



© L.Barthe

# ÉTUDES ET SUIVIS DE POPULATIONS CHEZ LA CISTUDE D'EUROPE

## PERTINENCE ET MISE EN ŒUVRE

Document de travail V4 – Février 2022



## Rédaction

Stéphanie Thienpont (SHF)



## Comité de rédaction

Naïs Aubouin (Nature environnement 17)

Jean-Marie Ballouard (SOPTOM)

Laurent Barthe (SHF)

Frédéric Beau (Association Epiméthée)

Maud Berroneau (Cistude Nature)

Sébastien Caron (SOPTOM)

Jean-Michel Catil (NEO)

Marc Cheylan

Séverine Hubert (DREAL Auvergne Rhône-Alpes)

Damien Lerat (SHNA)

Anthony Olivier (Tour du Valat)

Florian Plault (CEN PACA)

Pauline Priol (Statipop)

Lydia Razafindralay (CD 67)

Sylvain Ursenbacher (Université Bâle)

Jean-Marc Thirion (OBIOUS)

**Citation du rapport :** Thienpont S., Aubouin N., Ballouard J-M., Barthe L., Beau F., Berroneau M., Caron S., Catil J-M, Cheylan M., Hubert S., Lerat D., Olivier A., Plault F., Priol P., Razafindralay L., Usenbacher S. Thirion J-M, (2021). « Études et suivis de populations chez la Cistude d'Europe – Pertinence et mise en œuvre ». Société Herpétologique de France. 49 p.



# SOMMAIRE

1. L'acquisition de connaissance .....	8
<b>CAS N°1</b> .....	9
Acquisition de connaissances en amont d'un projet d'aménagement pour la mise en œuvre des mesures d'évitement de la séquence ERCA .....	9
<b>CAS N°2</b> .....	13
Acquisition de connaissances sur un site conventionné ou propriété d'un organisme ayant vocation à mettre en place une gestion du milieu naturel.....	13
<b>CAS N°3</b> .....	18
Acquisition de connaissances dans le cadre de travaux de recherche sur l'espèce .....	18
2. Accompagnement d'un projet de réintroduction ou de renforcement.....	22
<b>CAS N°4</b> .....	23
Accompagnement d'un projet de réintroduction ou de renforcement.....	23
3. Évaluation de l'impact de travaux dans le cadre de la gestion d'un site naturel.....	26
<b>CAS N°5</b> .....	27
Évaluation de l'impact de travaux dans le cadre de la gestion d'un site naturel.....	27
4. Évaluation de la mise en œuvre de la séquence ERCA.....	31
<b>CAS N°6</b> .....	33
Encadrement des mesures de réduction, compensation et accompagnement de la séquence ERCA .....	33
Annexe 1 : Liste des habitats favorables à la Cistude d'Europe selon la codification EUNIS .....	35
Annexe 2 : Protocole de recherche visuelle de l'espèce .....	36
Annexe 3 : Protocole de récolte de l'ADNe .....	39
Annexe 4 : Protocole de piégeage prospectif .....	41
Annexe 5 : Protocole CMR (capture-marquage-recapture) .....	44
Annexe 6 : Protocole de suivi par géolocalisation.....	48
Annexe 7 : Protocole de récolte d'échantillons pour les analyses génétiques .....	49
Annexe 8 : Protocole d'analyse cartographique de l'habitat potentiel .....	51
Annexe 9 : Fiche « Retour d'expériences » sur la mise en œuvre des suivis .....	52



# CONTEXTE

Les professionnels de la conservation de la biodiversité constatent une évolution de leur métier particulièrement dans le domaine de la réglementation et des préoccupations sociétales sur le bien-être animal. Aujourd'hui, le constat de la nécessité de limiter les interventions sur les espèces et leurs milieux de vie est partagé par les acteurs de la conservation.

D'un point de vue réglementaire, La [Directive européenne du 22 septembre 2010](#), relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques, transposée dans le droit français par [l'Arrêté du 1er février 2013](#), s'applique aux suivis scientifiques en milieux naturels. Ces textes de loi stipulent clairement que toute manipulation engendrant chez l'animal un niveau de douleur ou de stress supérieur à l'introduction d'une aiguille nécessite, pour la personne manipulant l'animal, d'avoir préalablement suivi une formation spécifique en expérimentation animale. **Cette formation rappelle l'obligation de mettre en place des manipulations de moindre impact pour l'animal, en recherchant systématiquement, lors de l'élaboration de protocoles d'études et de suivis, les alternatives scientifiques et techniques limitant au strict nécessaire les interactions avec l'animal.**

## Cadre réglementaire relatif à la capture d'espèces protégées

Liste des espèces de Reptiles et d'Amphibiens protégées sur le territoire de France métropolitaine : [arrêté du 8 janvier 2021](#)

Arrêté préfectoral obligatoire (dérogation DREAL, [arrêté du 19 février 2007](#))

Passage obligatoire au CNPN pour certaines espèces de France métropolitaine (Grenouille des Pyrénées, Sonneur à ventre jaune, Tortue d'Hermann...) et d'Outre-mer ([arrêté du 6 janvier 2020](#))

## Cadre réglementaire relatif à la manipulation d'animaux (espèces protégées et non protégées) à des « fins scientifiques », *incluant les suivis de CMR toute méthode confondue*

Textes règlementaires : [directive 2010/63/EU](#), [décret 2013-118 du 1er février 2013](#), [décret 2020-274 du 17 mars 2020](#)

Acquisition des compétences des personnes manipulant des animaux à des fins scientifiques (formation obligatoire) : [arrêté du 1er février 2013](#)

Agrément obligatoire des établissements utilisateurs : [arrêté du 1er février 2013](#) **ET** Certificat de capacité

Validation obligatoire d'un comité d'éthique (numéro de demande d'autorisation de projet) pour les manipulations invasives : [arrêté du 1er février 2013](#)





Le [PNA 2020-2029 en faveur de la Cistude d'Europe](#) a clairement affiché sa volonté de limiter les suivis par piégeage ou géolocalisation (GPS, télémétrie), et ce, afin d'éviter les dérangements inutiles, pour les milieux comme pour les espèces : « *Dans le domaine de la connaissance, certains sujets ont largement été étudiés au cours des vingt dernières années. Il apparaît aujourd'hui nécessaire, à chaque nouveau projet d'étude, de s'interroger sur la plus-value d'une CMR ou d'une télémétrie dans l'apport des connaissances, dans la mesure où ces méthodes sont relativement invasives pour l'espèce et, plus globalement, pour le milieu naturel. Ces études doivent se limiter à des cas précis où l'acquisition de données est indispensable pour la conservation de l'espèce ou à des sites pilotes fléchés pour des études populationnelles de grande envergure destinées à estimer des tendances évolutives de l'espèce à long terme. Ces sites devront être définis par le comité de pilotage en début de plan. Parallèlement, les biostatistiques ont largement évolué au cours des dix dernières années et permettent aujourd'hui d'estimer, dès la première année de suivi, si l'effort réalisé est suffisant pour estimer l'effectif présent sur le site ou s'il convient de poursuivre l'effort de capture. Ainsi, les manipulations superflues sont évitées. Cette évaluation statistique devra faire partie intégrante du protocole présenté dans une demande d'autorisation de capture. Une structure référente doit être désignée dans chaque région et consultée dès qu'un projet d'étude est engagé. Les membres des différents CSRPN en charge des questions herpétologiques doivent être informés directement des directives du PNA.* »

L'interrogation de la BDD ONAGRE, fait apparaître que sur 353 demandes de dérogation pour la capture, l'enlèvement, la perturbation intentionnelle de spécimens d'espèces protégées, accordées entre **2014 et 2021** pour la Cistude d'Europe, **266** ont été accordées à des fins scientifiques, soit les trois quarts des demandes !

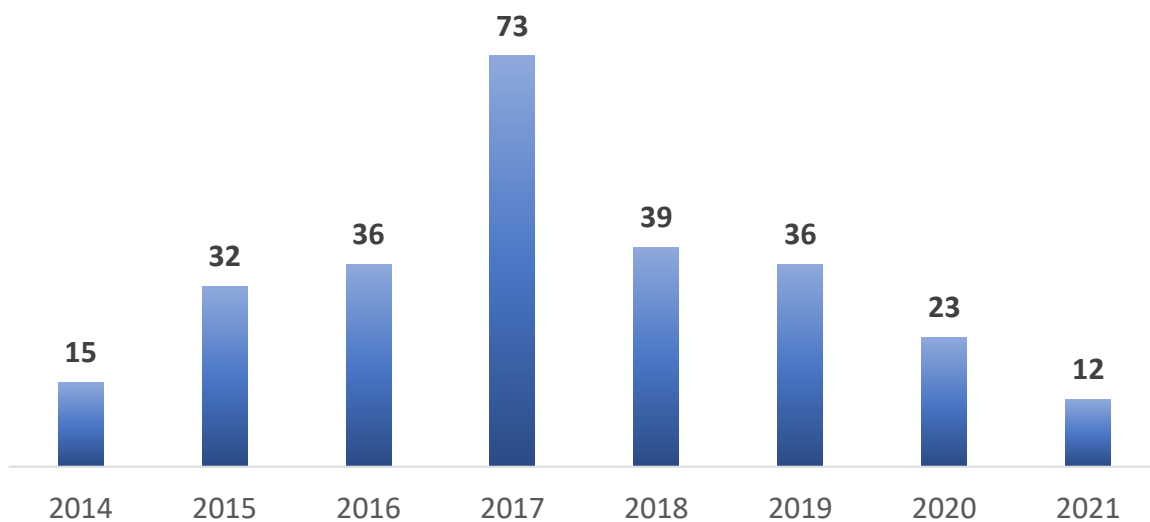


Figure 1 - Évolution du nombre de demandes de dérogations à des fins scientifiques accordées pour la Cistude d'Europe entre 2014 et 2021

**Les objectifs de ce document sont de :**

- **Permettre à chaque structure porteuse d'un projet d'étude d'évaluer l'opérabilité de chaque type de suivis,**
- **Permettre une évaluation rapide et homogène des demandes de dérogation pour suivis scientifiques par les Services instructeurs.**



# COMMENT UTILISER CE DOCUMENT ?

Ce document est divisé en quatre catégories reprenant les différentes justifications que l'on rencontre dans les demandes de dérogations adressées aux Services instructeur.

Dans chaque catégorie, les objectifs des suivis sont listés, puis les méthodes envisageables pour la réalisation discutées. La pertinence, la facilité et le coût de la mise en œuvre, ainsi que le dérangement occasionné pour le milieu et les espèces, sont évalués pour chacune des méthodes.

Le tableau proposé à la suite de chaque fiche de cas, synthétise les informations et permet une visualisation des méthodes potentielles et recommandées.

Lors d'une demande de dérogation visant le suivi scientifique d'une population de Cistude d'Europe, il convient :

1. De **bien définir dans quel cadre est formulée la demande** (texte en gras ci-dessous)
2. De **définir avec précision l'objectif du suivi** (texte en italique ci-dessous).

Il suffit ensuite de consulter les recommandations associées à chaque objectif.



⇒ **Cas 1 à 3 Acquisition de connaissances**

↳ **Cas n°1 Acquisition de connaissances en amont d'un projet d'acquisition/conventionnement ou d'un projet d'aménagement pour la mise en œuvre des mesures d'évitement de la séquence ERCA**

**Objectifs**

- ⇒ Déterminer la présence/absence de l'espèce
- ⇒ Analyser la dynamique de la population
- ⇒ Étudier l'utilisation de l'espace

↳ **Cas n°2 Acquisition de connaissances sur un site conventionné ou propriété d'un organisme ayant vocation à mettre en place une gestion du milieu naturel**

**Objectifs**

- ⇒ Déterminer la présence/absence de l'espèce
- ⇒ Analyser la dynamique de la population
- ⇒ Étudier l'utilisation de l'espace
- ⇒ Évaluer la connexion du site acquis/conventionné avec les milieux périphériques

↳ **Cas n°3 Acquisition de connaissances dans le cadre de travaux de recherche**

**Objectifs**

- ⇒ Affiner les méthodes de détection de l'espèce
- ⇒ Travail sur la dynamique des populations
- ⇒ Évaluer l'état sanitaire de la population
- ⇒ Étudier l'utilisation de l'espace
- ⇒ Approfondir les connaissances sur la génétique

⇒ **Cas n°4 Accompagnement d'un projet de réintroduction ou de renforcement**

**Objectifs**

- ⇒ Analyser la dynamique de la population
- ⇒ Évaluer l'état sanitaire de la population
- ⇒ Étudier l'utilisation de l'espace

⇒ **Cas n°5 Évaluation de travaux mis en œuvre dans le cadre de la gestion d'un site naturel**

**Objectifs**

- ⇒ Évaluer le maintien de la population sur le site
- ⇒ Analyser la dynamique de la population
- ⇒ Évaluer l'état sanitaire de la population
- ⇒ Étudier l'utilisation de l'espace

⇒ **Cas n°6 Encadrement des mesures de réduction, compensation et accompagnement de la séquence ERCA**

**Objectifs**

- ⇒ Déterminer la présence/absence de l'espèce
- ⇒ Analyser les impacts du projet
- ⇒ Mise en place d'un suivi à moyen/long terme

Le présent document analyse chaque cas et propose des solutions adaptées à chaque situation afin d'optimiser les moyens mobilisés, réduire l'impact des suivis et apporter des réponses aux questions posées.



## 1. L'acquisition de connaissance

Les études pour « acquisition de connaissances » ont pour objectifs de :

- ⇒ **Confirmer/Infirmer la présence de l'espèce** sur un site,
- ⇒ **Évaluer « l'état de santé de la population »** au travers de différents paramètres comme l'analyse de la dynamique de population (densité, sex-ratio, âge-ratio, survie) et l'état sanitaire des individus (recherche de blessures, de pathologies, de la présence de polluants),
- ⇒ **Analyser l'utilisation de l'espace** : localisation des différents éléments nécessaires à la réalisation du cycle biologique (ponte, hibernation, croissance des jeunes, corridors de déplacement...) et évaluation des domaines vitaux des individus,
- ⇒ **Évaluer les tendances démographiques** de la Cistude d'Europe en France métropolitaine,
- ⇒ **Approfondir les connaissances** sur la biologie et l'écologie de l'espèce.

La nécessité de mettre en œuvre des suivis est généralement évoquée dans trois grands cas de figures.

1. Il peut s'agir **d'une demande liée à un projet d'aménagement du territoire**. Le suivi vise alors, dans un premier temps, à confirmer la présence de l'espèce sur le site, puis, dans un second temps, à appréhender en amont les impacts du projet sur la population.
2. Il est fréquemment réalisé dans le cadre de **l'acquisition d'un site par un organisme de gestion du milieu naturel** qui s'interroge sur la présence de l'espèce et souhaite déterminer l'état de conservation de la population présente sur le site afin d'adapter la gestion.
3. Enfin, dans le cadre de **travaux de recherche sur l'espèce**, des études sont mises en œuvre, et parfois reconduites de manière régulière. **Ils doivent être encadrés par des organismes de recherche** (Universités, CNRS, ...). Ces travaux visent, entre autres, à évaluer l'évolution des effectifs de la Cistude d'Europe en France métropolitaine ou à étudier des aspects encore peu connus de sa biologie et de son écologie.

### *Ces suivis visant à acquérir des connaissances sont-ils toujours pertinents et indispensables ?*

Acquérir des connaissances sur l'espèce, ou sur le fonctionnement d'une population sur un site, est certes une noble cause mais les suivis peuvent induire une détérioration de certains habitats (herbiers aquatiques, roselières, ...), un **dérangement non négligeable** pour la Cistude d'Europe, mais également pour l'ensemble des espèces fréquentant le site, et **l'analyse du coût/bénéfice d'un suivi doit être systématique**.

La question du **dimensionnement du protocole** est également primordiale. Dans le cadre de l'animation du PNA, il arrive régulièrement de constater que les moyens déployés pour une étude ne sont pas adaptés : ils peuvent être disproportionnés ou sous-évalués par rapport aux questions initialement posées. Parallèlement, en l'absence de protocoles validés en amont par un biostatisticien, certains suivis produisent des données inexploitable. Enfin, de nombreuses données de suivis deviennent inaccessibles faute de formatage et/ou de stockage pérenne.





## CAS N°1

# Acquisition de connaissances en amont d'un projet d'acquisition/conventionnement ou d'un projet d'aménagement pour la mise en œuvre des mesures d'évitement de la séquence ERCA

**RAPPEL :** La mise en œuvre d'une séquence « Éviter-Réduire-Compenser-Accompagner », dite séquence ERCA, sur un site abritant potentiellement une population de Cistude d'Europe doit obligatoirement être accompagnée par un expert local qui s'assurera que les propositions du pétitionnaire sont adaptées, pertinentes et correctement dimensionnées. Le guide complet accompagnant la séquence ERCA est disponible sur le site du [PNA Cistude](#).

## PRÉREQUIS avant mise en œuvre de la séquence

- ⇒ Consultation des porter à connaissance sur enjeux locaux (zonages environnementaux, ABC, plans de gestion, etc.)
- ⇒ Consultation des documents de planification (SRADDET, SCOT, PLU, SDAGE, DOCOB)
- ⇒ Consultation des bases de données espèces et cartographies associées
- ⇒ Prise de contact avec le réseau d'expertise naturaliste local
- ⇒ État des lieux du statut local de l'espèce
- ⇒ État des lieux du fonctionnement local des populations

## Déterminer la présence/absence de l'espèce

La méthode à déployer en première intention est la mise en place d'une campagne de **prospection visuelle** ([cf. protocole](#)).

Si les prospections visuelles sont complexes (milieu très fermé rendant la discrétion de l'approche délicate, manque/absence de postes d'insolation visibles), on pourra s'orienter vers diverses alternatives :

- Alternative 1 : **Mise en place de solariums artificiels** visant à faciliter les observations ;
- Alternative 2 : **Recherche d'ADN environnemental (ADNe)** ([cf. protocole](#)), simple à appliquer pour les sites en eau stagnante de faible superficie (plus aléatoire en eau courante ou sur les grandes surfaces) et permettant de détecter la présence de l'espèce jusqu'à 5 jours après son départ du site testé ;
- Alternative 3 : Mise en place d'un **piégeage prospectif** ([cf. protocole](#)), qui implique l'obtention d'une autorisation de capture et la formation préalable des personnes amenées à manipuler les pièges. En fonction des habitats, le type de piégeage (main, épuisette, nasse, verveux) doit être adapté en prenant en compte la sensibilité du milieu et des espèces présentes.



## **Un protocole de capture-marquage-recapture (CMR) n'est pas adapté à ce cas de figure.**

---

### **Analyser la dynamique de la population**

**Dans le cadre de la séquence ERC, la détection de l'espèce est suffisante pour engager la séquence « Éviter », la notion de viabilité de la population n'est pas un critère nécessaire à ce stade.** En effet, la Cistude d'Europe est totalement protégée en France, par conséquent toute atteinte à un individu, même isolé, ou à son milieu est [strictement interdite](#). **Si les séquences « Réduire » et « Compenser » doivent être engagées,** il conviendra alors de se reporter à la section « [Encadrement des mesures de réduction, compensation et accompagnement de la séquence ERCA](#) » pour évaluer l'impact et dimensionner les suivis d'évaluation des mesures.

**Dans le cadre d'un projet d'acquisition ou de conventionnement, l'observation d'un individu justifie, à elle seule, l'intérêt porté au site soit que :**

- Le site abrite une population viable et la future gestion conservatoire sera favorable à son maintien à long terme,
- Le site abrite une population en déclin et la future gestion devra permettre sa restauration,
- Le site est fréquenté occasionnellement : il possède un rôle de corridor essentiel au fonctionnement local des populations.

La priorisation de l'acquisition de sites doit se baser sur la faisabilité de l'acquisition (contexte politique, relation avec le propriétaire, moyens financiers), la possibilité de mettre en place des mesures de gestion effectives sur le site (évaluation des moyens techniques et financiers, existence d'un organisme gestionnaire à même d'assurer la gestion, autres enjeux de conservation sur le site), mais ne doit pas reposer sur la notion très subjective (et très aléatoire en fonction des moyens déployés pour l'obtenir) d'une estimation du nombre d'individus fréquentant le site.

**Un protocole CMR visant à analyser la dynamique de population ne se justifie pas dans ce cadre-là.**

---

### **Étudier l'utilisation de l'espace**

**Une analyse de l'utilisation de l'espace par géolocalisation dans le cadre d'un projet d'aménagement se justifie rarement et peut même s'avérer délétère pour la population.**

La biologie et l'écologie de la Cistude d'Europe sont relativement bien connue. **Un expert de l'espèce est à même d'évaluer par une simple visite les éléments du paysage nécessaires à l'espèce pour accomplir son cycle biologique annuel.** La mise en place d'un suivi par géolocalisation induit un fort risque de sous-estimer l'occupation de l'espace. En effet, l'échantillon sélectionné pour le suivi est la plupart du temps très insuffisant et non représentatif de la population pour diverses raisons :

- Choix des individus équipés qui se restreint aux « premiers animaux capturés » alors qu'il devrait se faire après avoir acquis une connaissance exhaustive de la population au travers de la mise en place d'un protocole CMR robuste sur plusieurs années,
- Coût élevé du matériel qui limite le nombre d'animaux équipés,



- Coût de la récolte et de traitement des données si l'échantillon est important.

Les animaux suivis ne représentent, la plupart du temps, qu'une fraction de la population et le suivi étant mis en œuvre sur une seule année, l'image du fonctionnement global sur le site est souvent faussée et peut conduire à ne pas exclure de l'emprise du projet des secteurs pourtant sensibles. **Par conséquent, le choix de mettre en œuvre ce type de suivi devra être validé préalablement par des experts référents du PNA.**

Si l'on souhaite proposer une mesure d'évitement géographique efficace, **il conviendra de tenir hors de l'emprise du projet l'ensemble des habitats favorables à l'espèce** (cf. [Annexe. Liste des habitats favorables à la Cistude d'Europe](#)) dans un rayon théorique minimal de **500 m autour de l'habitat au sein duquel a été réalisée l'observation**, de veiller à ne pas entraver les déplacements au sein de la zone de vie (zone humide/site de ponte, zone d'activité/zone d'inactivité, etc.), mais également à ne pas limiter les échanges potentiels d'individus entre zones humides en conservant scrupuleusement les corridors favorables aux déplacements qui sont principalement constitués par l'ensemble des milieux humides situés dans un rayon théorique minimal de **1 km autour de l'habitat au sein duquel a été réalisée l'observation**.



1. Acquisition de connaissances						
1.1. Acquisition de connaissances en amont d'un projet d'acquisition/conventionnement ou d'un projet d'aménagement pour la mise en œuvre des mesures d'évitement de la séquence ERCA						
Déterminer la présence/absence		<b>Prospection visuelle</b> (avec ou sans ajout de solariums artificiels)	<b>ADNe</b>	<b>Piégeage prospectif</b>	<b>Protocole CMR</b>	<b>Géolocalisation</b>
	<b>Pertinence</b>	<b>Méthode conseillée</b>	<b>Méthode possible</b>	<b>Méthode alternative envisageable</b>	<b>Méthode non adaptée</b>	<b>Méthode non adaptée</b>
	<b>Logistique de mise en œuvre</b>	<b>Facile</b> Recours nécessaire à un expert local	<b>Moyenne</b> Nécessité d'anticiper (délai de commande des kits de prélèvements et d'analyse des prélèvements)	<b>Complexe</b> (autorisation, accompagnement par un expert, matériel spécifique)		
	<b>Coût</b>	<b>Faible à moyen</b> (en fonction des difficultés d'accès et de la surface à prospector)	<b>Moyen à élevé</b> (en fonction de la surface à prospector)	<b>Élevé</b>		
	<b>Impact sur l'espèce et le milieu</b>	<b>Faible à moyen</b> (en fonction de la difficulté d'accès au site)	<b>Faible à moyen</b> (en fonction de la difficulté d'accès au site)	<b>Fort</b>		
Analyser la dynamique de population		<b>Prospection visuelle</b>	<b>ADNe</b>	<b>Piégeage prospectif</b>	<b>Protocole CMR</b>	<b>Géolocalisation</b>
	<b>Pertinence</b>	<b>Méthode non adaptée</b>	<b>Méthode non adaptée</b>	<b>Méthode non adaptée</b>	<b>Suivi non justifié</b>	<b>Méthode non adaptée</b>
	<b>Logistique de mise en œuvre</b>					
	<b>Coût</b>					
	<b>Impact sur l'espèce et le milieu</b>					
Étudier l'utilisation de l'espace		<b>Prospection visuelle des habitats</b>	<b>ADNe</b>	<b>Piégeage prospectif</b>	<b>Protocole CMR</b>	<b>Géolocalisation</b>
	<b>Pertinence</b>	<b>Méthode conseillée</b>	<b>Méthode non adaptée</b>	<b>Méthode non adaptée</b>	<b>Méthode non adaptée</b>	<b>Méthode à éviter au cours de cette phase de la séquence ERCA</b>
	<b>Logistique de mise en œuvre</b>	<b>Facile</b> Recours nécessaire à un expert local				<b>Complexe</b> (autorisation, accompagnement par un expert, matériel spécifique)
	<b>Coût</b>	<b>Faible à moyen</b> (en fonction des difficultés d'accès et de la surface à prospector)				<b>Très élevé</b>
	<b>Impact sur l'espèce et le milieu</b>	<b>Faible à moyen</b> (en fonction de la difficulté d'accès au site)				<b>Très fort</b>



## CAS N°2

# Acquisition de connaissances sur un site conventionné ou propriété d'un organisme ayant vocation à mettre en place une gestion du milieu naturel

### Déterminer la présence/absence de l'espèce

La méthode à déployer en première intention est la mise en place d'une campagne de **prospection visuelle** ([cf. protocole](#)).

Si les prospections visuelles sont complexes (milieu très fermé rendant la discrétion de l'approche délicate, manque/absence de postes d'insolation visibles), on pourra s'orienter vers diverses alternatives :

- Alternative 1 : **Mise en place de solariums artificiels** visant à faciliter les observations ;
- Alternative 2 : **Recherche d'ADNe** ([cf. protocole](#)), facile à appliquer pour les sites en eau stagnante de faible superficie (plus aléatoire en eau courante ou sur les grandes surfaces) et permettant de détecter la présence de l'espèce jusqu'à 5 jours après son départ du site testé ;
- Alternative 3 : Mise en place d'un **piégeage prospectif** ([cf. protocole](#)), qui implique l'obtention d'une autorisation de capture et la formation préalable des personnes amenées à manipuler les pièges. En fonction des habitats, le type de piégeage (main, épuisette, nasse, verveux) doit être adapté en prenant en compte la sensibilité du milieu et des espèces présentes.

**Un protocole CMR n'est pas adapté à ce cas de figure.**

### Analyser la dynamique de la population

**Si le suivi est destiné à être ponctuel**, c'est-à-dire que l'objectif se limite à « savoir combien de tortues sont présentes sur le site à un instant t » et qu'il n'a pas vocation à être reconduit régulièrement sur le moyen (10 ans) ou long terme (30 ans) pour évaluer les paramètres démographiques, **la mise en place d'un protocole CMR n'est pas une méthode adaptée**. Dans ce cas de figure, la simple donnée de présence/absence suffit à assurer une bonne prise en compte de l'espèce dans une démarche de conservation, tout en évitant le dérangement inutile des espèces fréquentant le site et les risques inhérents à l'utilisation de pièges en milieu naturel.

👉 Dans le cas où il s'agit de constituer un état initial de la population visant à évaluer des travaux de gestion en espace naturel, se reporter à la section [3. Évaluation de travaux dans le cadre de la gestion d'un site naturel](#)

👉 Dans le cas où l'on souhaite mettre en place des travaux de recherche sur cet espace géré, se reporter au [cas n°3 Acquisition de connaissances dans le cadre de travaux de recherche sur l'espèce](#)





## Étudier l'utilisation de l'espace

**Une analyse fine de l'utilisation de l'espace par géolocalisation dans le cadre d'une nouvelle acquisition de site ne se justifie pas s'il n'existe pas de facteurs remettant en cause la conservation de l'espèce sur le site.**

La biologie et l'écologie de la Cistude d'Europe sont relativement bien connue. **Un expert de l'espèce est à même d'évaluer par une simple visite les éléments du paysage nécessaires à l'espèce pour accomplir son cycle biologique annuel.** La mise en place d'un suivi par géolocalisation induit un fort risque de sous-estimer l'occupation de l'espace. En effet, l'échantillon sélectionné pour le suivi est la plupart du temps très insuffisant et non représentatif de la population pour diverses raisons :

- Choix des individus équipés qui se restreint aux « premiers animaux capturés » alors qu'il devrait se faire après avoir acquis une connaissance exhaustive de la population au travers de la mise en place d'un protocole CMR robuste,
- Coût élevé du matériel qui limite le nombre d'animaux équipés,
- Coût de la récolte et du traitement des données si l'échantillon est important.

Les animaux suivis ne représentent, la plupart du temps, qu'une fraction de la population faussant ainsi l'image du fonctionnement global sur le site et pouvant conduire à ne pas considérer des secteurs pourtant sensibles.

📖 Dans le cas où il s'agit d'apprécier l'utilisation de l'espace dans l'objectif de mettre en œuvre des travaux de gestion pouvant impacter l'espèce, se reporter à la section [3. Suivi dans le cadre de l'évaluation de la gestion d'un site](#)

📖 Dans le cas où l'on souhaite mettre en place des travaux de recherche sur cet espace géré, se reporter au [cas n°3 Acquisition de connaissances dans le cadre de travaux de recherche sur l'espèce](#)

---

## Évaluer la connexion du site acquis/conventionné avec les milieux périphériques

**Cette question peut se poser dès lors que des possibilités existent d'étendre la maîtrise foncière/le conventionnement à des parcelles périphériques ou que la démonstration de connexions réelles peut constituer un argument de négociation certain dans le cadre d'une extension du périmètre de la zone acquise/conventionnée.**

La méthode à déployer en première intention est la mise en place d'une campagne de **prospection visuelle** (*cf. protocole*) pour évaluer la présence de l'espèce à proximité du site acquis/conventionné. Nul besoin de quantifier la connectivité dans la mesure où si les déplacements sont possibles l'espèce colonisera l'espace qui lui est nécessaire en adéquation avec la disponibilité d'habitats favorables.

Si les prospections visuelles sont complexes (milieu très fermé rendant la discrétion de l'approche délicate, manque/absence de postes d'insolation visibles), on pourra s'orienter vers diverses alternatives :

- Alternative 1 : **Mise en place de solariums artificiels** visant à faciliter les observations ;



- Alternative 2 : **Recherche d'ADNe** (*cf. protocole*), facile à appliquer pour les sites en eau stagnante de faible superficie (plus aléatoire en eau courante ou sur les grandes surfaces) et permettant de détecter la présence de l'espèce jusqu'à 5 jours après son départ du site testé ;
- Alternative 3 : Mise en place d'un **piégeage prospectif** (*cf. protocole*), qui implique l'obtention d'une autorisation de capture et la formation préalable des personnes amenées à manipuler les pièges. En fonction des habitats, le type de piégeage (main, épuisette, nasse, verveux) doit être adapté en prenant en compte la sensibilité du milieu et des espèces présentes.

**Un protocole CMR n'est pas conseillé dans ce cas de figure.** En effet, il implique de disposer en amont d'une excellente connaissance de la population du site acquis/conventionné puis de déployer un protocole rigoureux et bien dimensionné qui permettra une analyse statistique valable des résultats. Dans le cas où l'on risque de travailler sur des populations dites « ouvertes » cette méthode est totalement déconseillée puisqu'elle demandera un effort de capture très lourd (impact important).

La mise en place d'un **suivi par géolocalisation** induit un fort risque de sous-estimer les déplacements réels. En effet, l'échantillon sélectionné pour le suivi est la plupart du temps très insuffisant et non représentatif de la population pour diverses raisons :

- Choix des individus équipés qui se restreint aux « premiers animaux capturés » alors qu'il devrait se faire après avoir acquis une connaissance exhaustive de la population au travers de la mise en place d'un protocole CMR robuste,
- Coût élevé du matériel qui limite le nombre d'animaux équipés,
- Coût de la récolte et du traitement des données si l'échantillon est important.

Les animaux suivis ne représentent, la plupart du temps, qu'une fraction de la population faussant ainsi l'image du fonctionnement global sur le site et pouvant conduire à des conclusions erronées.



1. Acquisition de connaissances						
1.2. Acquisition de connaissances sur un site conventionné ou propriété d'un organisme ayant vocation à mettre en place une gestion du milieu naturel						
Déterminer la présence/absence		<b>Prospection visuelle</b> (avec ou sans ajout de solariums artificiels)	<b>ADNe</b>	<b>Piégeage prospectif</b>	<b>Protocole CMR</b>	<b>Géolocalisation</b>
	<b>Pertinence</b>	<b>Méthode conseillée</b>	<b>Méthode possible</b>	<b>Méthode alternative envisageable</b>	<b>Méthode non adaptée</b>	<b>Méthode non adaptée</b>
	<b>Logistique de mise en œuvre</b>	<b>Facile</b> Recours nécessaire à un expert local	<b>Moyenne</b> Nécessité d'anticiper (délai de commande des kits de prélèvements et d'analyse des prélèvements)	<b>Complexe</b> (autorisation, accompagnement par un expert, matériel spécifique)		
	<b>Coût</b>	<b>Faible à moyen</b> (en fonction de la difficulté d'accès et de la surface à prospecter)	<b>Moyen à élevé</b> (en fonction de la surface à prospecter)	<b>Élevé</b>		
	<b>Impact sur l'espèce et le milieu</b>	<b>Faible à moyen</b> (en fonction de la difficulté d'accès au site)	<b>Faible à moyen</b> (en fonction de la difficulté d'accès au site)	<b>Fort</b>		
Analyser la dynamique de population		<b>Prospection visuelle</b>	<b>ADNe</b>	<b>Piégeage prospectif</b>	<b>Protocole CMR</b>	<b>Géolocalisation</b>
	<b>Pertinence</b>	<b>Méthode non adaptée</b>	<b>Méthode non adaptée</b>	<b>Méthode non adaptée</b>	<b>Suivi à éviter hors évaluation gestion</b>	<b>Méthode non adaptée</b>
	<b>Logistique de mise en œuvre</b>				<b>Complexe</b> (autorisation, accompagnement par un expert, matériel spécifique)	
	<b>Coût</b>				<b>Élevé</b>	
	<b>Impact sur l'espèce et le milieu</b>				<b>Fort</b>	
Étudier l'utilisation de l'espace		<b>Prospection visuelle des habitats</b>	<b>ADNe</b>	<b>Piégeage prospectif</b>	<b>Protocole CMR</b>	<b>Géolocalisation</b>
	<b>Pertinence</b>	<b>Méthode conseillée</b>	<b>Méthode non adaptée</b>	<b>Méthode non adaptée</b>	<b>Méthode non adaptée</b>	<b>Suivi non pertinent hors évaluation gestion</b>
	<b>Logistique de mise en œuvre</b>	<b>Facile</b> Recours nécessaire à un expert local				<b>Complexe</b> (autorisation, accompagnement par un expert, matériel spécifique)
	<b>Coût</b>	<b>Faible à Moyen</b> (en fonction des difficultés d'accès et de la surface à prospecter)				<b>Très élevé</b>
	<b>Impact sur l'espèce et le milieu</b>	<b>Faible à moyen</b> (en fonction de la difficulté d'accès au site)				<b>Très fort</b>



		Prospection visuelle	ADNe	Piégeage prospectif	Protocole CMR	Géolocalisation
Évaluer la connexion du site acquis/conventionné avec les milieux	Pertinence	Méthode conseillée	Méthode possible	Méthode alternative envisageable	Résultats interprétables uniquement si contexte de population fermée	Méthode alternative envisageable avec choix soigné de l'échantillon suivi
	Logistique de mise en œuvre	Facile Recours nécessaire à un expert local	Moyenne Nécessité d'anticiper (délai de commande des kits de prélèvements et d'analyse des prélèvements)	Complexe (autorisation, accompagnement par un expert, matériel spécifique)	Complexe (autorisation, accompagnement par un expert, matériel spécifique)	Complexe (autorisation, accompagnement par un expert, matériel spécifique)
	Coût	Faible à Moyen (en fonction des difficultés d'accès et de la surface à prospecter)	Moyen à élevé (en fonction de la surface à prospecter)	Élevé	Élevé	Élevé
	Impact sur l'espèce et le milieu	Faible à moyen (en fonction de la difficulté d'accès au site)	Faible à moyen (en fonction de la difficulté d'accès au site)	Fort	Fort	Fort



## CAS N°3

### Acquisition de connaissances dans le cadre de travaux de recherche sur l'espèce

☞ Les travaux de recherche doivent nécessairement être mis en œuvre et/ou encadrés par des structures spécialisées (Universités, CNRS, chercheurs indépendants). Ils ont vocation à :

- Acquérir de nouvelles connaissances sur l'espèce,
- Développer et tester des méthodes de suivis.

Ils sont engagés sur des sites identifiés « SITES PILOTES ». Cette identification sera réalisée sur simple demande auprès de l'animateur régional qui s'assurera que le site/l'étude engagé(e) répond aux critères définis dans le PNA en termes d'objectifs de recherche et de dimensionnement des protocoles. En cas de doutes, l'animateur régional pourra solliciter l'avis des membres du Comité de pilotage. Une liste des « Sites pilotes » sera tenue à jour et présentée en Comité de pilotage du plan chaque année. Elle permettra de recenser les travaux de recherche en cours et ainsi de mieux définir les besoins tout en ciblant les domaines où la connaissance doit encore être approfondie.

---

#### Affiner les méthodes de détection de l'espèce

Le travail sur la présence/absence aura vocation à tester et à affiner les méthodes de détection.

Les méthodes de suivi à tester, comparer et optimiser sont les suivantes :

- Travail sur un protocole « Site-Occupancy », destiné à évaluer les tendances de populations à long terme sur des ensembles géographiques plus ou moins vastes ;
- Détection au moyen de l'ADNe ;
- Détection visuelle par le biais de la mise en place de solariums artificiels sur les sites où leur nombre est restreint ;
- Détection de l'espèce au moyen de drones ;
- Détection des pontes et des émergents au moyen de chiens de détection ;
- Test sur l'efficacité des différents types de pièges.

---

#### Travail sur la dynamique de la population

Pour être jugés pertinents dans le cadre d'un objectif de recherche, ces suivis doivent être **programmés sur du long terme** (> 30 ans) et permettre de répondre à des questions relatives à l'évaluation des tendances démographiques de l'espèce et notamment en lien avec les changements globaux. Ils doivent être **accompagnés par un expert de l'espèce** impliqué dans l'animation du PNA, et **cadrés par un protocole statistique robuste**. Ils seront mis en œuvre sur des sites pour lesquels :





- Un organisme gestionnaire possède une maîtrise foncière, ou à minima un conventionnement à long terme, afin d'assurer la reproductibilité du protocole à 10, 20, 30 ans et plus ;
- La conservation de la Cistude est un enjeu identifié dans un document de gestion. L'engagement de suivi doit être inscrit sur du long terme (30 ans et plus).

---

## Étudier l'utilisation de l'espace

Jusqu'à très récemment, **l'étude de la phase de vie immature** était techniquement impossible. Au cours du PNA 2011-2015, d'importantes avancées ont été effectuées. Ces recherches sont à poursuivre afin d'émettre des préconisations de gestion adaptées à cette phase de vie.

**L'utilisation de l'espace au sein d'un réseau de mares ou dans un contexte de cours d'eau** doit faire l'objet d'investigations.

Ces travaux de recherche devront être accompagnés scientifiquement. La structure animatrice du PNA et/ou les structures animatrices des PRA devront être informées des projets dans l'objectif de favoriser ces travaux (recherche de financements, mobilisation de compétences, mise en convergence des projets, etc.) et optimiser les moyens mobilisés.

---

## Approfondir les connaissances sur la génétique de l'espèce

La **caractérisation génétique des populations françaises** est nécessaire dans le cadre des projets de réintroduction ou de renforcement de l'espèce. À ce jour, une base de données réalisée par l'Université de Bâle, regroupe les données de la majorité des populations françaises, cependant certains secteurs n'ont pas encore fait l'objet de prélèvements. **Il serait intéressant de finaliser cette caractérisation.**

Les analyses génétiques peuvent être réalisées à partir de plusieurs types d'échantillons :

- Griffes,
- Frottis buccal,
- Prise de sang ([cf. protocole](#)).

La capture d'individus pour la réalisation des prélèvements implique **l'obtention d'une autorisation nominative et la formation préalable des personnes amenées à manipuler les pièges**. En fonction des habitats, le type de piégeage doit être adapté en prenant en compte la sensibilité du milieu et des espèces présentes.

 **La réalisation de prélèvement sur les animaux implique d'avoir préalablement suivi et validé une formation en expérimentation animale.**



## Évaluer l'état sanitaire de la population

Dans le cadre du premier PNA, des études sur l'impact de la qualité de l'eau sur la Cistude d'Europe ont mobilisé la communauté scientifique. Le PNA 2020-2029 en faveur de la Cistude d'Europe propose de poursuivre ces travaux afin d'évaluer l'impact de la qualité de l'eau sur la conservation de l'espèce et proposer des mesures si nécessaires. Ces travaux de recherche devront être accompagnés scientifiquement. La structure animatrice du PNA et/ou les structures animatrices des PRA devront être informées des projets dans l'objectif de favoriser ces travaux (recherche de financements, mobilisation de compétences, mise en convergence des projets, etc.) et optimiser les moyens mobilisés.

La capture d'individus pour la réalisation de prélèvements implique **l'obtention d'une autorisation nominative et la formation préalable des personnes amenées à manipuler les pièges**. En fonction des habitats, le type de piégeage doit être adapté en prenant en compte la sensibilité du milieu et des espèces présentes.

☞ **La réalisation de prélèvement sur les animaux implique d'avoir préalablement suivi et validé une formation en expérimentation animale.**



1. Acquisition de connaissances						
1.3. Acquisition de connaissances dans le cadre de travaux de recherche sur l'espèce						
Affiner les méthodes de détection de l'espèce		Prospection visuelle	ADNe	Piégeage prospectif	Prospection par drone	Chiens de détection
	Pertinence	Tester efficience Tester solariums artificiels Site occupancy à déployer	Méthode à évaluer	Tester l'efficacité des différents pièges	Méthode à évaluer	Méthode à évaluer
	Logistique de mise en œuvre	Facile	Moyenne	Complexe	Moyenne	Complexe
	Coût	Faible à élevé (en fonction de la surface à prospecter)	Moyen à élevé (en fonction de la surface à prospecter)	Élevé	Moyen	Moyen
	Impact sur l'espèce et le milieu	Faible à moyen (en fonction de la difficulté d'accès au site)	Faible à moyen (en fonction de la difficulté d'accès au site)	Fort	Faible	Moyen
Travailler sur la dynamique des populations		Prospection visuelle	ADNe	Piégeage prospectif	Protocole CMR	Géolocalisation
	Pertinence	Méthode non adaptée	Méthode non adaptée	Méthode non adaptée	Méthode adaptée avec protocole robuste à long terme	Méthode non adaptée
	Logistique de mise en œuvre				Complexe	
	Coût				Élevé	
	Impact sur l'espèce et le milieu				Fort	
Étudier l'utilisation de l'espace		Prospection visuelle	ADNe	Piégeage prospectif	Protocole CMR	Géolocalisation
	Pertinence	À étudier	Méthode non adaptée	Méthode non adaptée	Méthode nécessaire à déployer en amont de l'étude par géolocalisation	Méthode adaptée avec échantillonnage robuste
	Logistique de mise en œuvre	Facile			Complexe	Complexe
	Coût	Faible à élevé (en fonction de la difficulté de la surface à prospecter)			Élevé	Très élevé
	Impact sur l'espèce et le milieu	Faible à Moyen (en fonction de la difficulté d'accès au site)			Fort	Très fort



## 2. Accompagnement d'un projet de réintroduction ou de renforcement

[Le Guide de bonnes pratiques pour la réintroduction et le renforcement de populations chez la Cistude d'Europe](#)<sup>1</sup> préconise la mise en place de suivi pour évaluer les projets. Selon Bertolero & Oro (2009)<sup>2</sup>, le succès d'un programme de réintroduction se mesure au travers de cinq critères :

1. La condition corporelle des individus (critère de succès partiel), qui ne doit idéalement pas diminuer après le relâcher.
2. La croissance individuelle (succès partiel).
3. La reproduction sur le site (critère de succès partiel et d'établissement de la population). Le fait de trouver des émergents ne suffit pas à démontrer le succès d'un programme de réintroduction. Le critère de succès de reproduction réside dans une reproduction régulière avec des jeunes tortues qui renforcent les effectifs chaque année.
4. La survie (critère de succès partiel, d'établissement et de persistance de la population). Une population est considérée établie uniquement si le taux de survie et le taux de recrutement des tortues relâchées et de leurs descendants compensent les taux de mortalité et d'émigration. Après la période d'acclimatation, le taux de survie des individus relâchés doit être équivalent aux taux de survie des populations naturelles. Selon Keller (1997), un critère de succès est une survie apparente estimée au moins à 0,81 (valeur moyenne) ou à 0,78 (valeur inférieure de l'intervalle de confiance).
5. Le taux de croissance de la population (critère de succès long terme et de persistance de la population). Un projet de réintroduction est réussi lorsqu'une population sauvage autonome est atteinte autrement dit lorsque le taux de croissance de la population est supérieur à 1.

Afin d'évaluer ces projets, deux types de suivis s'avèrent pertinents :

- Une **évaluation des effectifs**, dans l'objectif d'évaluer la structure de la population à un instant donné, évaluer la survie des animaux implantés sur le site et ainsi ajuster une stratégie de renforcement du noyau initial si besoin ;
- Une **analyse de l'utilisation de l'espace** qui fournit des informations intéressantes sur la sédentarisation des animaux ou sur les continuités écologiques utilisées en cas de déplacements importants, mais également, lorsque la population sera en âge de se reproduire, sur la localisation des sites de ponte. Elle permet, si besoin, un ajustement de la gestion des milieux et la sécurisation des corridors.

---

<sup>1</sup> Thienpont S., Barthe L., Beau F., Berthomieu L., Hubert S., Lerat D., Marant D., Miquet A., Priol P., Quesada R., Razafindralay L., Vermeer J., (2020). « Réintroduction et renforcement de populations chez la Cistude d'Europe : Guide de bonnes pratiques ». Société Herpétologique de France. 48 p.

<sup>2</sup> BERTOLERO A., ORO D. 2009. Conservation diagnosis of reintroducing Mediterranean pond turtles: what is wrong? *Animal Conservation* 12, 581 – 591. doi:10.1111/j.1469-1795.2009.00284.x



## CAS N°4

# Accompagnement d'un projet de réintroduction ou de renforcement

Les données acquises au travers de ces suivis doivent être valorisées dans le cadre du PNA afin d'en faire bénéficier les nouveaux projets de réintroduction et de renforcement.

---

### Analyser la dynamique de la population

L'objectif est d'évaluer la structure de la population à un instant donné, évaluer la survie des animaux implantés sur le site et ainsi ajuster une stratégie de renforcement du noyau initial si besoin. Ces suivis, réalisés au travers de protocole CMR, doivent être **programmés sur du long terme** (>30 ans) et permettre de répondre à des questions relatives à l'évaluation de l'implantation de l'espèce sur le site. Ils doivent être cadrés par un **protocole statistique robuste** ([cf. protocole](#)).

---

### Étudier l'utilisation de l'espace

L'étude de l'analyse fournit des informations intéressantes sur la sédentarisation des animaux ou sur les continuités écologiques utilisées en cas de déplacements importants, mais également, lorsque la population sera en âge de se reproduire, sur la localisation des sites de ponte. Elle permet, si besoin, un ajustement de la gestion des milieux et la sécurisation des corridors. **Il conviendra de veiller particulièrement à la sélection des animaux inclus dans ce suivi de façon à disposer d'un échantillon représentatif de la population.**

Le choix du matériel de géolocalisation, qui évolue constamment, pourra idéalement se faire avec **l'appui des experts du réseau du PNA.**

---

### Évaluer l'état sanitaire de la population

L'appréciation de l'état sanitaire des individus **est réalisée lors des campagnes de CMR** mises en place pour analyser la dynamique de la population. Chaque capture sera l'occasion de venir incrémenter une fiche individu où figureront :

- Un numéro d'identification de l'individu ;
- Des photographies de la dossière et du plastron ;
- La provenance de l'individu ;
- L'année de naissance de l'individu ;
- Le sexe de l'individu si celui-ci est déterminable ;
- Les caractéristiques morphométriques de l'individu : à minima seront renseignés le poids et la taille de la dossière ;





- Les éventuels défauts de croissance, pathologies ou blessures constatées lors de la capture.

Des prélèvements de sang ou des frottis buccaux pourront être réalisés lors de ces campagnes CMR dans le cadre d'analyses ou de recherches spécifiques de pathogènes, sous réserve, bien entendu, que l'opérateur dispose des autorisations et de la formation nécessaires à leur mise en œuvre.



2. Accompagnement d'un projet de réintroduction ou de renforcement						
Analyser la dynamique de population		Prospection visuelle	ADNe	Piégeage prospectif	Protocole CMR	Géolocalisation
	Pertinence	Méthode non adaptée	Méthode non adaptée	Méthode non adaptée	Méthode conseillée sur long terme avec protocole robuste	Méthode non adaptée
	Logistique de mise en œuvre				Complexe	
	Coût				Élevé	
	Impact sur l'espèce et le milieu				Fort	
Étudier l'utilisation de l'espace		Prospection visuelle	ADNe	Piégeage prospectif	Protocole CMR	Géolocalisation
	Pertinence	Méthode envisageable pour visualiser la colonisation de milieux annexes	Méthode envisageable pour visualiser la colonisation de milieux annexes	Méthode envisageable pour visualiser la colonisation de milieux annexes	Méthode à déployer en amont de l'étude par géolocalisation	Méthode adaptée
	Logistique de mise en œuvre	Faible à élevée (en fonction de la surface à prospector)	Moyenne à élevée (en fonction de la surface à prospector)	Complexe	Complexe	Complexe
	Coût	Faible à moyen (en fonction de la de la surface à prospector )	Moyen à élevé (en fonction de la surface à prospector)	Fort	Élevé	Très élevé
	Impact sur l'espèce et le milieu	Faible à moyen (en fonction de la difficulté d'accès au site)	Faible à moyen (en fonction de la difficulté d'accès au site)	Élevé	Fort	Très fort
Évaluer l'état sanitaire de la population		Prospection visuelle	ADNe	Piégeage prospectif	Protocole CMR	Géolocalisation
	Pertinence	Méthode non adaptée	Méthode non adaptée	Méthode non adaptée	Méthode conseillée sur long terme avec protocole robuste	Méthode non adaptée
	Logistique de mise en œuvre				Complexe	
	Coût				Élevé	
	Impact sur l'espèce et le milieu				Fort	



### 3. Évaluation de l'impact de travaux dans le cadre de la gestion d'un site naturel

La mise en œuvre de travaux d'entretien ou de restauration d'un espace naturel doit faire l'objet d'une approche spécifique. Ces actions nécessaires pour répondre à des enjeux identifiés par le gestionnaire peuvent s'avérer délicates pour la conservation de la population de Cistude d'Europe (ex : mise en assec d'un étang pour curage et travaux, renforcement et sécurisation d'une berge, reprofilage, aménagements destinés à canaliser la fréquentation, etc.). Un état des lieux initial, visant à évaluer l'impact potentiel des travaux doit être prévu. Ce travail préliminaire doit permettre de proposer des solutions alternatives ou de moindre impact pour éviter ou limiter des répercussions sur la conservation de la Cistude.

La reconduite du suivi après les travaux permettra d'enrichir la connaissance sur la sensibilité de l'espèce vis-à-vis des interventions menées. Cette expérience devra être valorisée auprès du réseau des acteurs travaillant à la conservation de la Cistude d'Europe.

**Dans le cas où la gestion est menée conformément aux préconisations émises dans le cadre des [fiches techniques du PNA](#) et qu'il n'y a pas de menaces spécifiques pesant sur le site, un suivi d'évaluation de l'impact de la gestion sur la population de Cistude d'Europe, par CMR ou géolocalisation n'est pas forcément justifié** et n'est, par ailleurs, **pas souhaitable** dans la mesure où le dérangement occasionné par la mise en place de ce type de suivis est important et peut occasionner un impact fort sur le milieu et les espèces.

Si le gestionnaire souhaite toutefois s'assurer de la présence régulière de l'espèce sur le site, des **sessions annuelles d'observations à la jumelle** depuis la rive peuvent être organisées ([cf. protocole](#)).



## CAS N°5

# Évaluation de l'impact de travaux dans le cadre de la gestion d'un site naturel

### Évaluer le maintien de la population sur le site

La mise en place d'un **suivi à la jumelle** peut apporter des informations intéressantes sur la présence effective de l'espèce sur le site sans occasionner d'impact sur l'espèce ou le milieu ([cf. protocole](#)).

Pour cela, on effectue au moyen d'une lunette d'approche (à défaut de jumelles ayant un bon grossissement), une recherche d'individus au sein de la zone humide, en inspectant les berges ou les postes d'insolation (arbres morts tombés à l'eau, touradons de carex, etc.) bien exposés aux heures les plus favorables (milieu de journée lors des journées fraîches, matinée et soirée lors des journées chaudes).

Si les prospections visuelles sont complexes (milieu très fermé rendant la discrétion de l'approche délicate, manque/absence de postes d'insolation visibles), on pourra s'orienter vers diverses alternatives :

- Alternative 1 : **Mise en place de solariums artificiels** visant à faciliter les observations ;
- Alternative 2 : **Recherche d'ADNe** ([cf. protocole](#)), facile à appliquer pour les sites en eau stagnante de faible superficie (plus aléatoire en eau courante ou sur les grandes surfaces) et permettant de détecter la présence de l'espèce jusqu'à 5 jours après son départ du site testé ;
- Alternative 3 : Mise en place d'un **piégeage prospectif** ([cf. protocole](#)), qui implique l'obtention d'une autorisation de capture et la formation préalable des personnes amenées à manipuler les pièges. En fonction des habitats, le type de piégeage (main, épuisette, nasse, verveux) doit être adapté en prenant en compte la sensibilité du milieu et des espèces présentes.

**La mise en place d'une campagne de piégeage type CMR n'est pas une solution adaptée à ce cas de figure.**

---

### Analyser la dynamique de la population

L'objectif de ces suivis, réalisés au travers de protocoles CMR, est d'évaluer la structure de la population à un instant donné et évaluer la survie des animaux sur le site afin d'analyser l'impact de la gestion. Ils doivent être **programmés sur du long terme** (>30 ans) et être cadrés par un **protocole statistique robuste** ([cf. protocole](#)). L'état des lieux initial doit porter sur 2-3 ans. Si aucun état des lieux initial n'a été réalisé avant les travaux, la mise en place d'un suivi après les travaux ne permettra aucunement de conclure sur l'impact réel des travaux.

**Seuls les actions de gestion conservatoire pouvant remettre en question l'état de conservation sur le site ou l'existence de menaces extérieures et/ou non contrôlables peuvent justifier la mise en**



**place d'un suivi par CMR.** En dehors de ces cas, le coût/bénéfice d'un suivi est en défaveur de sa mise en place.

---

## Étudier l'utilisation de l'espace

L'objectif de ces suivis, réalisés par **géolocalisation** ou **protocole CMR à long terme**, est d'évaluer la réponse de la population à une perturbation du milieu. **Ils doivent être cadrés par un protocole statistique robuste** (*cf. protocole*).

La mise en place d'un suivi par géolocalisation induit un fort risque de sous-estimer l'occupation de l'espace. En effet, l'échantillon sélectionné pour le suivi est la plupart du temps insuffisant et non représentatif de la population pour diverses raisons :

- Choix des individus équipés qui se restreint aux « premiers animaux capturés » alors qu'il devrait se faire après avoir acquis une connaissance exhaustive de la population au travers de la mise en place d'un protocole CMR robuste,
- Coût élevé du matériel qui limite le nombre d'animaux équipés,
- Coût de la récolte et de traitement des données si l'échantillon est important.

Les animaux suivis ne représentent, la plupart du temps, qu'une fraction de la population faussant ainsi l'image du fonctionnement global sur le site et pouvant conduire à ne pas considérer des secteurs pourtant sensibles.

Seuls les actions de gestion conservatoire pouvant remettre en question l'état de conservation sur le site ou l'existence de menaces extérieures non contrôlables peuvent justifier la mise en place de ce type de suivis. En dehors de ces cas, le coût/bénéfice d'un suivi est en défaveur de sa mise en place.

La mise en place d'un **suivi à la jumelle** peut apporter des informations intéressantes dans le cadre de l'évaluation de l'impact de la gestion sur la population sans occasionner d'impact sur l'espèce ou le milieu.

---

## Évaluer l'état sanitaire de la population

La capture d'individus pour la réalisation de prélèvements implique l'obtention d'une autorisation nominative et la formation préalable des personnes amenées à manipuler les pièges. En fonction des habitats, le type de piégeage doit être adapté en prenant en compte la sensibilité du milieu et des espèces présentes.

**☞ La réalisation de prélèvement sur les animaux implique d'avoir préalablement suivi et validé une formation en expérimentation animale.**



3. Évaluation de l'impact de travaux dans le cadre de la gestion d'un site naturel						
Évaluer le maintien de la population sur le site		Prospection visuelle	ADNe	Piégeage prospectif	Campagne CMR	Géolocalisation
	Pertinence	Méthode conseillée	Méthode possible	Méthode alternative envisageable	Méthode non adaptée	Méthode non adaptée
	Logistique de mise en œuvre	Facile Recours nécessaire à un expert local	Moyenne Nécessité d'anticiper (délai de commande des kits de prélèvements et d'analyse des prélèvements)	Complexe		
	Coût	Faible à Moyen (en fonction de la surface à prospector)	Moyen à élevé (en fonction de la surface à étudier)	Élevé		
	Impact sur l'espèce et le milieu	Faible à moyen (en fonction de la difficulté d'accès au site)	Faible à moyen (en fonction de la difficulté d'accès au site)	Fort		
Analyser la dynamique de population		Prospection visuelle	ADNe	Piégeage prospectif	Campagne CMR	Géolocalisation
	Pertinence	Méthode non adaptée	Méthode non adaptée	Méthode non adaptée	Méthode possible avec protocole robuste	Méthode non adaptée
	Logistique de mise en œuvre				Complexe	
	Coût				Élevé	
	Impact sur l'espèce et le milieu				Fort	
Étudier l'utilisation de l'espace		Prospection visuelle	ADNe	Piégeage prospectif	Campagne CMR	Géolocalisation
	Pertinence	Méthode envisageable pour visualiser la colonisation de milieux annexes	Méthode envisageable pour visualiser la colonisation de milieux annexes	Méthode envisageable pour visualiser la colonisation de milieux annexes	Méthode à déployer en amont de l'étude par géolocalisation	Méthode adaptée
	Logistique de mise en œuvre	Faible à élevée (en fonction de la surface à prospector)	Moyenne à élevée (en fonction de la surface à prospector)	Complexe	Complexe	Complexe
	Coût	Faible à moyen (en fonction de la surface à prospector )	Moyen à élevé (en fonction de la surface à prospector)	Fort	Élevé	Très élevé



	<b>Impact sur l'espèce et le milieu</b>	<b>Faible à moyen</b> (en fonction de la difficulté d'accès au site)	<b>Faible à moyen</b> (en fonction de la difficulté d'accès au site)	<b>Élevé</b>	<b>Fort</b>	<b>Très fort</b>
<b>Évaluer l'état sanitaire de la population</b>		<b>Prospection visuelle</b>	<b>ADNe</b>	<b>Piégeage prospectif</b>	<b>Campagne CMR</b>	<b>Géolocalisation</b>
	<b>Pertinence</b>	<b>Méthode non adaptée</b>	<b>Méthode non adaptée</b>	<b>Méthode envisageable</b> pour disposer d'un échantillon	<b>Méthode possible avec protocole robuste</b>	<b>Méthode non adaptée</b>
	<b>Logistique de mise en œuvre</b>			<b>Complexe</b>	<b>Complexe</b>	
	<b>Coût</b>			<b>Fort</b>	<b>Élevé</b>	
	<b>Impact sur l'espèce et le milieu</b>			<b>Élevée</b>	<b>Fort</b>	





## 4. Évaluation de la mise en œuvre de la séquence ERCA

La prise en compte de la Cistude dans la séquence ERCA se déroule en quatre phases :

1. **Phase amont, détermination de la présence/absence de l'espèce :** 📄 CAS N°1 [Acquisition de connaissances en amont d'un projet d'aménagement pour la mise en œuvre des mesures d'évitement de la séquence ERCA](#)
2. **Mise en œuvre de la séquence « Éviter » :** 📄 CAS N°1 [Acquisition de connaissances en amont d'un projet d'aménagement pour la mise en œuvre des mesures d'évitement de la séquence ERCA](#)
3. **Évaluation des impacts du projet sur la population ;**
4. **Mise en place d'un protocole de suivi visant à évaluer la séquence.**

1. et 2. **La détection de l'espèce est suffisante pour engager la séquence « Éviter ».** Si les séquences « Réduire » et « Compenser » doivent être engagées il conviendra alors d'évaluer l'impact pour dimensionner au mieux les mesures, puis d'évaluer leur mise en œuvre afin de mettre en place des actions correctives si elles ne sont pas en mesure d'assurer un état de conservation favorable de l'espèce.

3. **L'évaluation de l'impact** sur la population implique de déterminer les habitats fréquentés par l'espèce sur le secteur. **Cette identification peut être définie avec l'appui d'un écologue ou d'un naturaliste local expert de l'espèce.** Elle peut être basée sur les éléments de connaissance générale de la biologie et de l'écologie de l'espèce ou s'appuyer sur une étude préalable visant à définir finement l'utilisation de l'espace par la Cistude sur le site du projet. **On privilégiera autant que possible, dans une mesure d'évitement géographique, une exclusion des habitats favorables potentiels, les connaissances sur l'espèce étant suffisamment bien étayées pour délimiter efficacement « à dire d'experts » les zones à éviter pour l'espèce** (cf. [Annexe. Liste des habitats favorables à la Cistude d'Europe](#)).

**L'étude fine de l'utilisation de l'habitat** est réalisée par le biais de **balises GPS ou d'émetteurs radio** fixés sur un échantillon de tortues suffisamment important pour être représentatif du comportement global de la population. Ce type d'étude est relativement onéreuse et lourde à mettre en œuvre et implique, outre une demande d'autorisation spécifique (Cerfa 13 616\*01, intitulé « Demande de dérogation pour la capture ou l'enlèvement, la destruction, la perturbation intentionnelle de spécimens d'espèces protégées »), la nécessité d'être accompagné par un expert formé aux techniques de capture et de suivi de la Cistude d'Europe. Une liste de personnes ressources est disponible sur le site Internet du [PNA Cistude](#) (onglet « Contact »). La mise en place d'un suivi par géolocalisation induit un fort risque de sous-estimer l'occupation de l'espace. En effet, l'échantillon sélectionné pour le suivi est la plupart du temps très insuffisant et non représentatif de la population pour diverses raisons :

- Choix des individus équipés qui se restreint aux « premiers animaux capturés » alors qu'il devrait se faire après avoir acquis une connaissance exhaustive de la population au travers de la mise en place d'un protocole CMR robuste,
- Coût élevé du matériel qui limite le nombre d'animaux équipés,



- Coût de la récolte et de traitement des données si l'échantillon est important.

4. La mise en place d'un protocole de suivi est destinée à **évaluer l'efficacité des mesures** de réduction et de compensation mises en œuvre dans le cadre de l'application de la séquence ERCA. Si l'on souhaite effectuer une comparaison objective de l'avant/après projet, il est **nécessaire de disposer d'un état zéro, c'est-à-dire de l'état de la population avant toute intervention sur le site**. Ceci implique donc **d'anticiper la phase de commencement des travaux de deux à trois années**, le temps d'appliquer un protocole CMR permettant de disposer d'une estimation fiable de la population. **Si cette condition n'est pas respectée, un protocole de suivi mis en place après les travaux** ne permettra en aucun cas d'analyser l'impact du projet et de s'assurer que la séquence a été correctement mise en œuvre. Pire, un suivi par CMR engendre un dérangement supplémentaire pour une population déjà soumise à des perturbations dans le cadre des travaux !

**Les études et suivis mis en place dans le cadre de l'application d'une séquence ERCA doivent faire l'objet d'une synthèse annuelle adressée à la DREAL Auvergne Rhône-Alpes, coordinatrice du PNA en faveur de la Cistude d'Europe, ainsi qu'à la SHF, structure animatrice du PNA.**



## CAS N°6

### Encadrement des mesures de réduction, compensation et accompagnement de la séquence ERCA

---

#### Analyse des impacts du projet sur la population

Cette analyse peut être faite via :

- Une **identification de l'ensemble des habitats favorables** réalisée avec l'appui d'un écologue ou d'un naturaliste local expert de l'espèce ([cf. protocole](#)),
- La mise en place d'un **suivi par géolocalisation** d'un échantillon suffisamment important pour être représentatif du comportement de l'ensemble de la population ([cf. protocole](#)). Cette méthode n'est pas à privilégier dans la mesure où sa mise en œuvre est complexe, dérangeante pour l'espèce et le milieu et peut donner lieu à une interprétation erronée de la situation réelle.

---

#### Mise en place d'un protocole de suivi visant à évaluer la séquence

Un suivi efficace et proposant des données exploitables implique :

- La réalisation d'un **état zéro** par protocole CMR,
- La **reconduite régulière** et sur le **long terme** du suivi selon un **protocole robuste**,
- **L'accompagnement par un biostatisticien** pour l'analyse des données.



#### 4. Encadrement des mesures de réduction, compensation et accompagnement de la séquence ERCA

		Prospection visuelle	ADNe	Piégeage prospectif	Campagne CMR	Géolocalisation
		Analyse des impacts du projet sur la population		Cartographie de l'ensemble des habitats potentiels	Méthode non adaptée	Méthode non adaptée
Analyse des impacts du projet sur la population	Pertinence	Cartographie de l'ensemble des habitats potentiels	Méthode non adaptée	Méthode non adaptée	Méthode nécessaire en amont de l'étude par géolocalisation deux à trois ans avant le début des travaux	A bien dimensionner deux à trois ans avant le début des travaux
	Logistique de mise en œuvre	Facile Recours nécessaire à un expert local			Complexe	Complexe
	Coût	Faible à modéré (en fonction de la surface à cartographier)			Élevé	Très élevé
	Impact sur l'espèce et le milieu	Faible à modéré (en fonction de la surface à cartographier)			Fort	Très fort
		Prospection visuelle	ADNe	Piégeage prospectif	Campagne CMR	Géolocalisation
		Mise en place d'un protocole de suivi visant à évaluer la séquence		Méthode alternative possible	Méthode non adaptée	Méthode non adaptée
Mise en place d'un protocole de suivi visant à évaluer la séquence	Pertinence	Méthode alternative possible	Méthode non adaptée	Méthode non adaptée	Suivi long terme avec protocole robuste	Méthode pouvant être complémentaire à la CMR
	Logistique de mise en œuvre	Facile Recours nécessaire à un expert local			Complexe	Complexe
	Coût	Faible à modéré (en fonction de la surface à prospector)			Élevé	Très élevé
	Impact sur l'espèce et le milieu	Faible à modéré (en fonction de la surface à cartographier)			Fort	Très fort



## Annexe 1 : Liste des habitats favorables à la Cistude d'Europe selon la codification EUNIS

Toutes les unités inférieures se rattachant au code donné sont comprises dans la liste (NB : cette liste n'est pas exhaustive).

Code habitats EUNIS	
<b>Zones humides</b>	C - EAUX DE SURFACE CONTINENTALES
	D1 - Tourbières hautes et tourbières de couverture
	D2 - Tourbières de vallée, bas-marais acides et tourbières de transition
	D6 - Marais continentaux salés ou saumâtres et roselières
	D4 - Bas-marais riches en bases et tourbières des sources calcaires
<b>Pelouses et prairies</b>	E1 - Pelouses sèches
	E2 - Prairies mésiques
	E7 - Prairies peu boisées
<b>Landes et fourrés</b>	F4 - Landes arbustives tempérées
	F9 - Fourrés ripicoles et des bas-marais
<b>Boisements</b>	G1.1 Forêts riveraines et forêts galeries, avec dominance d' <i>alnus</i> , <i>populus</i> ou <i>salix</i>
	G1.2 Forêts riveraines mixtes des plaines inondables et forêts galeries mixtes
	G1.3 Forêts riveraines méditerranéennes
	G1.4 Forêts marécageuses de feuillus ne se trouvant pas sur tourbe acide
	G1.5 Forêts marécageuses de feuillus sur tourbe acide
<b>Habitats anthropisés</b>	I HABITATS AGRICOLES, HORTICOLES ET DOMESTIQUES RÉGULIÈREMENT OU RÉCEMMENT CULTIVÉS
	J3.2 Sites d'extraction minière à ciel ouvert en activité, y compris les carrières
	J3.3 Zones de surface récemment abandonnées de sites industriels d'extraction
	J4.2 Réseaux routiers
	J4.3 Réseaux ferroviaires
	J4.4 Pistes d'aviation et aires de stationnement des aéroports
J5 - Plans d'eau construits très artificiels et structures connexes	
<b>Complexes d'habitats</b>	X03 Lagunes littorales saumâtres
	X04 Complexes de tourbières hautes
	X09 Pâturages boisés (avec une strate arborée recouvrant le pâturage)
	X10 Bocages
	X11 Grands parcs
	X13 Terrains faiblement boisés avec des arbres feuillus caducifoliés
	X25 Jardins domestiques des villages et des périphéries urbaines





## Annexe 2 : Protocole de recherche visuelle de l'espèce

*La détection d'une espèce dans la nature est soumise à de nombreux facteurs et la probabilité de détection peut être très variable. L'absence d'observation ne peut être assimilée à une absence certaine et définitive de l'espèce sur un site d'étude.*

Cette méthode de recherche est basée sur le comportement d'insolation de l'espèce, qui permet son observation dans certaines conditions particulières, mais également sur la recherche de traces et indices de présence.

### 1. Détection d'individus aux jumelles ou à la lunette d'approche

Ce protocole est applicable uniquement les jours présentant un bon ensoleillement, une température au soleil de 15°C à 30°C et un vent modéré.

La recherche des individus nécessite une observation attentive et minutieuse, au moyen de jumelles ou d'une lunette d'approche de bonne qualité, de l'ensemble du linéaire de berges ensoleillées, avec une attention accrue portée aux postes potentiels d'insolation (touradons, branches mortes en surplombs sur la zone en eau, etc.).

L'observateur se place de manière à disposer d'une bonne vision sur le secteur de berges ensoleillées et réalise soit des points d'observation fixes en changeant régulièrement de poste d'observation, soit il parcourt lentement les berges en effectuant des arrêts fréquents.



Figure 2 - Zones à prospecter à la jumelle dans le cadre d'une recherche de la Cistude d'Europe



Figure 3 - Arbre mort utilisé par la Cistude d'Europe pour la thermorégulation





De manière globale, on considère que des prospections réalisées les jours ensoleillés sur les plages horaires suivantes permettent d'observer l'espèce dans la majorité des cas :

- en avril entre 10 et 14h,
- en mai entre 9 et 11h,
- en juin, entre 8 et 10h et entre 17 et 19h.

Cependant, la probabilité d'observation au sein de ces créneaux horaires peut être très variable en fonction de la région et certaines plages horaires pourront être privilégiées au cours d'une étude. **C'est pourquoi le recours à un expert local est indispensable pour fixer le protocole d'observation de manière efficiente.**

Dans les secteurs de végétation dense, une recherche d'individus au cours du mois de mars, lors de journées chaudes et ensoleillées, peut faciliter l'observation de l'espèce à la faveur du développement très limité de la végétation en cette saison.

Deux à trois passages sur un site, réalisés dans de bonnes conditions d'ensoleillement et de vent modéré, suffisent généralement pour une détection positive si l'espèce est présente.

Des **solariums artificiels** peuvent être mis en place sur les secteurs où l'on constate un manque de structures naturelles adéquates qui pourrait nuire à une bonne détection de l'espèce. Ces solariums peuvent être de simples amas de branches ou un arbre mort disposés en bordure de la zone en eau, ou des dispositifs plus complexes comme le montre la figure ci-dessous.



©Conseil départemental de l'Isère

Figure 4 - Solariums artificiels aménagés sur un ENS du Département de l'Isère





## 2. Recherche d'indices de présence de l'espèce

Les indices de présence peuvent être l'observation d'empreintes laissées sur un sol meuble, la découverte de pontes fraîches, de restes de pontes prédatées ou d'échecs de ponte au sein d'une prairie.




Figure 5 - Ponte prédatée de Cistude d'Europe

La détection des pontes peut être mise en place au cours des mois de mai à juillet. Les zones en herbe, non inondables, à proximité du milieu humide devront être parcourues en veillant à bien sillonner l'ensemble de la zone.

**Cette recherche reste délicate et doit être réalisée par une personne ayant une bonne connaissance de l'espèce.**



## Annexe 3 : Protocole de récolte de l'ADNe



### Protocole d'échantillonnage pour milieu aquatique stagnant (kit SW1)

**INFORMATIONS IMPORTANTES**

- Chaque kit SW1 contient une capsule de filtration VigiDNA® avec deux bouchons et une étiquette ainsi qu'un sac contenant deux paires de gants, une louche, un sachet stérile, une seringue, un entonnoir et une bouteille de tampon de conservation.
- Les prélèvements doivent être réalisés depuis la berge afin d'éviter une contamination croisée entre les sites étudiés et l'introduction dans le milieu de pathogènes ou d'espèces exotiques envahissantes. Pour les points d'échantillonnage difficilement accessibles, une perche télescopique munie d'une protection stérile peut être utilisée. Si le préleveur doit obligatoirement entrer dans l'eau pour réaliser l'échantillonnage, il est nécessaire d'utiliser des bottes ou cuissardes préalablement désinfectées au Virkon® S (nettoyage à l'aide d'une brosse pour retirer les boues et débris puis pulvérisation d'une solution de Virkon® S à 1 %).
- La stratégie d'échantillonnage (période, nombre de kits SW1 utilisés et localisation des prélèvements) doit être adaptée en fonction de l'écologie de l'espèce ou du groupe cible et de la typologie du site étudié.
- La détectabilité de l'espèce ou du groupe cible est fortement dépendante de la qualité de l'échantillonnage et donc du bon respect de ce protocole.
- Il est indispensable de noter la correspondance entre le numéro du filtre et le site étudié ainsi que toute information susceptible d'être utile pour l'analyse (ex : colmatage de la capsule). Le numéro du filtre sera l'unique identifiant de l'échantillon lors du rendu des résultats.
- En cas de doute sur la mise en œuvre de ce protocole, n'hésitez pas à contacter SPYGEN au 04 79 26 15 83.

1 / 2Version 1.0

[www.vigiDNA.com](http://www.vigiDNA.com)





### PROTOCOLE DÉTAILLÉ

1. Mettre une paire de gants neuve.
2. Ouvrir le sachet stérile en enlevant la bande plastique supérieure puis en tirant sur les languettes blanches.
3. Effectuer 20 prélèvements d'eau de 100 mL avec la louche stérile autour du site étudié (remplir la louche jusqu'au niveau du portoir) et les verser dans le sachet. ***NB** : Avant chaque prélèvement, homogénéiser la colonne d'eau en prenant soin de ne pas remettre de matière organique en suspension.*
4. Lorsque les 2 L d'eau ont été prélevés, refermer le sachet puis l'agiter pendant quelques secondes.
5. Mettre une paire de gants neuve.
6. Prendre l'étiquette située dans la boîte et la coller sur la capsule de filtration.
7. Prélever 100 mL d'eau dans le sachet à l'aide de la seringue et les faire passer lentement à travers la capsule de filtration VigiDNA<sup>®</sup> (en respectant le sens d'écoulement ; flèche « Flow » sur le côté de la capsule). Répéter l'opération jusqu'à ce qu'il n'y ait plus d'eau dans le sachet ou jusqu'au colmatage de la capsule (filtrer au minimum 1 L d'eau). ***NB** : Avant chaque prélèvement, agiter l'eau contenue dans le sachet à l'aide de la seringue afin d'homogénéiser l'échantillon.*
8. Expulser l'eau restante dans la capsule en utilisant la seringue remplie d'air. Répéter l'opération plusieurs fois si besoin.
9. Fermer le bas de la capsule à l'aide d'un bouchon. Placer l'entonnoir sur le haut de la capsule et verser doucement le tampon de conservation jusqu'à atteindre le haut de la capsule.
10. Fermer le haut de la capsule à l'aide du second bouchon (bien l'insérer pour éviter toute fuite). Retourner le filtre, enlever le bouchon du bas et verser le reste du tampon de conservation à l'aide de l'entonnoir.
11. Refermer le bas de la capsule puis l'agiter vigoureusement pendant environ 1 min. La capsule doit être mise en position horizontale et tournée régulièrement.
12. Renseigner la date de prélèvement et le nom du préleveur sur les deux étiquettes (capsule et boîte) à l'aide d'un marqueur indélébile (non fourni).
13. Ranger la capsule dans sa boîte en respectant le sens « Flow » (flèche vers le bas). Jeter le reste du matériel. ***NB** : Si le tampon de conservation n'a pas été entièrement utilisé, le renvoyer à SPYGEN.*
14. Stocker la capsule à température ambiante en évitant les fortes variations de température et l'envoyer à SPYGEN dans un délai d'un mois.



## Annexe 4 : Protocole de piégeage prospectif

*La Cistude d'Europe est une espèce protégée. Sa manipulation requiert une autorisation spécifique. Préalablement à toute étude impliquant un contact avec l'espèce, un formulaire CERFA n°13616\*01 devra être adressé aux Services instructeurs de la région concernée. La demande d'autorisation de capture est nominative, elle doit être motivée et clairement explicitée. Le piégeage représente des risques pour la Cistude, mais également pour d'autres espèces présentes sur le site, lorsque les exigences de mise en place des pièges ne sont pas strictement respectées. La personne amenée à manipuler les pièges doit par conséquent avoir suivi au préalable une formation auprès d'une structure référente du PNA. L'étude proposée doit être réellement bénéfique et/ou nécessaire à la population qui en fait l'objet ou s'inscrire dans la stratégie nationale de conservation de l'espèce.*

Deux types de pièges sont utilisés pour la capture de la Cistude d'Europe : les filets **type « verveux »** et les **nasses cylindriques**. Les **captures à la main** ou à **l'épuisette** peuvent parfois être employées, mais nécessitant un temps de présence plus long de l'opérateur, elles doivent être limitées si l'on souhaite minimiser le dérangement sur le site.

Les verveux sont des pièges à captures multiples (permettent la capture de plusieurs cistudes simultanément) composés d'une aile suivie d'une succession de chambres en forme d'entonnoir. Ils sont disposés perpendiculairement à la berge. Les tortues en se déplaçant buttent dans l'aile du filet et sont dirigées à l'intérieur. Elles ne peuvent alors plus ressortir grâce au système de chambres successives en forme d'entonnoirs. Pour optimiser leur utilisation on peut disposer à l'intérieur un appât (poisson, abats) ayant un rôle attractif, bien que l'intérêt d'un appât n'ait jamais été démontré. L'extrémité du verveux est tenue en dehors de l'eau par un piquet et un flotteur de sécurité (deux bouteilles vides de 1.5l, frite de natation) est placé à l'intérieur du piège.



©Conseil départemental de l'Isère



Figure 6 - Filets de type verveux





Les verveux sont adaptés au piégeage des zones en eau allant de 0,70 à 1,2 m de profondeur. En-deçà le risque de piéger d'autres espèces est important, au-delà le dispositif ne peut être fixé de façon sécurisée. L'utilisation de verveux implique également d'avoir un sol suffisamment meuble pour y enfoncer les piquets retenant le piège.

La manipulation des verveux s'opère généralement à deux, le dispositif étant lourd et relativement encombrant, il peut s'avérer complexe à poser dans des certains secteurs (touradons, amas de branches mortes, herbiers aquatiques).

Lorsque les conditions topographiques ou morphologiques ne permettent pas l'utilisation des verveux, les nasses cylindriques, ou pièges tambour, peuvent être employés. Ils constituent, comme les verveux, des dispositifs à captures multiples. Les nasses appâtés (poisson, abats) sont disposées parallèlement à la berge, dans des zones de faible (< 70 cm) ou de fortes profondeurs (>1,2 m). Une bouteille vide de 1.5 l ou une frite de natation est placée à l'intérieur du piège comme flotteur de sécurité.



Figure 7 - Nasse cylindrique

Les nasses présentent l'avantage d'être facilement manipulable par un opérateur unique mais serait moins efficaces sur certains secteurs que les verveux.

De manière globale, la probabilité de capture est soumise à la période de capture, aux conditions météorologiques, à la topographie de la zone en eau et aux particularités de la population concernée par le piégeage.

La période la plus favorable en terme de capture s'étend de mai à mi-juillet mais les conditions météorologiques, conditionnant les déplacements, déterminent largement le nombre de captures par session.

**Le piégeage prospectif a vocation à limiter le dérangement sur le milieu et les espèces. Par conséquent la pression de piégeage devra rester faible et se limiter à la pose de quelques pièges dans des secteurs apparaissant comme les plus favorables à l'espèce. L'accompagnement par un expert de l'espèce permettra de déterminer le nombre de pièges à utiliser et les secteurs à privilégier.**

Les pièges sont laissés en place jusqu'à la première capture et pour une durée de 10 jours maximum sans capture. Ils sont contrôlés chaque jour. Les individus capturés sont relâchés immédiatement après géolocalisation, examen rapide de l'état sanitaire et photographie de la dossière et du plastron.



*Rappel : La détection d'une espèce dans la nature est soumise à de nombreux facteurs et la probabilité de détection peut être très variable. L'absence de capture ne peut être assimilée à une absence certaine et définitive de l'espèce sur un site d'étude.*



©Conseil départemental de l'Isère





## Annexe 5 : Protocole CMR (capture-marquage-recapture)

*La Cistude d'Europe est une espèce protégée. Sa manipulation requiert une autorisation spécifique. Préalablement à toute étude impliquant un contact avec l'espèce, un formulaire CERFA n°13616\*01 devra être adressé aux Services instructeurs de la région concernée. La demande d'autorisation de capture est nominative, elle doit être motivée et clairement explicitée. Le piégeage représente des risques pour la Cistude, mais également pour d'autres espèces présentes sur le site, lorsque les exigences de mise en place des pièges ne sont pas strictement respectées. La personne amenée à manipuler les pièges doit par conséquent avoir suivi au préalable une formation auprès d'une structure référente du PNA. L'étude proposée doit être réellement bénéfique et/ou nécessaire à la population qui en fait l'objet ou s'inscrire dans la stratégie nationale de conservation de l'espèce.*

Deux types de pièges sont utilisés pour la capture de la Cistude d'Europe dans le cadre d'un protocole CMR : les filets **type « verveux »** et les **nasses cylindriques**. Les **captures à la main** ou **à l'épuisette** peuvent parfois être employées, la plupart du temps en complément d'une autre méthode, ces techniques restant moins efficaces que la pose de pièges fixes.

Les verveux sont des pièges à captures multiples (permettent la capture de plusieurs cistudes simultanément) composés d'une aile suivie d'une succession de chambres en forme d'entonnoir. Ils sont disposés perpendiculairement à la berge. Les tortues en se déplaçant buttent dans l'aile du filet et sont dirigées à l'intérieur. Elles ne peuvent alors plus ressortir grâce au système de chambres successives en forme d'entonnoirs. Pour optimiser leur utilisation on peut disposer à l'intérieur un appât (poisson, abats) ayant un rôle attractif, bien que l'intérêt d'un appât n'ait jamais été démontré. L'extrémité du verveux est tenue en dehors de l'eau par un piquet et un flotteur de sécurité (deux bouteilles vides de 1,5 l, frite de natation) est placé à l'intérieur du piège.



©Conseil départemental de l'Isère



Figure 8 - Filets de type verveux





Les verveux sont adaptés au piégeage des zones en eau allant de 0,70 à 1,2 m de profondeur. En-deçà le risque de piéger d'autres espèces est important, au-delà le dispositif ne peut être fixé de façon sécurisée. L'utilisation de verveux implique également d'avoir un sol suffisamment meuble pour y enfoncer les piquets retenant le piège.

La manipulation des verveux s'opère généralement à deux, le dispositif étant lourd et relativement encombrant, il peut s'avérer complexe à poser dans des certains secteurs (touradons, amas de branches mortes, herbiers aquatiques).

Lorsque les conditions topographiques ou morphologiques ne permettent pas l'utilisation des verveux, les nasses cylindriques, ou pièges tambour, peuvent être employés. Ils constituent, comme les verveux, des dispositifs à captures multiples. Les nasses appâtées (poisson, abats) sont disposées parallèlement à la berge, dans des zones de faible (< 70 cm) ou de fortes profondeurs (>1,2 m). Une bouteille vide de 1.5 l ou une frite de natation est placée à l'intérieur du piège comme flotteur de sécurité.



Figure 9 - Nasse cylindrique

Les nasses présentent l'avantage d'être facilement manipulable par un opérateur unique mais serait moins efficaces sur certains secteurs que les verveux.

De manière globale, la probabilité de capture est soumise à la période de capture, aux conditions météorologiques, à la topographie de la zone en eau et aux particularités de la population concernée par le piégeage.

La période la plus favorable en terme de capture s'étend de mai à mi-juillet mais les conditions météorologiques, conditionnant les déplacements, déterminent largement le nombre de captures par session.

L'évaluation des effectifs sur un site d'étude peut être réalisée par application d'un protocole CMR. Cette méthode requiert un protocole lourd et non dépourvu de conséquence sur le milieu naturel. Il peut induire des dérangements de la faune, des destructions d'espèces animales ou végétales et représente un risque pour les Cistudes capturées s'il n'est pas effectué dans des conditions précises. Il nécessite la mobilisation quotidienne de deux personnes au minimum à chaque session de capture qui se déroule sur quatre à cinq jours consécutifs. Chaque jour, les pièges sont contrôlés et les individus capturés sont relâchés après identification des individus connus ou marquage des nouveaux individus (système



d'encoches des écailles marginales selon un code préalablement défini et permettant l'identification de chaque individu lors de recaptures ultérieures ou pose de puce RFID).



Figure 10 - Marquage des écailles marginales à la scie à métaux

La capture des individus permet parallèlement une appréciation de leur état sanitaire. Les informations relatives à chaque capture (date, N° d'identification de l'individu, localisation géographique, état



sanitaire de l'individu, photographie dossière et plastron) sont stockées informatiquement pour permettre une analyse ultérieure des données. **Dès la troisième session de capture, des calculs d'estimation d'effectifs sont réalisés** et testés statistiquement afin d'ajuster la pression de capture au cours des sessions de piégeage suivantes. Un minimum de 2 années de suivi est cependant nécessaire pour obtenir des données statistiquement robustes. Si l'on souhaite évaluer le taux de survie au sein de la population, il convient de prévoir un suivi sur du long terme. Les personnes qui réalisent les captures doivent bénéficier d'une expérience justifiable (rapports d'études, publication scientifiques...) dans ce type de manipulation ou suivre préalablement une formation avec une personne référente. Il existe de nombreux logiciels d'aide à l'exploitation des résultats de CMR et leur utilisation peut s'avérer assez complexe. **Il est donc vivement conseillé de travailler dès la mise en place du protocole avec un biostatisticien** qui proposera un protocole adapté aux éléments à évaluer et permettant d'exploiter de façon optimale les données récoltées.

### ⇒ Cas particulier du suivi par CMR de population issues de programmes de réintroduction

En raison de leur faible mobilité et de l'utilisation de pièges peu adaptés à cette classe d'âge, les individus de moins de 4 ans sont peu capturés. Il convient de prendre en compte ce paramètre pour ajuster le calendrier du suivi à mettre en place. En effet, si le choix est fait d'introduire des jeunes de 1 ou 2 ans, le suivi ne devra intervenir **au plus tôt que cinq ans après la date de lâcher** si l'on souhaite obtenir des résultats exploitables. De même, on ne pourra évaluer le succès reproducteur de l'espèce sur le site que lorsque les premiers animaux nés sur place auront dépassé l'âge de 4 ans. La maturité sexuelle chez la Cistude étant atteinte autour de 8 ans, un deuxième suivi proposé **au plus tôt 12 ans après le lâcher initial** permettra d'appréhender le recrutement au sein de la population.

- **Programmer l'évaluation de la survie des animaux réintroduits :**

**Année de suivi** = Année de lâcher + 6 - Âge des individus au moment du lâcher

- **Programmer l'évaluation du succès reproducteur des animaux réintroduits :**

**Année de suivi** = Année de lâcher + 8 + 6 - Âge des individus au moment du lâcher





## Annexe 6 : Protocole de suivi par géolocalisation

*La Cistude d'Europe est une espèce protégée. Sa manipulation requiert une autorisation spécifique. Préalablement à toute étude impliquant un contact avec l'espèce, un formulaire CERFA n°13616\*01 devra être adressé aux Services instructeurs de la région concernée. La demande d'autorisation de capture est nominative, elle doit être motivée et clairement explicitée. Le piégeage représente des risques pour la Cistude, mais également pour d'autres espèces présentes sur le site, lorsque les exigences de mise en place des pièges ne sont pas strictement respectées. La personne amenée à manipuler les pièges doit par conséquent avoir suivi au préalable une formation auprès d'une structure référente du PNA. L'étude proposée doit être réellement bénéfique et/ou nécessaire à la population qui en fait l'objet ou s'inscrire dans la stratégie nationale de conservation de l'espèce.*

L'utilisation d'émetteurs radio ou de GPS fixés à la dossière des Cistudes permet l'analyse de l'utilisation de l'espace par une population. Cependant, la mise en place d'un suivi par géolocalisation induit un fort risque de sous-estimer l'occupation de l'espace pour les raisons suivantes :

- Choix des individus équipés qui se restreint aux « premiers animaux capturés » alors qu'il doit se faire **après avoir acquis une connaissance exhaustive de la population au travers de la mise en place d'un protocole CMR robuste**,
- Coût élevé du matériel qui limite le nombre d'animaux équipés,
- Coût de la récolte et de traitement des données si l'échantillon est important.

**Si l'échantillon sélectionné pour le suivi est insuffisant et non représentatif de la population, les animaux suivis ne représenteront alors qu'une fraction de la population, faussant ainsi l'image du fonctionnement global de la population sur le site.**

- L'émetteur est fixé à l'animal étudié avec de la colle forte à prise rapide (époxy) permettant un déséquipement aisé à la fin du suivi.
- Son poids moyen ne doit pas dépasser 5 % du poids de l'individu équipé pour ne pas compromettre sa survie.
- Le positionnement de l'émetteur ne doit pas affecter l'individu équipé dans son activité quotidienne ni lors de l'accouplement.

La sélection des animaux à suivre (âge, sexe), la durée du suivi et la fréquence de localisation sont des paramètres à ajuster en fonction des objectifs du suivi.

L'utilisation de GPS est actuellement une alternative au radiopistage qui entraîne nettement moins de dérangement liés aux relevés au sein du milieu naturel mais pose la question de l'impact des ondes émises par ces dispositifs sur les animaux.

L'ajustement du protocole et le choix du matériel de géolocalisation, qui évolue constamment, se feront avec **l'appui des experts du réseau du PNA**.



Figure 11 - Jeune cistude équipée d'un émetteur



## Annexe 7 : Protocole de récolte d'échantillons pour les analyses génétiques

*La Cistude d'Europe est une espèce protégée. Sa manipulation requiert une autorisation spécifique. Préalablement à toute étude impliquant un contact avec l'espèce, un formulaire CERFA n°13616\*01 devra être adressé aux Services instructeurs de la région concernée. La demande d'autorisation de capture est nominative, elle doit être motivée et clairement explicitée. Le piégeage représente des risques pour la Cistude, mais également pour d'autres espèces présentes sur le site, lorsque les exigences de mise en place des pièges ne sont pas strictement respectées. La personne amenée à manipuler les pièges doit par conséquent avoir suivi au préalable une formation auprès d'une structure référente du PNA. L'étude proposée doit être réellement bénéfique et/ou nécessaire à la population qui en fait l'objet ou s'inscrire dans la stratégie nationale de conservation de l'espèce.*

**☞ La réalisation de prélèvement sur les animaux implique d'avoir préalablement suivi et validé une formation en expérimentation animale.**

Les analyses génétiques peuvent être réalisées à partir de plusieurs types d'échantillons :

- Griffes
- Frottis buccal
- Prise de sang

### ☞ Griffes

Coupez la griffe à mi-longueur et placez-la dans un tube fermé hermétiquement.

Si la griffe est envoyée dans les 2 jours suivant le prélèvement, il n'est pas nécessaire de lui ajouter un moyen de conservation. Si la griffe est envoyée après ce délai, il est préférable de lui ajouter de l'alcool non-dénaturé (sans cétone) à 75-100 %.

Il est très important de bien désinfecter les ciseaux ayant servi à couper la griffe entre chaque prélèvement, afin d'éviter toute contamination entre les individus. Pour ce faire, nettoyez les lames à l'alcool et brûlez soigneusement les lames pendant 10 secondes sur une flamme de bougie ou d'un briquet.

L'utilisation de griffes permet d'obtenir facilement de l'ADN mais sa qualité est aléatoire. De plus, il est primordial de respecter scrupuleusement le protocole ci-dessus afin d'éviter toute contamination entre les individus. Cette méthode peut sembler rapide et facile, mais elle nécessite un strict respect de la procédure, c'est pourquoi il peut être préférable de réaliser un frottis buccal.

### ☞ Frottis buccal

Ouvrez la bouche de l'animal et tournez l'écouvillon sous sa langue pendant minimum 15 secondes. Il est également possible d'utiliser des cotons tiges non-stériles (à acheter au supermarché) à placer individuellement dans un tube.

Pour le prélèvement, tenez fermement l'animal, maintenez sa tête hors de la carapace, pressez la jugulaire entre le pouce et l'index jusqu'à ce que la cistude ouvre sa mâchoire. Cette méthode peut



sembler brutale mais elle est très rapide (elle est également utilisée lors de la vermifugation des tortues). Elle permet de limiter le temps de manipulation et de réduire ainsi le stress pour l'individu (le stress étant plus lié au temps de manipulation qu'au type de manipulation). L'écouvillon doit être placé sous la langue de l'animal.

Placez l'écouvillon dans un tube. Afin d'éviter la prolifération de champignons sur l'écouvillon, il est préférable de laisser le tube entrouvert une demi-journée afin que la salive présente sur l'écouvillon sèche complètement.

#### ➡ Prise de sang

Cette méthode nécessite l'intervention d'une personne titulaire d'une formation sur l'expérimentation et l'utilisation d'animaux de la faune sauvage non herbergées à fins scientifiques.

La prise de sang peut être réalisée au niveau de la veine jugulaire, de la veine caudale ou dans le sinus veineux.

Un volume de 50-100  $\mu$ l (0.05-0.1 ml) est suffisant pour réaliser les analyses. Il faut au préalable bien désinfecter l'endroit où l'aiguille sera introduite.

Placez le volume de sang dans la [solution tampon](#) et mélangez le tout.

#### Remarques générales :

- Il est primordial de bien noter le numéro de l'individu sur le tube et de marquer l'animal individuellement, soit par coupe d'écaïlles, soit par implantation d'un microchip/transpondeur passif. La reconnaissance individuelle peut aussi se faire par photo de la tête et du plastron, pour autant que le nombre d'animaux à reconnaître soit limité.
- Les délais et les coûts des analyses dépendent du projet dans lequel l'animal est analysé, du type d'analyses effectuées (détermination de l'haplotype et/ou du statut hybride de l'individu) et du personnel à disposition pour effectuer les analyses.
- Un envoi par courrier postal normal est suffisant, mais il convient de mentionner la présence de "matériel scientifique".

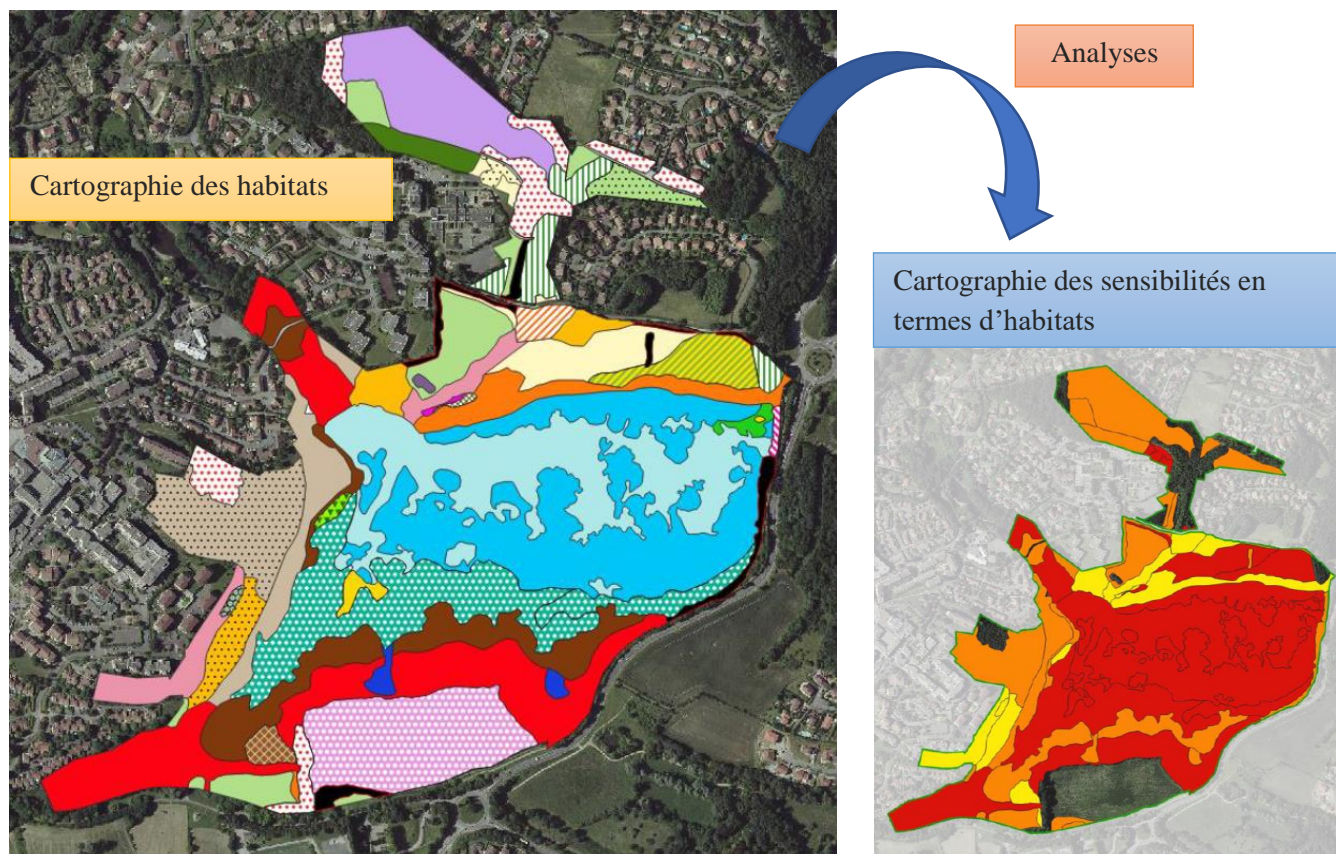


## Annexe 8 : Protocole d'analyse cartographique de l'habitat potentiel

La cartographie des habitats potentiels portera sur l'ensemble des habitats situés dans un rayon théorique minimal de **500 m autour de l'habitat** au sein duquel a été réalisée l'observation d'un individu, mais également sur l'ensemble des milieux humides situés dans un rayon théorique minimal de **1 km autour de l'habitat** au sein duquel a été réalisée l'observation.

La classification des habitats se fera selon le [code EUNIS](#).

Les habitats figurant dans le tableau [en annexe 1](#) sont considérés comme des habitats potentiels pour la Cistude d'Europe. La mise en relation entre la cartographie des habitats, la fonctionnalité de ces habitats (état de conservation, accessibilité) et le tableau des habitats potentiels permettra, à une personne ayant de bonnes connaissances de l'espèce, de dessiner une carte de sensibilité de chaque habitat sur la zone cartographiée.





## **Annexe 9 : Fiche « Retour d'expériences » sur la mise en œuvre des suivis**

*(Adresser la fiche à [stephanie.thienpont@lashf.org](mailto:stephanie.thienpont@lashf.org))*

### **Structure porteuse :**

.....

### **Type de suivi mis en œuvre :**

.....

### **Cadre d'acquisition des données :**

*Préciser le numéro du cas selon la nomenclature de ce document*

.....

### **Localisation du site d'étude :**

.....

### **Moyens mobilisés :**

*Type de dispositif, moyens humains, nombre de jours, moyens financiers, etc.*

.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....

### **Difficultés rencontrées lors de la mise en œuvre :**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....

