert d'un couvercle dans l'attente d'être marqués dans un délai de 2 à 3 heures. En cas de captures d'individus trop petits (< 50 mm entre le museau et le cloaque), les individus seront relâchés de l'autre côté de la route après avoir été comptés et si possible sexés. Les opérateurs porteront des gants en latex non poudrés ou en nitrile.

Seuls les crapauds communs seront marqués par PIT tag ; en cas de captures d'autres espèces, ces individus seront immédiatement relâchés de l'autre côté de la route.

- Choix des émetteurs

Des PIT tags de technologie « Half Duplex » seront utilisés. Les PIT tags de 12 mm sont utilisés, conformément aux recommandations de la littérature pour cette espèce (Salazar et al., 2016 ; Testud, 2021). Le marquage par transpondeurs est couramment utilisé dans les études sur les amphibiens qui nécessitent une identification individuelle et pour lesquelles l'utilisation des patrons individuels de coloration ne sont pas utilisables (comme le Crapaud commun). Un exemple récent de cette utilisation est le marquage de plus de 3000 tritons et 1000 anoures dans le cadre de la thèse de G. Testud (2021).

- Effectifs marqués

Au maximum 500 individus adultes seront marqués par PIT tag, dont 100 maximum marqués avec un double marquage temporaire (peinture fluorescente). L'effectif sera réparti équitablement sur les 2 années de marquage (250 individus / an). Si les effectifs ne sont pas atteints à l'issue des 2 ans, ils seront reportés les années suivantes, sans dépasser 3 années maximum.

- Biométrie et marquages

Le PIT tag sera préalablement désinfecté au laboratoire avec de la Vétédine puis rincé à l'eau ultrapure avant d'être chargé dans une aiguille désinfectée à l'alcool à 70%, qui est fixée à un injecteur. Chaque crapaud adulte sera d'abord analgésié au niveau dorsal à l'aide de 0.5 mL de crème EMLA 5% (lidocaïne 2.5%, prilocaïne 2.5%), au moins 5 minutes avant le marquage. Le temps d'induction de la crème EMLA est de 1 à 2 minutes (jusqu'à 3-5 min selon individus ; Vogt et al., 2007). Dès les premiers signes d'animaux titubants, un test de retournement des animaux est réalisé pour vérifier que l'anesthésie est suffisante : l'animal étant placé sur le dos, s'il n'est plus capable de se retourner alors il est assez anesthésié. Les restes de crème seront immédiatement rincés abondamment. Les individus seront ensuite mesurés (longueur museau-cloaque en mm), pesés (+/- 0.1g) et sexés par observation visuelle. La puce sera injectée après pincement de l'épiderme dorsal dans le sac lymphatique dorsal, à l'intérieur de la cavité intra-cœlomique, localisation qui permet une bonne rétention des puces même après plusieurs années (perte max de 5% ; 100% de rétention d'après Brown, 1997). Ces puces ne contiennent pas de revêtement en parylène (induit une migration et une expulsion de la puce chez les amphibiens). Aucune suture ne sera réalisée, le point d'injection se refermant rapidement sans intervention dès le lendemain du marquage (Salazar et al., 2016). La capsule en verre biocompatible des tags empêche l'irritation des tissus (Gibbons et Andrews, 2004).

Marquage temporaire : Après injection du PIT tag, 10 individus par session de marquage (soit environ 50 individus au total par année) seront également marqués à l'aide d'une peinture fluorescente (Eggert, 2002, Rittenhouse 2006, et Dayon et al. Soumis sur le Pélobate brun), afin de suivre leur comportement depuis le site de relâcher. La peinture est composée de pigments fluorescents mélangés à de l'huile de paraffine, le mélange est chimiquement inerte et ne présente de danger ni pour les animaux, ni pour l'environnement. La peinture est appliquée au pinceau à poils souple sur la face ventrale des individus. En se déplaçant les animaux laissent une trace colorée facilement détectable à l'aide d'une lampe UV, sur plusieurs dizaines de mètres. Des peintures de différentes couleurs seront utilisées afin de distinguer plus facilement les individus.

- *Suivi des individus marqués*

Les individus marqués par PIT tags seront détectés à distance par les antennes fixes installées au niveau de 2 tunnels aménagés sous la route. Les antennes RFID sont reliées à un boîtier récepteur placé à proximité de la route, permettant d'alimenter les antennes et d'enregistrer et d'horodater les détections de PIT tags. Les PIT tags de 12 mm peuvent être détectés à une distance de 20 à 50 cm. Le design des antennes positionnées dans chaque tunnel (4 antennes / tunnel) garantit une détectabilité optimale des crapauds.

Le cheminement des individus marqués par peinture fluorescente sera analysé sur la base de photos prises sous lampe UV permettant de révéler les traces des individus sur quelques dizaines de mètres (la peinture disparaît ensuite rapidement) et les comportements fins au voisinage des points de relâcher (comportement d'escalade des parois de guidage au niveau de la route, passage sur la route, refus d'entrer dans les tunnels, trajet retour vers la forêt, ...).

Bénéfices attendus de l'action

Cette étude devrait permettre de mieux connaître le comportement des crapauds communs au niveau des batrachoducs lors de la migration de reproduction (délai d'entrée, refus, temps de franchissement) ainsi que les déplacements retour après reproduction, encore peu décrits. Les

résultats permettront le cas échéant de mettre en œuvre des mesures visant à améliorer l'efficacité des dispositifs et plus globalement la connectivité des habitats utilisés par l'espèce.

Compte-rendu des opérations

Un Comité de pilotage annuel du projet est mis en place auprès duquel le projet et ses différentes phases d'avancement seront présentées et validées.

Un bilan d'exécution de l'ensemble de ces opérations sera réalisé et transmis à la DREAL et autres autorités compétentes.

Enfin, l'ensemble des connaissances acquises seront vulgarisées au travers d'un guide technique sur les mesures de restauration de la trame turquoise.