



# **PASSIFOR**

## **Propositions d'Amélioration du Système de Suivi de la biodiversité FOREstière**

Coordination : Guy Landmann, Ecofor et Frédéric Gosselin, Irstea

Convention E30/2012  
entre le Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt et le GIP Ecofor

Novembre 2015

Avec les contributions de Christophe Bouget, Irstea, Thomas Cordonnier, Irstea, Frédéric Gosselin, Irstea, Hervé Jactel, INRA, Guy Landmann, Ecofor, Carlos Lopez-Vaamonde, INRA, Julien Tourout, MNHN, Yoan Paillet, Irstea, Rodolphe Rougerie, INRA/MNHN

### **Citation conseillée**

Landmann G., Gosselin F., (coord.), 2015. PASSIFOR - Propositions d'Amélioration du Système de Suivi de la biodiversité FORestière . Paris : Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt - GIP Ecofor, Rapport final, 101 p.

### **Remerciements**

Annabelle Amm, Ecofor, a grandement contribué à la mise en forme du rapport

## PASSIFOR

# Propositions d'Amélioration du Système de Suivi de la biodiversité FORestière

Le rapport du projet PASSIFOR comporte de 3 volets :

- Volet 1. État des lieux des réseaux de suivi de la biodiversité et inventaires forestiers existants en France
- Volet 2. Test méthodologique comparant les diversités des coléoptères saproxyliques par identification morphologique et métabarcoding
- Volet 3. Elaboration d'un projet de recherche appliquée et d'expertise sur des maquettes de suivi de la biodiversité forestière : PASSIFOR-2

Le projet a fait l'objet d'une Convention C2013.01 entre Ecofor et l'INRA et d'une convention C2013.14 entre Ecofor et Irstea



## TABLE DES MATIERES

<b>Volet 1. État des lieux des réseaux de suivi de la biodiversité et inventaires forestiers existants en France.....</b>	<b>9</b>
Résumé.....	10
1. <i>Eléments structurants et rappel du contexte général</i> .....	11
2. Méthodes de travail .....	12
2.1 Critères de choix des réseaux retenus .....	12
2.2 Identification des réseaux et recensement des données d'analyse.....	13
3. Réseaux identifiés et composantes.....	14
3.1 Analyse des résultats bruts suite à la consultation.....	14
3.2 Structuration des réseaux .....	14
3.2.1 Stratégie d'échantillonnage .....	14
3.2.2 Pression d'échantillonnage et méthodes.....	16
3.2.3 Emprise taxonomique .....	17
4. Analyse des réseaux au regard des Variables Essentielles de Biodiversité .....	17
5. Perspectives.....	19
5.1 Exemples de réseaux de suivi de biodiversité à l'étranger .....	19
5.1.1 Le Monitoring de la Biodiversité en Suisse .....	19
5.1.2 Le Monitoring de la Biodiversité en Alberta .....	22
5.2 Quel est le coût d'un suivi de biodiversité ? Quelques éléments de comparaison...	22
Références.....	23
Annexe 2 : Coordonnées des personnes en charge des réseaux ciblés sur la base du tableau brut.....	27
Annexe 3 : Description des réseaux de suivis identifiés sur la base des réponses au questionnaire .....	29
Annexe 4 : Présentation des Variables Essentielles de Biodiversité.....	32
Annexe 5 : Classement des réseaux de suivi de biodiversité au travers des variables essentielles de biodiversité .....	36

## **Volet 2. Test méthodologique comparant les diversités des coléoptères saproxyliques par identification morphologique et métabarcoding.....37**

Résumé exécutif .....	38
1. Organisation interne au projet.....	40
2. Construction d'une librairie de référence.....	41
2.1 Echantillonnage: liste des espèces cibles, recueil des échantillons et conditionnement.....	41
2.2 Séquençage des codes-barres ADN.....	42
2.3 Analyses.....	43
2.4 Conclusion .....	46
3. Test méthodologique comparatif d'identifications moléculaires vs morphologiques	46
3.1 Métabarcoding : atouts et contraintes .....	46
3.2 Objectifs et réflexion sur les facteurs de variation .....	48
3.3 Plan d'échantillonnage : mise en œuvre, conditionnement des échantillons.....	49
3.4 Organisation et coût du séquençage NGS.....	50
3.5 Organisation et coût de l'analyse bioinformatique d'assignation des séquences ...	52
3.6 Dépouillement classique : tri morphologique et reconditionnement.....	53
3.7 Etat actuel du jeu de données.....	53
3.8 Résultats provisoires .....	54
3.8.1 Efficience comparative de l'identification moléculaire .....	54
3.8.2 Plus-value de l'identification moléculaire.....	55
3.8.3 Détections additionnelles (contaminations..) .....	58
3.8.5 Familles, espèces et détectabilité par l'approche NGS.....	59
3.9 Conclusion .....	61
3.10 Perspectives : les défis de l'application du métabarcoding.....	62
3.11 Liste des publications PASSIFOR.....	63
Références.....	63
Annexe 1 : Jeu de données partiel (30/11/2015) .....	66

## **Volet 3. Elaboration d'un projet de recherche appliquée et d'expertise sur des maquettes de suivi de la biodiversité forestière : PASSIFOR-2 .....69**

1. Introduction au projet PASSFOR-2 .....	70
1.1 Synopsis .....	70
1.2 Le pourquoi du Projet PASSIFOR .....	70
1.3 Les phases du Projet PASSIFOR .....	72
1.4 L'objectif et les composantes de PASSIFOR-2 .....	73
Références .....	74
2. Tâche A - Coordination, Animation & Intégration .....	76
2.1 Justification de la proposition .....	76
2.2 Objectifs et résultats attendus .....	76
2.2.1 Définition du contour des dispositifs et de quelques maquettes possibles .....	77
2.2.2 Etude approfondie des dispositifs retenus dans la perspective de leur intégration dans une maquette .....	78
2.2.3 Intégration des différents dispositifs .....	78
2.2.4 Aspects transversaux de la mise en œuvre .....	79
Références .....	79
3. Tâche B - Gouvernance du système d'observation .....	80
3.1 Justification de la proposition .....	80
3.2 Objectifs et résultats attendus .....	80
3.2.1 Etude de systèmes de suivi de la biodiversité .....	81
3.2.2 Analyse des questionnaires .....	81
3.2.3 Evaluation des maquettes .....	82
4. Tâche C - Parties de la biodiversité forestière suivies .....	83
4.1 Justification de la proposition .....	83
4.2 Objectifs et résultats attendus .....	84
4.2.1 Identité de la biodiversité forestière .....	84
4.2.2 Analyse multicritères .....	84
4.2.3 Modes innovants et coûts d'échantillonnage des groupes de biodiversité forestière .....	85
4.2.4 . Synthèse .....	86

Références.....	87
5. Tâche D - Variables écologiques et de peuplement forestier .....	89
5.1 Justification de la proposition .....	89
5.2 Objectifs .....	91
5.2.1 Identification des complémentarités écologiques et méthodologiques entre les approches indirectes et directes d'évaluation de la biodiversité .....	91
5.2.2 Recensement des politiques publiques ayant des effets sur la gestion forestière.....	91
5.2.3 Influence des politiques publiques sur la gestion forestière et modifications induites sur la structure, composition et dynamique des peuplements forestiers.....	91
5.2.4 Liens entre variables de structure, de composition et de dynamique sensibles aux politiques publiques et diversité des groupes taxonomiques .....	91
5.2.5 Recherche de pistes de méthodologies pour quantifier ces variables de structure, de composition et de dynamique des peuplements forestiers. ....	91
Références.....	93
6. Tâche E - Mesures, échantillonnage, analyses statistiques .....	94
6.1 Justification de la proposition .....	94
6.2 Objectifs et résultats attendus.....	95
6.3 Synthèse et veille bibliographique .....	95
6.3.1 Métriques de biodiversité visées .....	95
6.3.2 Approches statistiques "Model-based" vs "design-based".....	96
6.3.3 Données de variables explicatives bruitées dans le cadre des modèles statistiques .....	96
6.3.4 Quelle organisation pour l'analyse et la "valorisation" des données?.....	96
6.3.5 Identification de cas étrangers ou d'autres domaines à prendre en compte ....	96
6.4 Aspects liés à la mesure notamment de biodiversité .....	97
6.5 Aspects échantillonnages utiles pour PASSIFOR.....	97
6.6 Aspects d'analyses statistiques .....	98
6.7 Contacts avec d'autres organismes français et étrangers .....	98
Références.....	99
7. Besoins financiers pour conduire le projet PASSIFOR-2 .....	101





PASSIFOR

"Proposition d'Amélioration du Système de Suivi de la biodiversité FORestière"

## **Volet 1. État des lieux des réseaux de suivi de la biodiversité et inventaires forestiers existants en France**

Coordonateur : Yoan Paillet

Irstea - Unité "Ecosystèmes Forestiers"  
Domaine des Barres  
F-45290 Nogent-sur-Vernisson,  
[Yoan.Paillet@irstea.fr](mailto:Yoan.Paillet@irstea.fr)

## ***Résumé***

Le travail entrepris dans le cadre du projet PASSIFOR (Tâche 1) vise à une identification, un état des lieux et une analyse des réseaux de suivi forestier et/ou de biodiversité en France. Nous avons ciblé des réseaux montrant une composante forestière majoritaire, à l'échelle nationale ou subnationale, avec une couverture taxonomique correspondant à la communauté ou la population, et possédant un protocole et un plan d'échantillonnage renseignés.

Sur la base d'une enquête nationale, 12 réseaux principaux ont pu être analysés. De manière assez triviale, les stratégies d'échantillonnage adoptées par chaque réseau identifié correspondent aux objectifs de ce dernier mais seul l'inventaire forestier national est véritablement représentatif de la forêt française. L'emprise taxonomique de chaque réseau est souvent limitée, la plupart relevant tout ou partie de la flore vasculaire (notamment les essences d'arbres et arbustes). Plus marginalement, certains réseaux relèvent des données de groupes taxonomiques plus diversifiés (lichens, micro- et macrofaune du sol).

La « gap analysis » utilisant la grille de lecture des Variables Essentielles de Biodiversité (EBV) révèle que la composante génétique est la moins couverte par les réseaux analysés. Les autres composantes de biodiversité sont mieux représentées, notamment celles à l'échelle de la communauté. Dans une moindre mesure, les traits des espèces sont également assez bien couverts. Par ailleurs, D'une manière générale, les réseaux qui disposent de données dendrométriques permettent de dériver un nombre assez grand d'EBV, notamment l'inventaire forestier national, mais ces résultats sont à relativiser par rapport aux précédentes analyses. En effet, si les réseaux mesurant de la dendrométrie sont performants, c'est uniquement au regard du (des) taxon(s) concerné(s) et de la couverture spatiale de l'échantillonnage.

En termes de perspectives, deux réseaux à l'étranger dont l'approche nous paraît assez exemplaire sont présentés. Des éléments de comparaison de coûts sont également abordés.

## ***1. Éléments structurants et rappel du contexte général***

La mise en œuvre d'un **suivi de biodiversité à large échelle** est un sujet récurrent depuis les années 1990 (e.g. Lindenmayer & Likens, 2010; Nichols & Williams, 2006; Yoccoz *et al.*, 2001). Face à un constat d'impuissance face à la perte de biodiversité au niveau global (Butchart *et al.*, 2010; Tittensor *et al.*, 2014), et à l'échec de réalisation des objectifs dits « biodiversité 2010 » (Walpole *et al.*, 2009), ce besoin est toujours plus prégnant et a suscité des initiatives internationales, notamment sous les auspices du groupe d'observation de la Terre GEO, en particulier l'initiative GEOBON (Scholes *et al.*, 2008; Scholes *et al.*, 2012). De cette dernière a émergé le cadre des *Variables Essentielles de Biodiversité* (EVB, Pereira *et al.*, 2013) qui a pour but de structurer à l'échelle internationale le recueil de données de biodiversité dans le but de mieux suivre toutes ses composantes. Malgré la valeur incontestable de ces initiatives, les facteurs explicatifs identifiés qui sous-tendent les dynamiques observées sont souvent à des échelles très larges, basés sur des données paysagères (e.g. occupation du sol) ou des modèles climatiques (Jiguet *et al.*, 2012), alors que des données plus précises de gestion sont difficilement prises en compte.

En forêt, les suivis de biodiversité pâtissent des mêmes manques que les approches non sectorielles. Ils bénéficient cependant de l'apport des **Inventaires Forestiers Nationaux** (IFN, au sens large), sur lesquels de nombreux dispositifs de recueil de données de biodiversité sont fondés (Lee *et al.*, 2005). Une des limites de cette approche est que, malgré les qualités statistiques des inventaires forestiers pour l'évaluation de la ressource, la majorité des données de biodiversité qui en découlent sont de nature indirecte (« proxys » ou grandeurs de substitution dérivés de la structure forestière notamment) et ne permettent pas de décrire et de suivre précisément l'état et la dynamique de la biodiversité forestière sur une large gamme taxonomique (Gosselin & Gosselin, 2008; Gosselin *et al.*, 2012; Landmann *et al.*, 2009 ; Levrel, 2007). A titre d'exemple, le volume de bois mort est utilisé comme indicateur (proxy) de la biodiversité qui est censée en dépendre (champignons, mousses, coléoptères dits saproxyliques) mais n'en décrit que partiellement les variations (e.g. Lassauce *et al.*, 2011). Ainsi, si les suivis forestiers sont en constante progression aux niveaux européen et nationaux (inventaires forestiers nationaux, maille systématique 16 x 16 km, programme ICP forests...), ils n'intègrent qu'une **part congrue de la biodiversité forestière**, le plus souvent limitée à la flore vasculaire ou à des morphotypes de certains groupes, tels les macrolichens (Gosselin *et al.*, 2008; Gosselin & Paillet, 2011; Tomppo *et al.*, 2010). En particulier, les taxons forestiers à enjeux pour la gestion forestière (i.e. potentiellement menacés par l'exploitation du bois) sont le plus souvent exclus de ces suivis à grande échelle : mousses, lichens, champignons lignicole, coléoptères saproxyliques, syrphes etc... (Gosselin *et al.*, 2012; Paillet *et al.*, 2013)

Ainsi, si le processus *Forest Europe* (anciennement MCPFE, FOREST EUROPE *et al.*, 2011) de suivi de la gestion forestière durable des forêts au niveau européen intègre explicitement la biodiversité (Critère 4 : Maintien, Conservation et Amélioration Approprié de la Biodiversité Forestière), la plupart des 9 indicateurs européens de ce critère sont des mesures indirectes de biodiversité basées sur des données d'inventaires forestier (Lier *et al.*, 2013; Nivet *et al.*, 2012). En effet, seuls deux de ces indicateurs (indicateur 4.1 concernant la richesse en essences et indicateur 4.8 concernant les espèces menacées sur la base des listes rouges) sont des mesures directes de diversité taxonomique, et un de diversité intraspécifique (Indicateur 4.6 concernant les peuplements conservatoires). Si des efforts ont été faits pour mieux représenter la biodiversité (Corona *et al.*, 2011; Puumalainen *et al.*,

2003), il n'en reste pas moins que les initiatives visant à compléter les inventaires forestiers par des données de biodiversité autres que celles déjà collectées sont rares (voir cependant les travaux du Monitoring de la Biodiversité en Suisse, [www.biodiversitymonitoring.ch](http://www.biodiversitymonitoring.ch), ainsi que ceux de la Finlande sur les espèces de liste rouge, Paillet *et al.*, 2013). Or c'est sans doute sur cette part non évaluée de biodiversité que pèsent les principales contraintes liées aux changements globaux (climatique, intensification de l'exploitation forestière).

Dans ce contexte, la **tâche 1 du projet PASSIFOR** a pour but de procéder à **une identification, un état des lieux et une analyse des réseaux de suivi forestier et/ou de biodiversité en France**, notamment sur la base du cadre des variables essentielles de biodiversité. Ce travail vient compléter les réflexions qui ont alimenté l'expertise Biomadi et le recueil d'expériences étrangères en matière de suivi de biodiversité (Gosselin *et al.*, 2012 ; Gosselin & Paillet, 2011)

## 2. Méthodes de travail

### 2.1 Critères de choix des réseaux retenus

Plutôt qu'une tentative d'inventaire exhaustif des dispositifs de suivi de la biodiversité au niveau national (par essence vaine), nous avons procédé à un ciblage a priori avec dans l'idée d'identifier et d'analyser des réseaux sur lesquels pourraient être construits un (des) dispositif(s) de suivi de la biodiversité forestière. De ce fait, les réseaux sélectionnés répondent à des critères définis en amont de la phase de recensement proprement dite :

- **Composante forestière** : elle doit être significative et/ou majoritaire sur le réseau concerné : le réseau bénéficie d'un grand nombre d'observations en forêt ;
- **Echelle spatiale** : nationale ou subnationale (au moins à l'échelle de grandes régions). Les suivis à l'échelle régionale ou infra- ont été délibérément exclus ;
- **Couverture taxonomique** : les relevés des données doivent se faire à l'échelle communauté, éventuellement à l'échelle de la population d'espèce si le dispositif s'avère particulièrement pertinent au regard de la problématique forestière. Des réseaux couvrant des échelles intraspécifiques peuvent également être inclus ;
- **Qualités scientifiques et caractéristiques techniques** : nous avons plutôt ciblé des réseaux disposant d'un protocole et/ou d'un plan d'échantillonnage clairs et disponibles, cohérents (notamment lorsque différentes régions sont échantillonnées de manière à ce qu'il n'y ait pas de biais) et reproductibles, au moins en partie.

Du fait de ces restrictions, et même si cette exclusion a priori est discutable, un certain nombre de réseaux (d'inventaire<sup>1</sup> ou de suivi<sup>2</sup>) mesurant de la biodiversité ne sont pas intégrés, notamment les atlas régionaux et les plans nationaux d'action basés sur leurs données, les inventaires de ZNIEFF et Natura 2000.

---

<sup>1</sup> Estimation par échantillonnage d'une caractéristique d'une population cible, en l'occurrence de métriques de biodiversité.

<sup>2</sup> Echantillonnage statistique répété dans le temps destiné à observer l'évolution d'une caractéristique donnée.

**Tableau 1 : Réseaux identifiés et renseignés suite à l'envoi du questionnaire PASSIFOR**

Réseaux	Base questionnaire	Recherche complémentaire
Identifiés et renseignés	Inventaire Forestier National (IGN) Réseau de Suivi de la Santé et des Dégâts Forestiers (RSSDF) Réseau de Mesure de la Qualité des Sols (RMQS) Renecofor (ONF) Suivi des Réserves Forestières (RNF) Protocole Forêt Alluviales (RNF) Réseau Suivi Ongulés Sauvages (RESOS) Syrph-the-net	Vigie Nature (STOC, STERF...) Réseau Asso Futaie Irrégulière (AFI) PlantaComp (INRA) Conservatoires Botaniques Nationaux (CBN)
Identifiés et non-renseignés	Observatoire des Galliformes de Montagne Office Pour les insectes et leur Environnement COST E4 :Réseau européen de collaboration scientifique, l'action E4 est focalisée sur les suivi des forêts en libre évolution Observatoire mycologique (Renecofor essentiellement) Parc Nationaux de France	
Méta-réseaux	GBIF (Global Biodiversity Information Facility) SINP (Système d'Information Nature et Paysage) ECOSCOPE (réseau des Observatoires de Recherche en Biodiversité)	

## ***2.2 Identification des réseaux et recensement des données d'analyse***

La première phase du recensement des réseaux existants a consisté en l'envoi d'un questionnaire par courrier électronique en Juin 2013 (**Annexe 1**). Pour des raisons pratiques, la première grille d'analyse a été construite en partenariat avec les coordinateurs du projet Sicfor (Asse *et al.*, 2014). Cette grille visait à identifier les grandes caractéristiques des réseaux, et a été envoyée aux têtes de réseau potentielles et aux organismes susceptibles de conduire des suivis. Suite à une relance en septembre 2013, le descriptif des réseaux a été complété sur la base des ressources bibliographiques et humaines disponibles.

Sur les 35 têtes de réseau potentiellement identifiées (**Annexe 2**), 10 ont répondu au questionnaire en ligne, puis 9 autres réseaux ont été complétés sur la base des données disponibles (**Tableau 1, Annexe 1**).

## 3. Réseaux identifiés et composantes

### 3.1 Analyse des résultats bruts suite à la consultation

Les réseaux identifiés sur la base de l'enquête et des recherches complémentaires se répartissent en 3 catégories (**Tableau 1**) :

- Les réseaux identifiés et dont les caractéristiques ont pu être renseignées, au moins en partie (au nombre de 12) ;
- Les réseaux identifiés mais sur lesquels les données sont très fragmentaires, voire inexistantes (5) ;
- Les « méta-réseaux », qui regroupent des entités de regroupement de données au niveau national et international (3).

La suite de l'analyse porte uniquement sur les réseaux pour lesquels les données étaient suffisantes et qui se sont avérés pertinents pour la suite du projet.

### 3.2 Structuration des réseaux

Parmi les 12 réseaux identifiés et renseignés (**Tableau 2**), Syrph-the-net et le réseau de suivi des forêts alluviales n'ont pas été retenus dans notre analyse : le premier ne constitue pas un réseau de suivi à proprement parler, mais plutôt un réseau d'experts focalisés sur les syrphidés<sup>3</sup> ; le second est voué à être fusionné avec le réseau de suivi des réserves forestières et sera donc analysé comme tel. Les résultats synthétiques sont présentés dans le **Tableau 2**, l'**Annexe 3** présente les résultats complets.

Tous les réseaux retenus s'étendent au niveau national, parmi ceux-là 4 concernent tous les milieux (pas uniquement la forêt) : il s'agit de Vigie Nature, du RESOS, du réseau des CBN et du RMQS. Le réseau de suivi des réserves forestières concerne uniquement une partie des réserves à dominante forestière. Dans le cas de Vigie Nature, nous prendrons pour exemple le Suivi Temporel des Oiseaux Communs (STOC) qui est le plus développé et celui pour lequel le plus d'information est disponible.

#### 3.2.1 Stratégie d'échantillonnage

L'échantillonnage sur les réseaux de suivi est de plusieurs types :

- **Aléatoire** : cela concerne uniquement l'inventaire forestier national<sup>4</sup> ;
- **Systématique** : c'est le cas des réseaux basés sur la maille européenne 16x16km (RSSDF, RMQS) qui basent donc leurs relevés sur des placettes permanentes. De même, le réseau de suivi des réserves forestières est basé sur une maille systématique calculée par réserve échantillonnée. Les autres réseaux basés sur une maille systématique sont ceux utilisant une maille nationale carrée (STOC, Conservatoires Botaniques). Dans ce dernier cas, la logique est

---

<sup>3</sup> Les **Syrphidae** ou **syrphides** (ou **syrphes**), sont une famille de Diptères du sous-ordre des Brachycera

<sup>4</sup> En France, l'inventaire des ressources forestières est assuré par l'**Institut National de l'Information Géographie et Forestière** qui résulte de la fusion de l'**Institut Géographique National** et de l'**Inventaire Forestier National** en 2012. Nous utilisons ici le terme générique d'« inventaire forestier national ».

**Tableau 2 : Réseaux identifiés et renseignés**

Dispositif	Echelle (type de milieu)	Echantillonnage	Nombre d'observations	Démarche qualité et procédure(s) standardisée(s)	Taxons concernés
Inventaire forestier (IGN)	Nationale (forêt)	Aléatoire, placettes temporaires	~6-7000 pl. / an	Oui	Flore vasculaire
Suivi des dégâts forestiers (RSSDF)	Nationale (forêt)	Systématique, placettes permanentes, déclinaison d'un réseau européen (ICP Forest niveau I)	520pl. (forêt)	Oui	Flore vasculaire
Réseau de Mesure de la qualité des sols (RMQS INRA)	Nationale (tous milieux)	Systématique, placettes permanentes, déclinaison d'un réseau européen (ICP Forest niveau I)	520pl. (forêt) + 1600 (maille 16x16)	Oui	Macrofaune et Microorganismes du sol Champignons supérieurs
Renecofor (ONF)	Nationale (forêt)	Stratifié (grossièrement), placettes permanentes, déclinaison d'un réseau européen (ICP Forest niveau II)	102 pl.	Oui	Flore vasculaire Champignons supérieurs Macrofaune sol
Suivi des réserves forestières (RNF)	Nationale (réserves forestières)	Systématique par réserve, placettes permanentes	~7000 pl.	Partielle	Flore vasculaire (arbres) Ponctuellement autres taxons
Vigie Nature (MNHN)	Nationale (tous milieux)	Varié selon les taxons	STOC : 1700 carrés x 10 écoutes	Non mentionné	Oiseaux communs Chiroptères Amphibiens / Reptiles Insectes Flore vasculaire
Association Futaie Irrégulière	Nationale (forêt)	Déterministe, placettes permanentes	100 pl.	Non mentionné	Flore vasculaire (arbres)
PlantaComp	Nationale (forêt)	Déterministe, placettes permanentes (expérimentales)	1000 sites	Oui	Intraspécifique (arbres, expérimental)
Conservatoires botaniques (CBN)	Nationale (tous milieux)	Stratifié par maille, placettes temporaires	Plusieurs par maille (10km)	Non mentionné	Flore vasculaire Bryophytes Fonge ?
Réseau Observation des Ongulés Sauvages (RESOS)	Nationale (tous milieux)	Communal (variable)	36 660 (théoriquement une par commune)	Non mentionné	Ongulés sauvages (cerf, chevreuil, sanglier, bouquetin, mouflon, chamois, isard et autres cervidés)

- différente puisque, si la maille est systématique, les relevés à l'intérieur de chaque maille sont stratifiés de manière homogène par type de milieu représentés<sup>5</sup>, et donc en partie déterministes. Un autre cas particulier de maille systématique concerne le Réseau de Suivi des Ongulés Sauvages, dont les observations se font à l'échelle communale ou supracommunale (cerf), mais n'ont pas de composante plus fine facilement identifiable ;
- **Déterministe / stratifié** : il s'agit de réseaux ciblant soit des peuplements particuliers (Renecofor, qui se veut représentatif des types de peuplements rencontrés au niveau national ; le réseau de l'Association Futaie Irrégulière qui suit des traitements irrégulier principalement en forêt privée sur la base du volontariat), soit de réseaux expérimentaux (Plantacomp, réseau de comparaison de d'origines d'essences au niveau national).

De manière évidente, les différentes stratégies d'échantillonnage adoptées correspondent aux différents objectifs des réseaux de suivis. Au final, seul l'inventaire forestier national est statistiquement représentatif des forêts françaises, mais, de ce fait, ne dispose que de peu de données sur les réserves forestières en raison de leur faible emprise au niveau national. A contrario, le réseau de suivi des réserves forestières se limite à une partie des réserves forestières françaises, pour lequel il est représentatif<sup>6</sup>.

### 3.2.2 Pression d'échantillonnage et méthodes

En dehors des réseaux basés sur des mailles communales, qui disposent d'un nombre théorique de plus de 36000 observations, le réseau avec la pression d'échantillonnage la plus forte – de surcroît en forêt – est l'inventaire forestier national, fort de 6 à 7000 placettes temporaires mesurées chaque année. L'échantillonnage est fondé sur des placettes temporaires. Le réseau de suivi des réserves forestières dispose également d'un nombre de placettes conséquent au regard de la surface échantillonnée, et fonde son échantillonnage sur des placettes permanentes suivies dans le temps.

Suivent ensuite les **réseaux par maille** qui concernent généralement plusieurs milieux et possèdent des pseudo-repliquats par milieu au sein de chaque maille (CBN, STOC). Certains de ces réseaux ont construit leur échantillonnage de manière à ce qu'il puisse être réutilisé à d'autres fins (cf. les travaux du CBN du Bassin Parisien et l'inventaire de la flore de Bourgogne, Bardet, 2014; et les résultats obtenus par le STOC, voir par ex. Jiguet *et al.*, 2012; Pellissier *et al.*, 2013). Les réseaux basés sur la maille 16x16 sont quant à eux ponctuels et utilisent des placettes permanentes potentiellement suivies dans le temps (2 passages effectifs à l'heure actuelle pour le RSSDF).

---

<sup>5</sup> <http://vigienature.mnhn.fr/page/protocole> : « La méthodologie est simple et peu contraignante : un observateur désirant participer au programme se voit attribuer un carré de 2x2 kilomètres tiré au sort dans un rayon de 10 kilomètres autour d'un lieu de son choix, ainsi que d'un carré de remplacement au cas où le premier carré serait inaccessible. À l'intérieur de ce carré, l'observateur répartit 10 points de comptage de manière homogène et proportionnellement aux habitats présents, sur lesquels il effectue deux relevés de 5 minutes exactement (= EPS) chaque printemps, à au moins 4 semaines d'intervalle, avant et après la date charnière du 8 mai. »

<sup>6</sup> Nous adoptons ici la définition suivante : un échantillon statistique est dit **représentatif** lorsqu'il est issu d'une population statistique par un processus probabiliste ou tirage au sort dont les probabilités sont connues (i.e. les probabilités d'inclusion des individus statistiques sont connues). Les échantillons issus d'un échantillonnage aléatoire, d'un échantillonnage aléatoire stratifié... sont représentatifs. Il en est de même, mais dans une moindre mesure, pour un échantillonnage systématique. Il est évident qu'un échantillon ne peut être représentatif que de ce qu'il cherche à échantillonner (s'il est représentatif d'autre chose, c'est simplement par hasard).



Les deux réseaux présentant la pression d'échantillonnage la plus faible de l'ensemble analysé sont d'une part le réseau de l'**AFI** qui cible des peuplements en traitement irrégulier principalement en forêt privée qui est réduit du fait de la nécessité d'accord avec le propriétaire ; et d'autre part le réseau **Renecofor**. Sur ce dernier, les mesures réalisées sont cependant particulièrement intensives, en accord avec le programme européen auquel ces placettes appartiennent (ICP forest niveau 2).

La plupart de ces réseaux disposent d'une démarche qualité et de méthodes opératoires standardisées (e.g. Ferretti, 2009), excepté pour 4 d'entre eux (AFI, RESOS et notamment les relevés de maille : STOC, CBN) pour lesquels une telle démarche n'est mentionnée ni lors des réponses au questionnaire, ni dans les documents consultés.

### 3.2.3 Emprise taxonomique

La plupart des réseaux relèvent des données de **flore vasculaire** (souvent limitées aux essences d'arbres, du fait de la préférence accordée à la forêt dans le cadre de ce travail). Seuls le RMQS et RESOS ne relèvent pas de telles données, mais le RMQS est couplé au RSSDF qui lui assure ce genre de relevés. Plus marginalement, certains réseaux relèvent des données de **groupes taxonomiques plus diversifiés (lichens, micro- et macrofaune du sol...)** sans que cela soit systématique comme montré pour les inventaires forestiers nationaux (Gosselin & Paillet, 2011; Tomppo *et al.*, 2010). Le seul réseau véritablement multitaxonomique<sup>7</sup> est Vigie Nature, mais avec des approches différentes en fonction des taxons échantillonnés et des plans d'échantillonnages différents. En effet, sur ces réseaux, seul le STOC possède une emprise nationale (cf. par exemple la carte dans Jiguet *et al.*, 2012). Par ailleurs, seul le réseau Plantacomp possède une dimension intraspécifique avec une comparaison d'essences de différentes provenances à l'échelle nationale.

## 4. Analyse des réseaux au regard des Variables Essentielles de Biodiversité

Le concept des **Variables Essentielles de Biodiversité** (EBV) a été développé à l'interface entre rapportage, indicateurs et données brutes pour faciliter l'utilisation des données de biodiversité dans l'évaluation des changements environnementaux (Pereira *et al.*, 2013). Les EBV constituent un **ensemble de variables clés destinées à détecter les dimensions majeures des changements de biodiversité** (cf. **Annexe 4**, en anglais). Le cadre théorique des EBV a récemment été utilisé pour l'analyse d'un ensemble d'instruments politiques destinés à la préservation de la biodiversité (Geijzendorffer *et al.*, in press). Nous utilisons ici une approche comparable (« gap analysis ») pour l'analyse des réseaux de suivi de biodiversité identifiés pour la France. Le but est d'identifier les **forces et faiblesses des réseaux** en termes de couverture des différents champs de biodiversité couverts par les EBV.

---

<sup>7</sup> Le RMQS pourrait également rentrer dans cette catégorie, mais dispose d'une pression d'échantillonnage – notamment temporelle – plus faible.

**Tableau 3 : Analyse synthétique des réseaux de suivi de biodiversité au travers des variables essentielles de biodiversité. Les pourcentages représentent la proportion d'EBV de chaque composante. D = possibilité de dériver l'information de manière directe grâce aux données du réseau ; I = possibilité de dériver l'information de manière Indirecte (avec des calculs additionnels) grâce aux données du réseau (Geijendorffer *et al.*, in press).**

			Composition génétique		Populations d'espèces		Traits des espèces		Composition des communautés		Fonctions de l'écosystème		Structure de l'écosystème	
Réseau	Taxon(s)	Compartment(s)	D	I	D	I	D	I	D	I	D	I	D	I
Inventaire Forestier (IGN)	Arbres, plantes vasculaires	Forêt	0%	0%	100%	0%	16%	49%	50%	50%	25%	50%	66%	33%
Suivi des dégâts forestiers (DSF)	Arbres, certaines espèces de ravageurs	Forêt	0%	0%	0%	0%	16%	0%	0%	0%	25%	0%	0%	0%
Suivi de la qualité des sols (RMQS)	Micro- et macro-organismes du sol, champignons supérieurs	Tous milieux	25%	25% ?	0%	0%	0%	0%	50%	50%	50%	25%	66%	33%
Renecofor (ONF)	Arbres, Plantes, Lichens	Forêt	0%	0%	0%	0%	16%	33%	50%	0%	75%	0%	66%	0%
Suivi des réserves forestières (RNF - ONF)	Arbres (principalement)	Forêts (réserves)	0%	0%	100%	0%	0%	49%	50%	50%	75%	0%	33%	33%
Vigie nature : STOC-EPS (MNHN)	Oiseaux communs	Tous milieux	0%	0%	100%	0%	16%	0%	50%	50%	0%	0%	0%	0%
Réseau AFI	Arbres	Forêt	0%	0%	0%	0%	0%	49%	50%	50%	50%	0%	33%	33%
PlantaComp (INRA)	Arbres (certaines essences)	Forêt	0%	50% ?	0%	0%	16%	16%	0%	0%	50%	0%	0%	0%
Conservatoires botaniques (FCBN)	Plantes vasculaires, bryophytes terricoles	Tous milieux	0%	0%	33%	33%	0%	0%	50%	50%	0%	0%	0%	0%
Réseau Obs des Ongulés Sauvages (RESOS - ONCFS)	Ongulés sauvages	Tous milieux (communal)	0%	0%	33%	67%	33%	33%	50%	50%	0%	0%	0%	0%

Nous avons ainsi identifié quelles étaient les EBV que l'on pouvait dériver à partir des données générées par chaque réseau. Pour cette analyse, chaque réseau a été identifié comme fournissant soit directement des données identifiables comme EBV, soit indirectement lorsque la donnée pourrait être utilisée pour renseigner une EBV (après calculs complémentaires, consolidation de la base de données générée...). Les résultats résumés de cette analyse sont présentés dans le Tableau 3, et de manière extensive dans l'**annexe 5**.

Cette analyse permet deux lectures des réseaux de suivi concernés par ce travail :

- (i) Une **lecture « verticale »** montre que la composante génétique est la moins couverte par les réseaux analysés. En effet, seul les réseaux Plantacomp et RMQS possèdent une composante génétique (resp. pour les arbres et les bactéries du sol). Cette composante est a priori représentative de la population uniquement pour les bactéries du sol. Les autres composantes de biodiversité sont mieux représentées, notamment celles à l'échelle de la communauté qui sont le plus représentées. Dans une moindre mesure, les traits des espèces sont également assez bien couverts par les réseaux analysés.
- (ii) Une **lecture « horizontale »** permet d'identifier les réseaux les plus performants au regard des EBV. D'une manière générale, les réseaux qui disposent de données dendrométriques permettent de dériver un nombre assez grand d'EBV, notamment l'inventaire forestier national qui, en couplant données de télédétection (cartographie) et inventaires de terrain permet de renseigner 15 EBV sur 22. Le suivi des réserves forestières et Renecofor suivent, dans une moindre mesure. Le RMQS et le RESOS permettent de renseigner environ 40% des EBV, alors que les autres réseaux centrés sur la biodiversité (STOC et CBN) ne donnent accès qu'à 27 et 18% des EBV, respectivement.

Ces résultats sont à relativiser par rapport aux précédentes analyses. En effet, si les réseaux mesurant de la dendrométrie sont performants, c'est uniquement au regard du (des) taxon(s) concerné(s) et de la couverture spatiale de l'échantillonnage. Une nouvelle fois, seul l'inventaire forestier national est représentatif de la forêt française, mais ne donne accès qu'aux EBV pour les plantes supérieures (arbres, plantes vasculaires). De la même façon, si le STOC permet de ne remplir qu'environ un tiers des EBV, c'est parce qu'il est ciblé sur les oiseaux uniquement et ne relève que peu de variables environnementales sur les points d'écoute (qui sont dérivées d'autres sources, comme CORINE landcover, lors des analyses des données générées par le réseau). Le RESOS quant à lui, s'il permet de couvrir un pourcentage intéressant d'EBV, ne représente que quelques espèces (les ongulés sauvages) qui sont relevées de manière indirecte par l'intermédiaire des réalisations de plans de chasse.

## 5. Perspectives

Cette partie s'appuie très largement sur les publications de Gosselin et al. (2012) et Gosselin et Paillet (2011).

### ***5.1 Exemples de réseaux de suivi de biodiversité à l'étranger***

Nous prenons ici deux exemples qui nous paraissent illustrer de manière pertinente ce vers quoi devrait tendre un réseau de suivi de biodiversité à l'échelle nationale : il s'agit du réseau de Monitoring de la Biodiversité en Suisse (MBD) et du Suivi de la Biodiversité en Alberta (ABM).

#### ***5.1.1 Le Monitoring de la Biodiversité en Suisse***

Le Monitoring de la Biodiversité en Suisse (MBD, [www.biodiversitymonitoring.ch](http://www.biodiversitymonitoring.ch)) a été créé en 2001 sous la responsabilité de l'Office Fédéral de l'Environnement. C'est un programme de suivi non exclusivement forestier, qui produit une liste d'indicateurs structurée en trois catégories selon le système préconisé par l'OCDE (1994) pour la gestion d'écosystème soumis à des pressions

anthropiques : ainsi, ils qualifient une pression sur l'écosystème (15 indicateurs), un état de l'écosystème (12 indicateurs) ou une réponse de la société aux pressions exercées (7 indicateurs).

La plupart des indicateurs sont calculés à partir de données externes, mais au moins trois indicateurs d'état, centraux, sont construits à partir de données collectées directement sur le terrain par le MBD : tous les 5 ans, le MBD recense la diversité de plantes, de papillons, d'oiseaux, d'escargots et de mousses sur un réseau d'échantillonnage systématique de placettes permanentes (géolocalisées et matérialisées sur le terrain au moyen d'une borne métallique). Ce réseau de mesure mis en place à l'échelle de toute la Suisse est constitué de deux sous-réseaux (Figure 1) :

- le premier (Figure 1a), destiné à évaluer la diversité des espèces dans les paysages, est une grille systématique de 520 zones de 1km<sup>2</sup>, régulièrement réparties, avec toutefois une maille plus serrée dans le Jura et dans le Sud du pays. Sur ce réseau sont recensés les oiseaux nicheurs, les papillons diurnes et les plantes vasculaires. Les espèces sont inventoriées le long d'un transect qui parcourt chaque zone :
  - Transect de 2,5 km pour les papillons et la flore. Les papillons sont recensés sur 5 m de part et d'autre du transect (jusqu'à 7 passages par saison), les plantes sur 2,5 m de part et d'autre du transect (2 passages par an).
  - Transect différent, de 3 à 5 km pour les oiseaux nicheurs (identifiés au chant et à vue, 3 passages par an).
- le second (Figure 1b), destiné à évaluer la diversité spécifique des plantes vasculaires, mousses et mollusques dans les habitats, compte 1600 placettes de 10m<sup>2</sup>. La flore fait l'objet de 2 passages par an (les mousses sont récoltées au printemps, en plus du relevé de flore vasculaire; et identifiées en laboratoire). Pour les mollusques, des échantillons de sol sont prélevés sur 8 points à l'aide d'une carotteuse normée, et envoyés au laboratoire pour détermination.

Les données de relevés du MBD alimentent aussi en partie l'indicateur concernant la présence en Suisse d'espèces menacées à l'échelle mondiale. Le MBD se concentre sur l'inventaire d'espèces abondantes et répandues, chez lesquelles ont été constatées d'importantes modifications au cours des dernières années, avec des espèces naguère fréquentes qu'on ne trouve plus que rarement aujourd'hui. C'est en signalant de telles évolutions que le MBD espère donner l'alarme suffisamment tôt et justifier des mesures, avant que les espèces ne doivent être inscrites dans les listes rouges.

Le MBD s'organise de la façon suivante:

- un bureau externe assure la coordination de l'ensemble du projet et organise la collecte annuelle des données. Ses compétences englobent la gestion des données et leur interprétation, le rapportage et l'assurance qualité ;
- les relevés sur le terrain concernant les indicateurs principaux des espèces répandues sont confiés à des spécialistes choisis suite à appel d'offre, pour une période de plusieurs années. La structure de coordination procède en outre à ses propres relevés pour les sites où le travail s'avère particulièrement complexe ;
- les collectes de données sur les espèces rares sont réalisées par les institutions spécialistes des catégories concernées : le Centre suisse de cartographie de la faune (CSCF), le Centre du réseau suisse de floristique (CRSF), la Station ornithologique Suisse de Sempach, le Centre de coordination pour la protection des amphibiens et des reptiles de Suisse (KARCH) et la Société suisse de biologie de la faune (SSBF).

L'exploitation des données du MBD a déjà fourni des résultats intéressants pour la biodiversité forestière, en particulier au travers d'approches à échelles nationales que permet ce genre de dispositif (Zellweger et al., 2015).

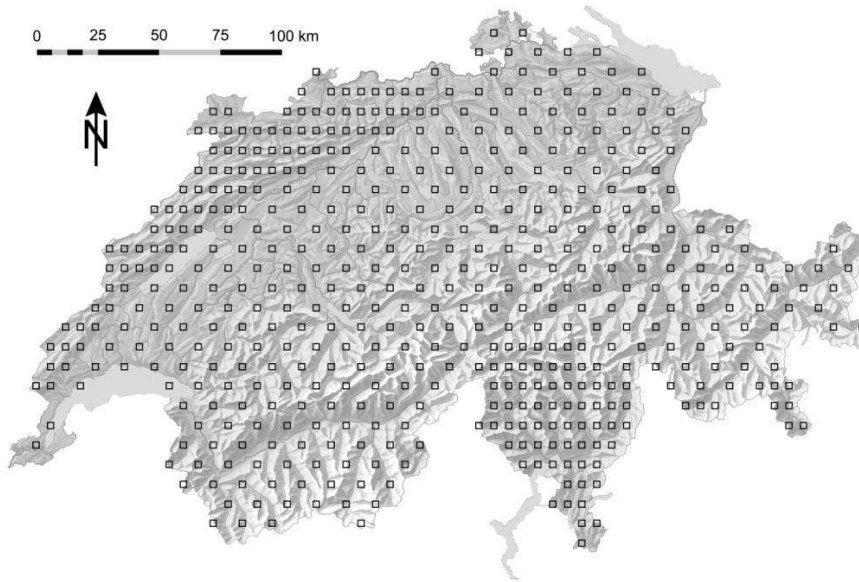


Figure 1a : Maille utilisée pour les relevés d'oiseaux nicheurs, de papillons diurnes et de plantes vasculaires

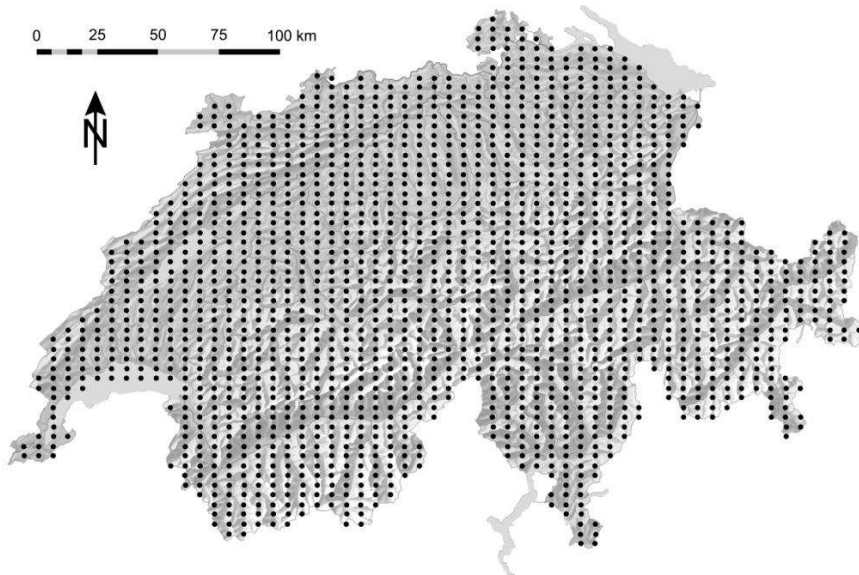


Figure 1b : Maille utilisée pour les relevés de plantes vasculaires, mousses et mollusques

**Figure 1 : Cartographies des mailles de relevés du système de monitoring de la biodiversité en Suisse (MBD)**

### **5.1.2 Le Monitoring de la Biodiversité en Alberta**

L'Alberta Biodiversity Monitoring Institute (ABMI) a été créé en 2003 ([www.abmi.ca](http://www.abmi.ca)). Il s'agit d'un système intégré de suivi de la biodiversité des écosystèmes à l'échelle de la province (661 000 km<sup>2</sup>), par collecte de données sur une maille systématique de 20x20km sur l'ensemble du territoire (1656 sites au total) :

- données de présence et abondance de taxons relevées au niveau "espèce" : plantes vasculaires, mousses, champignons, lichens, phytoplancton, oiseaux, mammifères, poissons, collemboles, rhopalocères, zooplancton, invertébrés benthiques.
- données structurales : arbres vivants et arbres morts, bois mort à terre, sol, couvert végétal, litière, physicochimie de l'eau, caractéristiques de bassin versant, caractéristiques paysagères.

Au total, l'ABMI évalue l'état et l'évolution de 2000 espèces, 200 variables d'habitat (à l'échelle de la placette), 40 variables d'empreinte humaine (à l'échelle du paysage). Chaque année, 330 sites sont visités, et la province est couverte en 5 ans. L'échantillonnage pour la collecte des données est dimensionné de manière à avoir 90% de chances de détecter un changement de 3 % par an après 4 visites (1 visite tous les 5 ans). Les protocoles d'échantillonnage et de collecte sont téléchargeables sur le site de l'ABMI.

Ce programme de suivi est piloté par une organisation indépendante non lucrative. Le bureau est composé de représentants du gouvernement, des différents secteurs, dont la forêt, d'organisation non gouvernementale et de scientifiques. Différents objectifs sont affichés :

- évaluation des changements de biodiversité à l'échelle du territoire de l'Alberta (Canada) ;
- fourniture d'informations fiables et objectives aux gestionnaires de ressources naturelles ;
- évaluation de l'efficacité des politiques de gestion durable, notamment de la gestion forestière durable ;
- analyse des relations possibles (corrélations) avec des facteurs potentiellement explicatifs.

### **5.2 Quel est le coût d'un suivi de biodiversité ? Quelques éléments de comparaison.**

Les deux réseaux mentionnés ci-dessus peuvent servir de point de départ :

- Le MBD coûte environ 2.5 millions d'euros par an hors taxes, soit 60€/km<sup>2</sup> rapporté à la surface totale du pays. Ce coût couvre pour l'essentiel des frais de personnel ;
- Le budget annuel de l'ABMI est de 12 M\$ (environ 9 M€, soit 13.6€/km<sup>2</sup> ramené à la surface de la province), financé à 60% par le gouvernement, à 40 % par les utilisateurs du territoire (dont les secteurs énergétique et forestier).

Bien entendu, l'échantillonnage de même que le nombre de données taxonomiques et environnementales relevées influencent fortement ce coût. Par ailleurs, la nature des intervenants est également à prendre en compte : Levrel et al. (2010), analysant le programme Vigie Nature coordonné par le MNHN, estiment que le coût annuel d'un suivi rémunéré, en lieu et place du dispositif actuel basé sur le bénévolat, pourrait atteindre plus d'un million d'euros en cas de prise en charge des salaires par la puissance publique, ce qui les rapprocherait des coûts évoqués ci-dessus – en prenant en compte le nombre de sites échantillonnés et la quantité de travail nécessaire pour

suivre les groupes taxonomiques choisis. Ce million d'euro est lui-même à comparer au coût actuel de 0.3 millions d'euros de Vigie Nature – fondé sur une implication forte de naturalistes bénévoles.

Sur cette question des coûts, nous avons calculé sur la base des estimations de Levrel *et al.* (2010) et des éléments fournis par Gosselin et Dallari (2007), le coût supplémentaire pour la puissance publique d'un scénario d'extension de suivis de biodiversité de complémentation des suivis existants (Vigie Nature et IGN/IFN) par un suivi professionnel de Coléoptères saproxyliques sur moitié moins de sites que le STOC accompagné du doublement des frais de structure pour l'animation. Nous estimons sur la base de Gosselin et Dallari (2007) qu'une placette pour l'échantillonnage des Coléoptères Saproxyliques coûte neuf fois plus cher qu'une placette pour l'échantillonnage des Oiseaux, et nous prenons dans Levrel *et al.* (2010) l'option de la professionnalisation via des fonctionnaires – solution moins chère qu'avec des bureaux d'étude. Cela nous amène à un coût annuel supplémentaire de 786 000 €. Ces chiffres sont des ordres de grandeur et, comme nous l'avons déjà mentionné, le choix de mettre en place de tels suivis est un choix politique devant prendre en compte de multiples critères et pas uniquement celui des coûts. L'articulation entre suivi bénévole et suivi professionnel doit être prise en compte dans ce choix.

## Références

- Asse D., Michelot-Antalik A., & Landmann G., 2014. Projet SICFOR. Du suivi aux indicateurs de changement climatique en forêt - Rapport final. Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt, GIP Ecofor, Paris
- Bardet O., 2014. L'Observatoire de la Flore de Bourgogne. In Séminaire ECOSCOPE, Paris, 3 novembre 2014
- Butchart S.H.M., Walpole M., Collen B., Van Strien A., Scharlemann J.P.W., Almond R.E.A., Baillie J.E.M., Bomhard B., Brown C., Bruno J., Carpenter K.E., Carr G.M., Chanson J., Chenery A.M., Csirke J., Davidson N.C., Dentener F., Foster M., Galli A., Galloway J.N., Genovesi P., Gregory R.D., Hockings M., Kapos V., Lamarque J.F., Leverington F., Loh J., McGeoch M.A., McRae L., Minasyan A., Morcillo M.H., Oldfield T.E.E., Pauly D., Quader S., Revenga C., Sauer J.R., Skolnik B., Spear D., Stanwell-Smith D., Stuart S.N., Symes A., Tierney M., Tyrrell T.D., Vié J.C., & Watson R., 2010. Global biodiversity: Indicators of recent declines. *Science*, 328, 1164-1168
- Corona P., Chirici G., McRoberts R.E., Winter S. & Barbati A., 2011. Contribution of large-scale forest inventories to biodiversity assessment and monitoring. *Forest Ecology and Management*, 262, 2061-2069
- Ferretti M., 2009. Quality Assurance in ecological monitoring - Towards a unifying perspective. *Journal of Environmental Monitoring*, 11, 726-729
- FOREST EUROPE, UNECE, & FAO, 2011.. State of Europe's Forests 2011. Status and Trends in Sustainable Forest Management in Europe. Ministerial Conference on the Protection of Forests in Europe
- Geijzendorffer I., Regan E.C., Pereira H.M., Brotons L., Brummitt N., Gavish Y., Haase P., Martin C., Mihoub J.-B., Secades C., Schmeller D.S., Stoll S., Wetzell F., & Walters M. (in press) Bridging the gap between biodiversity data and policy reporting needs; An Essential Biodiversity Variables perspective. *Journal of Applied Ecology*

- Gosselin F., Archaux F., & Gosselin M., 2008. Suivre la biodiversité en forêt : Pourquoi ? Quoi? Comment ? In De l'observation des écosystèmes forestiers à l'information sur la forêt, Landmann G., Landeau S., (eds), pp. 26-32. Editions Quae, Paris, FRA
- Gosselin F. & Dallari R., 2007. Des suivis "taxonomiques" de biodiversité en forêt. Pourquoi ? Quoi ? Comment ? Convention de recherche Ecofor - Cemagref
- Gosselin F. & Gosselin M., 2008. Pour une amélioration des indicateurs et suivis de biodiversité forestière. *Ingénieries-EAT*, 55-56, 113-120
- Gosselin, F., Gosselin, M., & Paillet, Y., 2012. Suivre l'état de la biodiversité forestière : pourquoi ? comment ? *Revue forestière française*, LXIV, 683-700
- Gosselin M. & Paillet, Y., 2011. Suivis opérationnels de biodiversité forestière : quelles expériences à l'étranger ? Rapport Biomadi, Biomasse forestière. Irstea, Nogent-sur-Vernisson, France.
- Jiguet F., Devictor V., Julliard R., & Couvet D., 2012. French citizens monitoring ordinary birds provide tools for conservation and ecological sciences. *Acta Oecologica*, 44, 58-66
- Landmann G., Gosselin F., Bonhême I., & (coord.), 2009. Bio2, Biomasse et Biodiversité forestières. Augmentation de l'utilisation de la biomasse forestière : implications pour la biodiversité et les ressources naturelles. MEEDDM-Ecofor, Paris
- Lassauce A., Paillet Y., Jactel H. & Bouget C., 2011. Deadwood as a surrogate for forest biodiversity: Meta-analysis of correlations between deadwood volume and species richness of saproxylic organisms. *Ecological Indicators*, 11, 1027-1039
- Lee W., McGlone M. & Wright, E., 2005. A review of national and international systems and a proposed framework for future biodiversity monitoring by the Department of Conservation. *Landcare Research*, Wellington, New Zealand
- Levrel, H., 2007. Quels indicateurs pour la gestion de la biodiversité? Institut Français de la Biodiversité, Paris
- Levrel H., Fontaine B., Henry P.Y., Jiguet F., Julliard R., Kerbiriou C., & Couvet D., 2010. Balancing state and volunteer investment in biodiversity monitoring for the implementation of CBD indicators: A French example. *Ecological Economics*, 69, 1580-1586
- Lier M., Parviainen J., Nivet C., Gosselin M., Gosselin F., & Paillet Y., 2013. The use of European criteria and indicator systems for measuring changes in forest biodiversity. In Integrative approaches as an opportunity for the conservation of forest biodiversity (eds D. Kraus & F. Krumm), pp. 32-42. European Forest Institute, Freiburg, DEU
- Lindenmayer D.B. & Likens G.E., 2010. The science and application of ecological monitoring. *Biological Conservation*, 143, 1317-1328
- Nichols J.D. & Williams B.K., 2006. Monitoring for conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 21, 668-673
- Nivet C., Gosselin M. & Chevalier, H., 2012. Evaluation des indicateurs nationaux de biodiversité forestière. In Les indicateurs de biodiversité forestière. Synthèse des réflexions issues du programme de recherche "biodiversité, gestion forestière et politiques publiques" (eds C. Nivet, I. Bonhême & J.-L. Peyron), pp. 41-55. Gip-Ecofor, MEDDE, Paris, France



- Paillet Y., Parviainen J., Gosselin M., Gosselin F., & Lier M., 2013. Monitoring forest biodiversity in Europe: state of the art, challenges and opportunities. In Integrative approaches as an opportunity for the conservation of forest biodiversity (eds D. Kraus & F. Krumm), pp. 242-252. European Forest Institute, Freiburg, DEU
- Pellissier V., Touroult J., Julliard R., Sibley J.P. & Jiguet F., 2013. Assessing the Natura 2000 network with a common breeding birds survey. *Animal Conservation*, n/a-n/a
- Pereira H.M., Ferrier S., Walters M., Geller G.N., Jongman R.H.G., Scholes R.J. Bruford M.W., Brummitt N., Butchart S.H.M., Cardoso A.C., Coops N.C., Dulloo E., Faith D.P., Freyhof J., Gregory R.D., Heip C., Höft R., Hurtt, G. Jetz W., Karp D.S., McGeoch M.A., Obura D., Onoda Y., Pettorelli N., Reyers B., Sayre R., Scharlemann J.P.W., Stuart S.N., Turak E., Walpole M. & Wegmann M., 2013. Essential biodiversity variables. *Science*, 339, 277-278
- Puumalainen J., Kennedy P., & Folving S., 2003. Monitoring forest biodiversity: a European perspective with reference to temperate and boreal forest zone. *Journal of Environmental Management*, 67, 5-14
- Scholes R.J., Mace G.M., Turner W., Geller G.N., Jürgens N., Larigauderie A., Muchoney D., Walther B.A. & Mooney H.A., 2008. Ecology: Toward a global biodiversity observing system. *Science*, 321, 1044-1045
- Scholes R.J., Walters M. Turak E., Saarenmaa H., Heip C.H.R., Tuama É.Ó., Faith D.P., Mooney H.A. Ferrier, S. Jongman, R.H.G., Harrison I.J., Yahara T., Pereira H.M., Larigauderie A. & Geller, G., 2012. Building a global observing system for biodiversity. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 4, 139-146
- Tittensor D.P., Walpole M., Hill S.L.L., Boyce D.G., Britten G.L., Burgess N.D., Butchart S.H.M., Leadley P.W., Regan E.C., Alkemade R., Baumung R., Bellard C., Bouwman L., Bowles-Newark N.J., Chenery A.M., Cheung W.W.L., Christensen V., Cooper H.D., Crowther A.R., Dixon M.J.R., Galli A., Gaveau V., Gregory R.D., Gutierrez N.L., Hirsch T.L., Höft R., Januchowski-Hartley S.R., Karmann M., Krug C.B., Leverington F.J., Loh J., Lojenga R.K. Malsch, K. Marques A. Morgan D.H.W., Mumby P.J., Newbold T., Noonan-Mooney K., Pagad S.N., Parks B.C., Pereira H.M., Robertson T., Rondinni C., Santini L., Scharlemann J.P.W., Schindler S., Sumaila U.R. Teh L.S.L., Van Kolck J., Visconti P. & Ye Y., 2014. A mid-term analysis of progress toward international biodiversity targets. *Science*, 346, 241-244
- Tomppo E., Gschwantner T., Lawrence M. & Mc Roberts R.E., 2010. National forest inventories. Pathways for common reporting Springer Science, Heidelberg, Allemagne
- Walpole M., Almond R.E.A., Besançon C., Butchart S.H.M., Campbell-Lendrum D., Carr G.M., Collen B., Collette L., Davidson N.C., Dulloo E., Fazel, A.M. Galloway J.N. Gill M., Goverse T., Hockings M., Leaman D.J., Morgan D.H.W., Revenga C., Rickwood C.J., Schutyser F., Simons S., Stattersfield A.J. Tyrrell, T.D. Vié, J.C. & Zimsky, M., 2009. Tracking progress toward the 2010 biodiversity target and beyond. *Science* 325, 1503-1504
- Yoccoz N.G., Nichols J.D., & Boulinier T., 2001. Monitoring of biological diversity in space and time. *Trends in Ecology and Evolution*, 16, 446-453.
- Zellweger F., Braunisch V., Morsdorf F., Baltensweiler A., Abegg M., Roth T., Bugmann H., & Bollmann, K., 2015. Disentangling the effects of climate, topography, soil and vegetation on stand-scale species richness in temperate forests. *Forest Ecology and Management*, 349, 36-44.

## Annexe 1 : Fiche contact adressée aux producteurs de données

**Objet :** Enquête sur les systèmes de suivi de la biodiversité forestière ou des effets du changement climatique en forêt

Madame, Monsieur,

Dans le cadre de deux projets PASSIFOR et SICFOR<sup>8</sup> financés par le ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt, et coordonnés par le GIP ECOFOR et Irstea, nous effectuons un état des lieux des systèmes de suivi français contribuant à la connaissance de la biodiversité forestière ou du changement climatique en forêt. Dans ce but, nous lançons une enquête visant à dresser un panorama des systèmes de suivi existants avec une double focale : (i) la biodiversité forestière (état et dynamiques) d'une part ; (ii) les effets du changement climatique sur les écosystèmes forestiers d'autre part.

L'enjeu de cette enquête est de **dresser un panorama des systèmes de suivis existants et de fournir les éléments à une évaluation de leurs capacités à suivre l'évolution de la biodiversité forestière et les effets du changement climatique sur les écosystèmes forestiers**. Certains champs renseignés dans cette enquête permettront également d'alimenter le catalogue des sources d'informations sur la forêt (Ca-sif).

Vous avez été identifié comme contact référent et, à ce titre, nous vous serions reconnaissants de remplir en ligne le document suivant [[questionnaire](#)] afin de recenser différentes informations sur ces systèmes. Si vous n'êtes pas la personne directement en charge d'un de ces réseaux, merci de nous rediriger vers la personne adéquate. Par ailleurs, si vous avez connaissance de systèmes de suivi qui ne seraient pas mentionnés dans la liste jointe, merci de nous le signaler en retour.

Notez bien qu'un réseau expérimental n'est pas limité à une seule ligne et peut être divisé en plusieurs sous-réseaux si nécessaire (1 ligne par sous-réseau).

Dans nos rendus, nous souhaitons spatialiser le plus possible les informations sur les dispositifs, et sommes donc preneurs d'éventuelles couches SIG du maillage utilisé.

N'hésitez pas à contacter :

Yoan Paillet (IRSTEA) : [yoan.paillet@irstea.fr](mailto:yoan.paillet@irstea.fr), tél : 02.38.95.03.43 : thème biodiversité

Alice Michelot (GIP-Ecofor) : [alice.michelot@gip-ecofor.org](mailto:alice.michelot@gip-ecofor.org), tél : 01.53.70.23.15 : thème changement climatique

En vous remerciant pour votre participation,

Les coordinateurs.

---

<sup>8</sup> Propositions d'Amélioration des Systèmes de Suivis de la biodiversité FORestière (PASSIFOR, 2013-2015) et Suivi et Indicateurs du Changement climatique en FORêt (SICFOR, 2013).

## Annexe 2 : Coordonnées des personnes en charge des réseaux ciblés sur la base du tableau brut (questionnaire PASSIFOR + Sicfor)

Nom du réseau expérimental	Acronyme	Organisme de gestion	Date de création	Site web	Personne(s) contact	Courriel	Téléphone représentant	Adresse professionnelle
Inventaire forestier national	IFN	IGN	1961 (premier inventaire en Gironde) ; 2005 pour dispositif actuel	<a href="http://www.ifn.fr">www.ifn.fr</a>	S. Wurpillot	stephanie.wurpillot@ign.fr	02 38 28 18 00	château des Barres, 45290 Nogent-sur-Vernisson
Réseau systématique de suivi des dommages forestiers	RSSDF	DSF	1989	<a href="http://agriculture.gouv.fr/sante-des-forets">http://agriculture.gouv.fr/sante-des-forets</a>	J-L. Flot, M. Goudet	jean-luc.flot@agriculture.gouv.fr; morgane.goudet@agriculture.gouv.fr	01 49 55 57 89	251 rue de Vaugirard 75732 PARIS CEDEX 15
Réseau National de Suivi des Ecosystèmes Forestiers	RENECOFOR	ONF	1992	<a href="http://www.onf.fr/renecofor">http://www.onf.fr/renecofor</a>	M. Nicolas	manuel.nicolas@onf.fr	01 60 74 92 28	ONF - Département R&D, Bâtiment B, Boulevard de Constance, 77300 Fontainebleau
Suivi Temporel des Oiseaux Communs	STOC	MNHN			F. Jiguet, R. Julliard, D. Couvet	fjiguet@mnhn.fr; julliard@mnhn.fr; couvet@mnhn.fr		
Chauve-Souris		MNHN						
Suivi Temporel des Rhopalocères de France	STERF	MNHN						
Réseau de suivi des insectes saproxyliques		OPIE			S. Jolivet, X. Houard	xavier.houard@insectes.org; samuel.jolivet@insectes.org		
Réseau de suivi des futaies irrégulières		AFI			M. Bruciamacchie, E. Lacombe, R. Susse, J. Tomasini, R. Burrus	max.bruciamacchie@agroparistech.fr; eric.lacombe@agroparistech.fr; roland.susse@free.fr		
Protocole de Suivi des Réserves Forestières	PSDRF	RNF/ONF	2005	<a href="http://www.reserves-naturelles.org/rnf/fonctionnement/protocoles-standardises">http://www.reserves-naturelles.org/rnf/fonctionnement/protocoles-standardises</a>	N. Debaive	nicolas.debaive-rnf@espaces-naturels.fr	03 80 48 94 75	Réserves naturelles de France, 6 bis sur de la Gouge, CS 60100, Quétigny Cedex
Protocole de suivi à long-terme de la dynamique spontanée des forêts alluviales		RNF	1994	<a href="http://www.reserves-naturelles.org/rnf/fonctionnement/protocoles-standardises">http://www.reserves-naturelles.org/rnf/fonctionnement/protocoles-standardises</a>	B. Pont	bernard.pont@espaces-naturels.fr		
Diagnostic écologique des écosystèmes par la méthode Syrph-the-net	Syrph-the-Net	Divers (dont SYRPHYS, RNF, CENS)	1991	<a href="http://diptera.myspecies.info/content/syrph-net">http://diptera.myspecies.info/content/syrph-net</a>	M. Speight, V. et J-P. Sarthou, C. Vanappelghem	speightm@gmail.com ; contact@syrphys.com ; Veronique.Sarthou@orange.fr ; sarthou@ensat.fr ; cedric.vanappelghem@espaces-naturels.fr		
Observatoire Pyrénéen du Changement Climatique	OPCC	CRPF			E. Rouyer, V. Chéret	emmanuel.rouyer@crpf.fr		
Observatoire Régional des Ecosystèmes Forestiers	OREF	CRPF	2005		J. Pargade	julie.pargade@crpf.fr		
Observatoire départemental de l'état sanitaire des forêts des Alpes-Maritimes		Conseil général des Alpes-Maritimes			J. Ladier	jean.ladier@onf.fr		
Observatoire des saisons	ODS		2008	<a href="http://www.obs-saisons.fr">www.obs-saisons.fr</a>	I. Chuine (ou J. Carré)	isabelle.chuine@cefe.cnrs.fr	04 67 61 32 79	CEFE CNRS 1919 route de Mende 34293 Montpellier cedex 05
Système d'Information Phénologique pour l'Etude et la Gestion des Changements Climatiques (SIP-GECC)	GDR 2968	CNRS	2006	<a href="http://www.gdr2968.cnrs.fr">www.gdr2968.cnrs.fr</a>	I. Chuine	isabelle.chuine@cefe.cnrs.fr	04 67 61 32 79	CEFE CNRS 1919 route de Mende 34293 Montpellier cedex 05

Fonctionnement des écosystèmes forestiers soumis à des modifications naturelles ou anthropiques	SOERE F-ORE-T	GIP Ecofor		L. Saint-André	st-andre@nancy.inra.fr
Réseau de plantations forestières génétiques de l'INRA	Plantacomp	INRA		C. Anger	christel.anger@orleans.inra.fr
Global Biodiversity Information Facility		GBIF		A-S. Archambeau	archambeau@gbif.fr
Système d'information Nature et Paysages		SINP / INPN		L. Poncet	poncet@mnhn.fr
ECOSCOPE - Réseau des observatoires de recherche sur la biodiversité		FRB	2011 <a href="http://www.fondationbiodiversite.fr/">http://www.fondationbiodiversite.fr/</a>	A. Delavaud, D. Couvet	aurelie.delavaud@fondationbiodiversite.fr
		Parcs nationaux de France		M. Thomas	marie.thomas@parcnational.fr
		Parcs Régionaux			info@parcs-naturels-regionaux.fr
		Forêt Privée		P. Beaudesson	pierre.beaudesson@cnpf.fr
		ONF		V. Boulanger, T. Bouix, C. Brun	vincent.boulanger@onf.fr; thomas.boulanger@onf.fr; christophe.brun@onf.fr
		FCBA		D. Guinard, F. de Morogues	daniel.guinard@fcba.fr ; Francis.de.morogues@fcba.fr
Galliformes de Montagne		ONCFS / CNERA			
Réseau ongulés sauvages ONCFS-FNC-FDC		ONCFS / CNERA	<a href="http://www.oncfs.gouv.fr/Reseau-Ongules-sauvages-ru104">http://www.oncfs.gouv.fr/Reseau-Ongules-sauvages-ru104</a>	C. Saint-Andrieux, A. Barboiron	rezoos@oncfs.gouv.fr
EcoPlant				J-C. Gégout	jean-claude.gegout@agroparistech.fr
Conservatoires botaniques nationaux		Fédération des CBN		S. Hudin	stephanie.hudin@reseau-cen.org
		WWF		D. Vallauri	dvallauri@wwf.fr
		Euforgen		E. Collin	eric.collin@irstea.fr
Genosol / RMQS		INRA		Pierre Alain Maron, Lionel Ranjard	pierre-alain.maron@dijon.inra.fr; lionel.ranjard@dipt.inra.fr
		FNE		J. Marsaud	foret@fne.asso.fr
		LPO			isabelle.chesnot@lpo.fr
		Noé Conservation			contact@noeconservation.org

**Annexe 3 : Description des réseaux de suivis identifiés sur la base des réponses au questionnaire : Tableau des données brutes remplies**  
 (le tableau ci-dessous a été modifié pour rendre plus lisible le contenu des cellules, ainsi que les lignes non remplies ont été supprimées).

Nom du réseau	Objectifs	Echelle spatiale	Déclinaison d'un réseau plus vaste (européen, mondial) ?	Echelle temporelle d'échantillonnage	Nombre de placettes élémentaires	Stratégie d'échantillonnage (aléatoire, systématique, choisi par observateurs...)	Surface de la placette élémentaire	Groupes taxonomiques échantillonnés	Variables environnementales mesurées	Disponibilité d'une cartographie numérique (couche SIG)
<b>Inventaire forestier et environnemental (IGN)</b>	inventaire ressource forestière	national	programmes IFN en place dans tous les pays d'Europe	Depuis 2005, nouvel échantillon couvrant le territoire chaque année (6000 à 7000 points en forêt par an). Points temporaires pour l'instant, mais géoréférencés ; position confidentielle.	6000 à 7000 points en forêt par an.	aléatoire, selon un plan systématique et à taux d'échantillonnage variable.	dépend des variables : placettes circulaires de rayon 6, 9, ou 15 mètres pour les mesures sur les arbres (selon grosseur) ; variables de description peuplement généralement appréciées sur placette de rayon 25 mètres (= 20 ares environ).	Végétaux uniquement : arbres, arbustes et herbacées (pas briophytes ni lichens)	Sol (description), topographie, géologie ; classement habitat (opération en démarrage).	
<b>Réseau systématique de suivi des dommages forestiers</b>	initialement, suivi de pollutions atmosphériques transfrontalières, puis état de santé de la forêt française	national	européen (ICP Forests level I)	depuis 1989	environ 600	placettes permanentes systématiques	Arbres, flore, champignons supérieurs, macrofaune du sol	- Santé des arbres (mêmes variables que le réseau systématique de suivi des dommages forestiers) - Inventaires dendrométriques en plein sur 0.5 ha : circonférence à 1.30 m, hauteur totale - Dendrochronologie : âge et accroissement radial de 30 arbres dominants - Phénologie : dates de débourrement	implantation des points	

Nom du réseau	Objectifs	Echelle spatiale	Déclinaison d'un réseau plus vaste (européen, mondial) ?	Echelle temporelle d'échantillonnage	Nombre de placettes élémentaires	Stratégie d'échantillonnage (aléatoire, systématique, choisi par observateurs...)	Surface de la placette élémentaire	Groupes taxonomiques échantillonnés	Variables environnementales mesurées	Disponibilité d'une cartographie numérique (couche SIG)
									<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dépôts atmosphériques hors couvert et sous couvert (27 sites) : volumétrie hebdomadaire et analyses chimiques (pH, conductivité, espèces majeures) toutes les 4 semaines</li> <li>- Solutions du sol (17 sites) : volumétrie hebdomadaire et analyses chimiques (pH, conductivité, espèces majeures) toutes les 4 semaines</li> <li>- Ozone (27 sites) : suivi hebdomadaire des concentrations dans l'air d'avril à septembre et observation des symptômes sur la végétation</li> <li>- Flore (en enclos et en exclos) : suivi temporel de la composition spécifique en abondance/dominance et du recouvrement par strate</li> <li>- Champignons supérieurs : inventaire de la composition spécifique suivi sur 3 ans</li> <li>- Macrofaune du sol : inventaire de la composition spécifique sur 17 ordres d'invertébrés en présence/absence</li> </ul>	
Protocole de Suivi des Réserves Forestières	Décrire les peuplements, mieux comprendre les interactions entre la gestion forestière et la biodiversité (avec GNB), approfondir les connaissances sur la dynamique naturelle, orienter la gestion	réseau des réserves forestières (naturelles et biologiques) et quelques sites autres (PNR, PN, forêts gérées, etc.)	Envisagé	tous les 10 ans ; 1er site démarré en 2005 (Fontainebleau)	7000	Placettes permanentes à géométrie variable disposées de manière systématique sur une grille à maille carrée. Leur nombre, ainsi que la taille de la maille, dépend aussi bien de la surface étudiée (minimum 25 ha) que de la diversité des habitats forestiers présents ou encore des divers types de gestion mis en œuvre sur le site	Variable (taille des placettes relascopiques dépendantes du diamètre ; cercles concentriques de 1256 m <sup>2</sup> , 314 m <sup>2</sup> et 7 m <sup>2</sup> ; 3 transects de 20 m)	Essences forestières et via les micro-habitats : champignons saproxyliques, lichens, mousses (mais pas d'identification à l'espèce)	Diamètre, hauteur, essence des arbres, stades de décomposition, surface en écorce, micro-habitats divers	Pour chaque site

Nom du réseau	Objectifs	Echelle spatiale	Déclinaison d'un réseau plus vaste (européen, mondial) ?	Echelle temporelle d'échantillonnage	Nombre de placettes élémentaires	Stratégie d'échantillonnage (aléatoire, systématique, choisi par observateurs...)	Surface de la placette élémentaire	Groupes taxonomiques échantillonnés	Variables environnementales mesurées	Disponibilité d'une cartographie numérique (couche SIG)
	non intervention									
<b>Diagnostic écologique des écosystèmes par la méthode Syrph-the-net</b>	Inventaire et mesure de l'intégrité écologique de milieux	local, régional ou national	Réseau européen avec la communauté syrphidologiques, études StN déjà effectuées en France, Irlande, Italie, Espagne, Grèce...		2 par habitat inventorié	postionnement des pièges par les obseravteurs	3-4 m² d'espace dégagé autour du piège au minimum	Diptères Syrphidés	Description des habitats (base CORINE Biotope) ex Chênaie thermophile, et des habitats supplémentaires ex ruisseau, clairère...	pas forcément
<b>ECOSCOPE - Réseau des observatoires de recherche sur la biodiversité</b>	Coordonner et renforcer les observatoires de recherche sur la biodiversité	National	En partie GEO.BON	NA	NA	NA	NA	Règnes: animalia, plantae, fungi, bacteria	NA	NA
<b>Réseau ongulés sauvages ONCFS-FNC-FDC</b>	suivi patrimonial des ongulés sauvages en rance	communal, départemental, national selon les enquêtes	non	selon les enquêtes, annuelles, triennales, quinquennales		total		cerf/chevreuil/sanglier/chamois/isard/mouflon/bouquetin/daim/cerf sika	tableaux de chasse, aires de répartition, modalités de gestion	oui
<b>Groupe inter-réseaux sur les Syrphes de Réserves naturelles de France</b>	Inventaire des syrphides Intégrité écologique des milieux Evaluation fonctionnalité des habitats	Echantillonnage local Réseau national	Réseau européen avec la communauté syrphidologiques, études StN déjà effectuées en France, Irlande, Italie, Espagne, Grèce...	annuel	2 par habitat inventorié	postionnement des pièges par les obseravteurs	3-4 m² d'espace dégagé autour du piège au minimum	Diptères Syrphidés	Description des habitats (base CORINE Biotope et phyto sigmatiste)	cela dépend de l'information souhaitée

## Annexe 4 : Présentation des Variables Essentielles de Biodiversité (EBV, tiré de [https://www.earthobservations.org/geobon\\_ebv.shtml](https://www.earthobservations.org/geobon_ebv.shtml), version 2015)

EBV Class	EBV	Measurement and scalability	Temporal sensitivity	Feasibility	Relevance and related CBD 2020 targets
Genetic composition	Co-ancestry	Pairwise relatedness among individuals or inbreeding coefficient of selected species, within and among populations of each species.	Generation time	Available for many species but few populations, and little systematic sampling over time.	This variable provides a good measure of the genetic independence of allele frequencies among individuals and their susceptibility to lowered fitness.Targets: 12.
	Allelic diversity	Allelic richness from genotypes of selected species (e.g. endangered species and domesticated species) at multiple locations (statistically representative of the species distribution).	Generation time	Data available for several species and for several locations, but little global systematic sampling.	It is one the most used variables to measure genetic diversity, and can support the estimation of indicators such as "Trends in genetic diversity of selected species" and the "Red List Index".Targets: 12, 13.
	Population genetic differentiation	Gene frequency differentiation (Fst and other measures) among populations or of a subpopulation compared to the metapopulation of selected species.	Generation time	Data available for many species but often for a limited number of populations. Easy to augment datasets.	Beta diversity analogue; this variable captures the variation among populations. This variable can also help to identify local genetically-based adaptation and help provide a 'population adaptive index'.Targets: 12, 13, 15.
	Breed and variety diversity	Number of animals of each livestock breed and proportion of farmed area under each local crop variety, at multiple locations.	5 to 10 years	Large datasets have been compiled by national organizations and FAO for livestock breeds, but there is insufficient systematic sampling for coverage of local crop varieties.	It is an essential variable to estimate the indicator "Trends in genetic diversity of domesticated animals and cultivated plants".Target: 13.
Species populations	Species distribution	Presence surveys for groups of species easy to monitor, over an extensive network of sites with geographic representativeness. Potential role for incidental data from any spatial location.	1 to >10 years	Presence surveys are available for a larger number of species than population counts and can make use of existing distribution atlas. Some efforts for data compilation and integration exist (GBIF, IUCN, Map of Life). There is an increasing trend for data contributed by citizen scientists (Observado, iNaturalist).	Abundance & distribution of populations/taxon per se is an intuitive biodiversity metric with public resonance. Abundance & distribution contributes to extinction risk indicators and indicators of supply of ecosystem services associated with particular species. Range shifts are expected under climate change.Targets: 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15



EBV Class	EBV	Measurement and scalability	Temporal sensitivity	Feasibility	Relevance and related CBD 2020 targets
	Population abundance	Population counts for groups of species easy to monitor and/or important for ecosystem services, over an extensive network of sites with geographic representativeness.	1 year	Population counts underway for a significant number of species in each of the following groups: birds, butterflies, mammals, plankton, important fisheries, coral reef fishes. Most of these extensive networks are geographically restricted. Much of the data are currently being collected by citizen science networks.	
	Population structure by age/size class	Number of individuals or biomass of a given demographic class of a given taxon or functional group at a given location.	1 year	Available for some managed species (hunting and fisheries), usually geographically restricted.	
Species Traits	Phenology	Timing of periodic biological events for selected taxa/phenomena at defined locations. Examples include: timing of breeding, leaf coloration, flowering, migration, oceans flow pattern shifts, intermittent flows in rivers, extant of wetlands.	1 year	Several ongoing initiatives (Phenological Eyes Network, PhenoCam, ClimateWatch, etc.), some making use of citizen science contributions.	Phenology is expected to change with climate change. Targets: 10, 15.
	Body mass	Body mass (mean and variance) of selected species (e.g. under harvest pressure), at selected sites (e.g. exploitation sites).	1-5 year	Data available for many important marine fisheries, but little data available for bushmeat and other exploited species groups.	There is evidence that mean body mass of some species may be changing in response to pressures such as harvesting. Targets: 6, 7.
	Natal dispersal distance	Record median/frequency distribution of dispersal distances of a sample of selected taxa. In marine species larval lifetime it may be a useful surrogate.	>10 years	Banding/marking and observation data available for some birds, mammals, turtles, fish, temperate trees	Required in order to assess the impact of habitat fragmentation on species, project the spread of invasive species, project the impact of climate change on species and to combine with abundance data to assess extinction risk. Targets: 5, 6, 9, 10, 11, 12, 15.
	Migratory behaviour	Presence/ absence/ destinations/ pathways of selected migrant taxa.	1 to >10 years	Banding/ marking/ tagging and observation data available for some birds, mammals, turtles, fish and butterflies.	Migratory behaviour is expected to change under climate change and habitat fragmentation. Riverine migrations are expected to be susceptible to damming etc. Targets: 5, 6, 10, 11, 12.
	Demographic traits	Effective reproductive rate (e.g. by age/size class) and survival rate (e.g. by age/size class) for selected taxa at selected locations.	1 to >10 years	Data available for some fisheries, birds, mammals, reptiles, plants, and other taxa, but little trend data available.	Necessary to combine with other factors for assessing extinction risk and vulnerability to threats. Targets: 4, 6, 8, 9, 12, 15.

EBV Class	EBV	Measurement and scalability	Temporal sensitivity	Feasibility	Relevance and related CBD 2020 targets
	Physiological traits	For instance, measurement of thermal tolerance or metabolic rate. Assess for selected taxa at selected locations expected to be affected by a specific driver.	1 to >10 years	Some data available for corals, lizards, amphibians and insects.	May determine susceptibility to climate change impacts and may change under climate change. Targets: 4, 6, 8, 9, 12, 15.
Community composition	Taxonomic diversity	Multi-taxa surveys (including by morphospecies) and metagenomics at selected <i>in situ</i> locations at consistent sampling scales over time. Hyper-spectral remote sensing over large ecosystems.	5-10 years	Many intensive long-term research sites have excellent but uncoordinated data, and there are abundant baseline data for many locations in the terrestrial, marine and freshwater realms. Metagenomics and the possibilities of remote sensing are emerging fields.	This is a basic measure of interaction of species i.e. which species live together. It is the basis of community classification and ecosystem health assessments. Functional type composition of the ecosystem is often derived from species composition of observed communities. Targets: 8, 10, 14.
	Species interactions	Studies of important interactions or interaction networks in selected communities, such as plant-bird seed dispersal systems.	5-25 years	Some studies have monitored the structure of species interaction networks such as mutualistic networks (pollination and seed dispersal), soil food webs, host-parasite and herbivore-plant interactions. There is a lack of global or regional representativeness of these studies.	Global change is affecting species interactions, which are determinants in ecosystem functioning and services. Targets: 7, 9, 14, 15.
Ecosystem function	Net primary productivity	Global mapping with modelling from remote sensing observations (FAPAR, ocean greenness) and selected <i>in situ</i> locations (eddy covariance).	<=1 year	A network of regional networks of <i>in situ</i> measurements exists (FLUXNET), and some global maps based on models and remote sensing are available. GCOS is also addressing this EBV.	Indicator of the energy flow through ecosystems and a measure of health/degradation; Supports biodiversity at multiple dimensions/trophic levels, regulates climate, impacts on human wellbeing, possible indicator of shifts into alternate ecosystem states; underpins all production-based ecosystem services. Targets: 5, 8, 14.
	Secondary productivity	Measurement of secondary productivity for selected functional groups, combining <i>in situ</i> , remote sensing, and models. Example functional groups include: fisheries, livestock, krill, and herbivorous birds.	1 year	FAO and national statistics on fish and livestock production.	Important for assessing ecosystem functioning and ecosystem services. Targets: 6, 7, 14.
	Nutrient retention	Ratio of nutrient output from the system to nutrient input, measured at selected <i>in situ</i> locations. Can be combined with models and remote sensing to extrapolate regionally.	1 year	Some intensive monitoring sites have nitrogen saturation monitoring in some acid-deposition areas; phosphorus retention monitoring in some impacted rivers and estuaries.	Nutrient loss or accumulation affects biodiversity and ecosystems services. Targets: 5, 8, 14.

EBV Class	EBV	Measurement and scalability	Temporal sensitivity	Feasibility	Relevance and related CBD 2020 targets
	Disturbance regime	Type, seasonal timing, intensity and frequency of event-based external disruptions to ecosystem processes and structure. Examples: sea surface temperature and salinity (RS), scatterometry for winds (RS), trawling pressure ( <i>in situ</i> ), flood regimes ( <i>in situ</i> ), fire frequency ( <i>in situ</i> , RS), cultivation/ harvest (RS), windthrow and pests ( <i>in situ</i> ).	1 year	Abundant data is available for several perturbations, sometimes at the global scale, although harmonization and integration is needed.	Key determinant of ecosystem function, structure and composition; changes in the disturbance regime lead to changes in biodiversity. Targets: 5, 7, 9, 10, 11, 14, 15.
Ecosystem structure	Habitat structure	Remote sensing measurements of cover (or biomass) by height (or depth) classes globally or regionally, to provide a 3-dimensional description of habitats.	<=1 year	Global terrestrial maps available with RS (e.g., LIDAR). Marine and freshwater habitats mapped by combining RS and <i>in situ</i> data.	Proxy for biomass in ecosystems; key determinant of habitat suitability for biodiversity; basis for land cover classification. Relevant for targets: 5, 11, 14, 15.
	Ecosystem extent and fragmentation	Local (aerial photo and <i>in situ</i> monitoring) to global mapping (satellite observations) of natural/semi-natural forests, wetlands, free running rivers, coral reef live cover, benthos cover, etc.	1-5 years	Global maps of forests, assessment of fragmentation for major river basins, and local to regional maps of coral reefs already exist, but comparable observations over time are limited and a distinction between natural and modified ecosystems (e.g. natural forests versus plantations) is often not made.	This is a key measure of human impacts on ecosystems. It can be used to derive indicators such as extent of forests and forest types, mangrove extent, seagrass extent, coral reef condition. Targets: 5, 7, 10, 14, 15.
	Ecosystem composition by functional type	Functional types can be directly inferred from morphology ( <i>in situ</i> ) or from remote sensing.	5 years	Implicitly part of current ecosystem maps. Some models (e.g. DGVMs, marine ecosystem models) are based on functional groups.	This is a basis for ecosystem classification and lends itself to remote sensing. It can be used to predict ecosystem function and ecosystem services. Targets: 5, 14, 15.

Annexe 5 : Classement des réseaux de suivi de biodiversité au travers des variables essentielles de biodiversité. D = possibilité de dériver l'information de manière directe grâce aux données du réseau ; I = possibilité de dériver l'information de manière Indirecte (avec des calculs additionnels) grâce aux données du réseau (Geizendorffer *et al.*, in press).

		Composition génétique				Populations d'espèces			Traits des espèces				Composition des communautés		Fonctions de l'écosystème				Structure de l'écosystème										
		Taxon(s)	Compartiment(s)	Co-Ancestralité	Diversité allélique	Différenciation génétique de la population	Diversité des races et variétés	Distribution des espèces	Abondance des populations	population par classe d'âge / de taille	Phénologie	Masse du corps	dispersion natale	migratoire	Traits démographiques	physiologiques	Diversité taxonomique	Interactions entre espèces	Productivité primaire nette	Productivité secondaire	Rétention de nutriments	Régime de perturbations	Structure d'habitat	L'écystème et fragmentation	L'écystème par type fonctionnel	D	I	Total	
Inventaire Forestier (IGN)	Arbres, plantes vasculaires																												Forêt
Suivi des dégâts forestiers (DSF)	Arbres, certaines espèces de ravageurs	Forêt									D										D						2	0	2
Suivi de la qualité des sols (RMQS)	Micro-organismes du sol	Tous milieux	I?		D											D	I		D	D	I	D	I	D	5	3	8		
Renecofof (ONF)	Arbres, Plantes, Lichens	Forêt								D	I			I		D			D	D	D	D		D		7	2	9	
Suivi des réserves forestières (RNF - ONF)	Arbres (principalement)	Forêts (réserves)					D	D	D	I	I			I		D	I		D	D	D	D		I		8	5	13	
Vigie nature : STOC-EPS (MNH)	Oiseaux communs	Tous milieux					D	D	D				D			D	I									5	1	6	
Réseau AFI	Arbres	Forêt								I	I			I		D	I		D		D	D		I		4	5	9	
PlantaComp (INRA)	Arbres (certaines essences)	Forêt	I?		I?					D	I								D		D					3	1	6	
Conservatoires botaniques (FCBN)	Plantes vasculaires, bryophytes terricoles	Tous milieux					D		I							D	I									2	2	4	
Réseau Obs des Ongulés Sauvages (RESOS - ONCFS)	Ongulés sauvages	Tous milieux (communal)					D	I	I			D	I	D	I	D	I									4	5	9	
				0	1	1	0	5	5	4	6	6	1	3	5	0	8	7	0	6	4	7	5	2	5				



## PASSIFOR

"Proposition d'Amélioration du Système de Suivi de la biodiversité FORestière"

# **Volet 2. Test méthodologique comparant les diversités des coléoptères saproxyliques par identification morphologique et métabarcoding**

Christophe Bouget, coordonateur\*,  
Rodolphe Rougerie\*\* et Carlos Lopez-Vaamonde\*\*\*

\* Irstea- Unité "Ecosystèmes Forestiers" - Domaine des Barres F-45290 Nogent-sur-Vernisson [christophe.bouget@irstea.fr](mailto:christophe.bouget@irstea.fr)

\*\* MNHN - Institut de Systématique, Evolution, Biodiversité (ISYEB) - UMR 7205 – MNHN, CNRS, UPMC, EPHE - Equipe Diversité Périspécifique, Spéciations, Interactions, Invasions - 57 Rue Cuvier, CP50 - 75005 Paris [rodolphe.rougerie@mnhn.fr](mailto:rodolphe.rougerie@mnhn.fr)

\*\*\* INRA Orléans - Unité de Recherche en Zoologie Forestière - 2163 Avenue de la Pomme de Pin, CS 40001 Ardon - 45075 Orléans Cedex 2 [carlos.lopez-vaamonde@orleans.inra.fr](mailto:carlos.lopez-vaamonde@orleans.inra.fr)

## Résumé exécutif

Les Coléoptères sont souvent employés comme indicateurs de réponse en écologie forestière appliquée, mais leur hyperdiversité rend difficile leur identification spécifique qui requiert une expertise taxonomique forte et rare. Leur identification moléculaire peut remédier à ce problème.

La première étape d'une approche visant à identifier des espèces de coléoptères saproxyliques en utilisant des marqueurs génétiques spécifiques consiste à construire une **librairie de référence**. Le marqueur génétique choisi comme code-barres ADN standard pour identifier les animaux est un fragment d'environ 650 paires de bases du gène mitochondrial codant la Cytochrome Oxydase I. En Europe, 2 librairies de codes-barres ADN pour les Coléoptères ont émergé pendant le projet PASSIFOR, en Bavière et en Finlande, pour 4330 espèces. La bibliothèque PASSIFOR comprend les codes-barres ADN de 656 spécimens de coléoptères saproxyliques appartenant à 410 espèces, 251 genres et 40 familles (Rougerie *et al.*, 2015), compilés dans la base de données en ligne BOLD ([www.boldsystems.org](http://www.boldsystems.org) - projet PSFOR). Les tissus de près d'un millier de spécimens de référence avaient été envoyés pour séquençage au Centre Canadien de barcoding ADN (CCDB) à l'Institut de la Biodiversité d'Ontario à Guelph (Canada). Le taux de succès du séquençage est jugé satisfaisant (63%). L'analyse des séquences produites a démontré l'efficacité du marqueur choisi pour la discrimination des espèces, y compris pour des taxons phylogénétiquement proches. Plusieurs questions taxonomiques intéressantes ont été soulevées par nos résultats, et soulignent les perspectives d'intégration des codes-barres ADN dans la pratique taxonomique (taxonomie intégrative). 7 espèces présentant une forte variabilité génétique intraspécifique peuvent être composées de plusieurs espèces (diversité cryptique). Six couples et un triplet d'espèces montrent une très faible distance génétique et partagent le même barcode, ce qui questionne la validité de la ségrégation des espèces impliquées.

La seconde partie du projet a consisté en la mise en œuvre d'un test méthodologique comparant l'identification des espèces par l'approche morphologique traditionnelle **et** par métabarcoding. Le métabarcoding, en plein essor dans l'étude empirique de la biodiversité, consiste non plus à séquencer des individus un par un, mais à prendre des échantillons multi-spécifiques, à en extraire l'ADN global (« soupe d'ADN ») et à séquencer à haut-débit (NGS) le barcode des individus. Les atouts et les contraintes de cette technologie sont discutés. Nous avons appliqué le métabarcoding à l'analyse de relevés de piégeage de coléoptères saproxyliques. 35 échantillons représentant différentes modalités de type de piégeage, de mode de préservation des échantillons, de substrat de séquençage (matériel biologique broyé vs alcool de stockage) ont été recueillis, identifiés par un opérateur classique, reconditionnés puis traités par NGS au Centre Canadien de Barcoding ADN (CCDB) de Guelph au Canada. Actuellement, 13 soupes sur 35 et 35 alcools de stockage ont été séquencés par le CCDB. Les séquences ADN obtenues ont été identifiées par analyse bioinformatique de similarité avec les séquences des librairies de référence. Les deux listes des espèces (moléculaire et morphologique) ont ensuite été comparées.

Le taux de détection des espèces par l'approche NGS est beaucoup plus forte et moins variable avec les soupes (82% +/- SD=12), qu'avec l'alcool de stockage (32% +/- SD=30). L'efficacité de la détection moléculaire varie d'une famille à l'autre, et d'une espèce à l'autre au sein d'une même famille, indépendamment de la biomasse. Une seule des espèces présentes dans plus de 5 échantillons a été détectée dans 100% des cas. Pour l'ensemble des pièges, **près de la moitié des espèces que les taxonomistes ne pouvaient pas identifier morphologiquement ont été identifiées formellement à**

**l'espèce grâce aux séquences produites.** Cette plus-value de l'identification moléculaire, concerne 74% des taxons supra-spécifiques dans les soupes et 30% pour l'alcool de stockage. L'analyse des séquences NGS livre des espèces additionnelles relevant de contaminants opératoires (dont l'ADN provient d'un autre échantillon) ou naturels (contenus digestifs de prédateurs dans le même relevé), ou de taxons omis par l'opérateur de tri.

L'optimisation du protocole d'échantillonnage et de conditionnement pour maximiser le taux d'identification moléculaire est à approfondir. La combinaison [piège à alcool]x[non congélation des échantillons]x[non remplacement de l'alcool de stockage]x[séquençage des soupes] est une des trajectoires les plus efficaces d'après les premiers résultats NGS. Toutefois, le protocole d'identification moléculaire sur les échantillons totaux est destructeur, et rend impossible le retour à l'un des spécimens de la soupe initiale, en cas de besoin d'examen morphologique complémentaire. Dans notre étude, **le métabarcoding de l'alcool de stockage, non destructeur pour les spécimens, présente des résultats trop variables** et requiert de nouvelles investigations.

## **Remerciements**

Nous remercions Benoit Nusillard, Thomas Barnouin, Fabien Soldati, Thierry Noblecourt, Carl Moliard, Julien Delnatte, Nicolas Moulin, Guillem Parmain, Natalia Ivanova, Jayme Sones, Shadi Shokralla, Mehrdad Hajibabaei, Evgeny Zakharov pour leur participation active aux différentes phases du projet.

## 1. Organisation interne au projet

Dans ce volet du projet PASSIFOR, Irstea et INRA se sont associés pour recruter le Dr Rodolphe Rougerie comme chercheur post-doctorant de février 2013 à août 2014. R. Rougerie possède une forte expérience dans l'utilisation des outils génétiques pour l'identification des espèces, dans la coordination de la construction de bibliothèques de référence de codes-barres ADN (pour les Lépidoptères, son groupe d'expertise), et dans le développement d'applications utilisant ces bibliothèques et notamment via le séquençage environnemental. Il a valorisé ses contacts privilégiés avec le laboratoire du Dr. Mehrdad Hajibabaei (<http://ibarcodes.org/hajibabaei/>) à l'université de Guelph (Ontario, Canada) dont l'axe de recherche principal est l'application des nouvelles méthodes de séquençage (Next Generation Sequencing, NGS) au suivi environnemental de la diversité des organismes, et plus particulièrement des invertébrés (<http://biomonitoring2.org/>).

L'organisation du travail et la contribution des partenaires est spécifiée dans le tableau suivant :

	INRA (dont post-doc)	Irstea	ONF	Univ. Guelph	autres
<b>Librairie de référence</b>	Echantillonnage	x	x	x	x
	Séquençage			x	
	BOLD et analyses	x			
<b>Test méthodologique</b>	Plan d'échantillonnage		x	x	
	Dépouillement classique		x	x	
	Séquençage NGS (dont bio-info)			x	
	Analyses	x			
<b>Valorisation</b>	x	x			

NOTA :

En parallèle des investigations sur le méta-barcoding, une étude pilote visait à proposer et évaluer différentes configurations pour l'organisation et le coût d'un réseau de suivi direct simplifié des coléoptères saproxyliques sur un réseau national de placettes en forêt, qui vise une certaine genericité. Pour réaliser ce travail d'ingénierie de projet, reposant sur un travail d'enquête et de synthèse, un sujet de stage d'Ingénieur (6 mois), a été proposé dans les écoles d'agronomie et d'agriculture, sans succès. Ces questionnements orphelins ont donc été basculés dans les objectifs du projet Passifor2 (cf. volet 3 du présent projet Passifor1).



## 2. Construction d'une librairie de référence

Les Coléoptères sont souvent employés comme indicateurs de réponse en écologie forestière appliquée, mais leur hyperdiversité rend difficile leur identification spécifique qui requiert une expertise taxonomique importante et rare. Leur identification moléculaire peut remédier à ce problème.

Les premières études employant les codes-barres ADN pour identifier des insectes ont porté sur des Lépidoptères (Hebert *et al.*, 2003, 2004), et les premières concernant les Coléoptères ont été plus tardives (voir Bergsten *et al.*, 2012 ; Woodcock *et al.*, 2013). La méthode a été employée en biovigilance, pour faciliter la détection des espèces invasives (Gunawardana *et al.*, 2011 ; Jordal *et al.*, 2014). Le marqueur génétique choisi comme code-barres ADN standard chez les animaux est un fragment d'environ 650 paires de bases du gène mitochondrial codant la Cytochrome Oxydase I.

La première étape d'une approche visant à identifier des espèces de coléoptères saproxyliques en utilisant des marqueurs génétiques spécifiques consiste à construire une librairie de référence. Cette librairie associe des images et des métadonnées propres à des spécimens identifiés (données de collecte, classification taxonomique et information sur l'origine de l'identification, lieu de préservation du spécimen) et les données génétiques produites (séquence d'un marqueur spécifique, le code-barres ADN). Ainsi, à partir d'un spécimen inconnu dont on séquence ce même marqueur il devient possible de l'identifier par analyse de la similarité de son code-barres ADN avec ceux présents dans la librairie de référence. En Europe, 2 librairies de codes-barres ADN pour les Coléoptères ont émergé pendant le projet PASSIFOR, en Bavière (Hendrich *et al.*, 2015) et en Finlande (Pentinsaari *et al.*, 2014). La base de données bavaroise, subventionnée par le gouvernement du land de Bavière (Barcoding Fauna Bavarica project <http://www.faanabavarica.de>) et établie en collaboration avec le Biodiversity Institute of Ontario (Guelph, Canada), comprend le code-barre ADN de 3514 espèces, soit 53% de la faune allemande.

### 2.1 Echantillonnage: liste des espèces cibles, recueil des échantillons et conditionnement

Pour construire cette librairie, des spécimens identifiés par des taxonomistes experts de ces insectes ont été échantillonnés. Il s'agit de spécimens de collection dont l'âge (i.e. la date de collecte) peut varier selon les disponibilités des espèces dans des collections. Cet âge, ainsi que la méthode utilisée pour capturer et tuer l'insecte, sont des paramètres importants conditionnant le succès des séquençages de l'ADN, car le temps et les produits chimiques utilisés provoquent une dégradation de l'ADN des spécimens qui peut rendre son séquençage délicat, ou même impossible. Il n'était cependant pas réaliste de chercher à collecter *de novo* des spécimens « frais » dans la nature et de les identifier, tout en visant une diversité satisfaisante pour rendre la librairie utile dans le cadre de ce projet.

A partir du travail de Sebek *et al.* (2012), conduit à Irstea pour simplifier les listes d'espèces destinées au suivi, nous avons défini une première liste prioritaire de 615 taxons cibles, de 45 familles. Plus d'un millier (1075) de spécimens de coléoptères saproxyliques ont pu être échantillonnés, représentant 600 espèces dans 46 familles de coléoptères. Les deux sources principales pour ce matériel sont le Laboratoire d'Entomologie Forestière de l'ONF à Quillan (Aude ; responsable M. Thierry Noblecourt) où R. Rougerie s'est rendu à deux reprises pour réaliser des prélèvements, et la collection d'insectes

saproxyliques de l'IRSTEA à Nogent-sur-Vernisson. Les collections particulières de B. Dodelin, N. Moulin et J. Delnatte ont aussi été ponctuellement sollicitées.

Chaque spécimen de référence sélectionné pour la librairie a été photographié, et soumis à un prélèvement faiblement destructeur. Un échantillon de tissu (une patte ou un fragment de patte pour les insectes longs de plus de 2mm) a été prélevé avec une pince décontaminée à la flamme avant chaque geste, puis déposé dans un puits cupule contenant 50uL d'éthanol à 95% sur une plaque de 96 pour extraction d'ADN. Le spécimen de référence est toujours consultable dans sa collection d'origine (et singularisé par une pastille de couleur sur l'épingle et une étiquette portant le code identifiant unique (SampleID) attribué au moment de l'échantillonnage).

## **2.2 Séquençage des codes-barres ADN**

Une fois remplies, les plaques ont été adressées au Centre Canadien de barcoding ADN (CCDB) à l'Institut de la Biodiversité d'Ontario à Guelph, pour y suivre le protocole standard d'extraction, amplification et séquençage du fragment d'ADN visé (<http://ccdb.ca/resources.php>).

Des amorces universelles pour l'amplification par PCR (cocktail combinant la paire LCO1490/HCO2198 (Folmer *et al.*, 1994) avec la paire LepF1/LepR1 (Hebert *et al.*, 2004)) du fragment de 658bp du gène mitochondrial COI, code-barres ADN standard, ont été employées. Elles avaient déjà été testées avec succès au sein de plusieurs ordres d'insectes, mais une démarche a été entreprise pour optimiser l'amplification de ce marqueur chez les coléoptères. Pour les échantillons non amplifiés avec ces premières amorces, des amorces internes alternatives ont été utilisées (MLepR2 (Hebert *et al.*, 2013) avec LCO1490/LepF1, et MLepF1 (Hajibabaei *et al.*, 2006) avec HCO1498/LepR1), mais chacune de ces paires cible un fragment plus court, mesurant respectivement 307bp et 407bp.

Le taux de succès obtenu est satisfaisant (environ 63%) lorsque l'on prend en considération la qualité du matériel analysé. Nous n'avons pas observé de relation évidente entre le succès du séquençage et l'âge, le taxon, la méthode de collecte des spécimens, ce qui est encourageant pour l'utilisation des collections de référence existantes.

Des méthodes d'amplification alternatives existent, visant des fragments d'ADN plus courts, mais leur coût plus élevé n'a pas permis de les mettre en œuvre dans le cadre du projet ; il faut noter néanmoins que ces méthodes, dans la perspective de la poursuite de la construction d'une librairie avec objectif d'exhaustivité, permettraient de produire des séquences pour la majorité des échantillons infructueux.

La bibliothèque PASSIFOR comprend les codes-barres ADN de 656 spécimens de coléoptères saproxyliques appartenant à 410 espèces, 251 genres et 40 familles (Rougerie *et al.*, 2015). Photos, séquences et métadonnées ont été compilées dans le système de base de données en ligne BOLD ([www.boldsystems.org](http://www.boldsystems.org) - projet PSFOR). Le projet PSFOR est accessible aux lecteurs de ce rapport sur le site de BOLD : cliquer sur 'workbench', puis se connecter avec login 'passifor' et mot de passe 'passifor' ; il est aussi accessible publiquement à tout utilisateur de BOLD dans la section « published projects », de même que via le jeu de données public DS-PSFOR01 accessible par ce lien : [http://www.boldsystems.org/index.php/Public\\_SearchTerms?query=DS-PSFOR01](http://www.boldsystems.org/index.php/Public_SearchTerms?query=DS-PSFOR01)

**BOLD SYSTEMS**

Specimen - Forest Biodiversity - European saproxylic beetles PASSIFOR [PSFOR] Print

**Edit Specimen**


**IDENTIFIERS**

Barcode ID:	BC-PASSIFOR0006
Process ID:	PSFOR006-13
Institution Barcode:	IRATEA, Royent sur Vermezen
Event ID:	BC-PASSIFOR0006
Museum ID:	
Collection Code:	

**TAXONOMY**

Identification:	<i>Rupicola maculata</i>
Rank:	Species
Identifier:	<a href="#">Christophe Rouger</a>
Identification Method:	
Identifier Institution:	
Identifier Email:	Christophe.rouger@iratea.fr
Taxonomic Note:	
Rank:	Current Record [Differential diagnosis]
Phylum:	<a href="#">Arthropoda</a>
Class:	<a href="#">Insecta</a>
Order:	<a href="#">Coleoptera</a>
Family:	<a href="#">Cerambycidae</a>
Subfamily:	
Genus:	<a href="#">Rupicola</a>
Species:	<a href="#">Rupicola maculata</a>

**PHOTOGRAPHS**



License: Copyright (2015)  
License Holder: Rodrigue Rouger, IRATEA, IRZF

[Add Tags & Comments](#) [Comments](#) [Associated Tags: 10 Tags](#)

**REPRODUCTION**

Voucher Status:	
Tissue Descriptor:	
SEX:	
Reproduction:	Sexual
Life Stage:	Adult
Extra Info:	
Note:	Specimen ex ETOM 95% passiflor plant

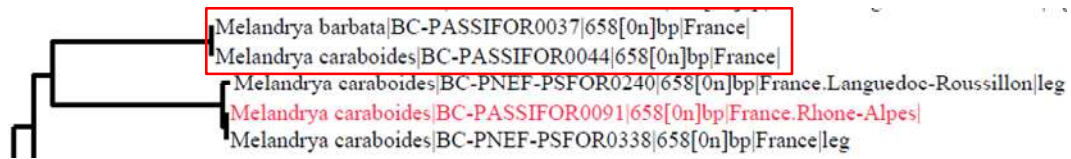
### 2.3 Analyses

L'analyse des séquences produites démontre l'efficacité du marqueur choisi pour la discrimination des espèces, y compris pour des taxons proches phylogénétiquement. Ces résultats sont en accord avec les observations déjà réalisées pour d'autres insectes ou pour d'autres groupes de coléoptères. Par ailleurs, aucun pseudogène n'a été identifié et l'amplification de ces copies nucléaires de portion du génome mitochondrial ne semble pas poser un problème majeur pour le projet.

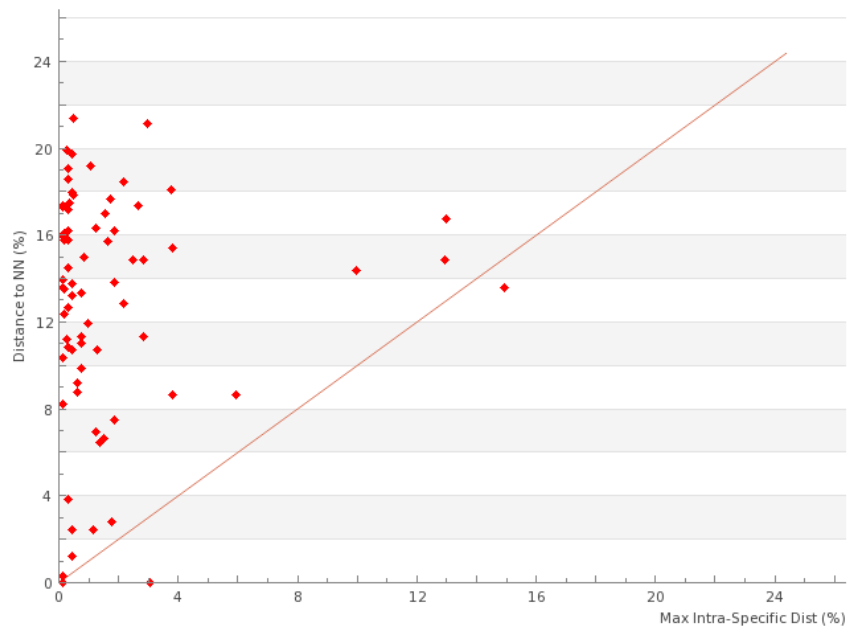
Les divergences génétiques entre barcodes ont été calculées avec la métrique de distance de Kimura (K2P), avec les outils 'Distance Summary' et 'Barcode Gap Analysis' disponibles dans BOLD. Un arbre de distances génétiques de type Neighbor-Joining (NJ) a été construit à partir des séquences alignées sur plus de 400 pb.



Le retour à l'examen morphologique de spécimens mal placés dans l'arbre des distances génétiques a confirmé des erreurs d'identification morphologique. C'est le cas par exemple de *Melandrya caraboides* (en fait *M. barbata*) ci-dessous.



De manière globale, nous observons un patron bimodal de la distance génétique, suggérant un écart important entre les divergences génétiques intra- et inter-spécifiques. Ce résultat suggère que les codes-barres ADN discriminent les espèces choisies sans équivoque, y compris au sein d'un même genre et entre espèces proches. Toutefois, chaque échantillon intra-spécifique était limité à quelques individus tout au plus, et les espèces sœurs n'ont pas été systématiquement incluses dans l'analyse. Pour leurs espèces, Bergsten *et al.* (2012) ont déterminé qu'un effectif minimum de 70 spécimens était requis pour échantillonner 95% de la variation génétique intraspécifique. Notre résultat mérite donc confirmation avec un échantillon plus complet.



**Fig. 1** Distribution des distances intraspécifiques maximales (singletons exclus) par rapport à la distance génétique au plus proche voisin dans la librairie PASSIFOR

Sur la figure 1, nous n'observons que très peu d'outliers avec une forte divergence génétique intra-spécifique qui pourraient suggérer des espèces cryptiques ou des erreurs d'identifications.

Une forte variabilité génétique intraspécifique (>2 %) a été mesurée pour 7 espèces (cf tableau ci-dessous). Ces cas devraient être examinés plus précisément, avec un échantillon plus large, pour identifier s'ils représentent des exemples de diversité cryptique, ou de structure géographique, de polymorphisme ancestral, ou encore de divergences entre lignées mitochondriales trouvant leur origine dans des infections par des souches distinctes de bactéries endosymbiontes (*Wolbachia* ; voir

Smith *et al.*, 2012). A titre d'exemple, la forte distance génétique intraspécifique chez le Tenebrionidae *Nalassus ecoffeti* suggère la validité de l'espèce Pyrénéenne *N. temperei* Ardoin, 1958, considérée comme synonyme.

Family	Species	N	Max.Intrasp.(%)
<b>Cerambycidae</b>	<i>Alosterna tabacicolor</i>	3	11.2
<b>Cerambycidae</b>	<i>Tetrops praeustus</i>	2	11.8
<b>Cleridae</b>	<i>Thanasimus formicarius</i>	2	11.5
<b>Cleridae</b>	<i>Tillus elongatus</i>	4	8.8
<b>Elateridae</b>	<i>Melanotus castanipes</i>	2	5.7
<b>Elateridae</b>	<i>Melanotus villosus</i>	3	4.5
<b>Tenebrionidae</b>	<i>Nalassus ecoffeti</i>	5	13.2

D'autres questions taxonomiques intéressantes ont été soulevées par nos résultats, et soulignent les perspectives d'intégration des codes-barres ADN dans la pratique taxonomique (taxonomie intégrative).

Six couples et un triplet d'espèces montrent ainsi une très faible distance génétique (<2%) (cf tableau ci-dessous). Ces clusters d'espèces, qui partagent le même barcode, questionnent la validité des espèces impliquées.

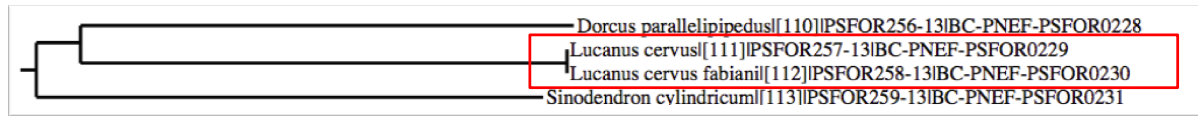
Family	Species pairs & triplet	Min. intersp. (%)
<b>Cerambycidae</b>	<i>Anastrangalia dubia</i> / <i>A. reyi</i>	0.47
<b>Cerambycidae</b>	<i>Chlorophorus ruficornis</i> / <i>C. sartor</i>	1.1
<b>Cerambycidae</b>	<i>Paracorymbia hybrida</i> / <i>P. maculicornis</i>	0.92
<b>Elateridae</b>	<i>Ampedus cardinalis</i> / <i>A. praestus</i> / <i>A. melonii</i>	0
<b>Elateridae</b>	<i>Ampedus pomonae</i> / <i>A. sanguinolentus</i>	1.61
<b>Elateridae</b>	<i>Ampedus pomorum</i> / <i>A. nemoralis</i>	0
<b>Nitidulidae</b>	<i>Pityophagus ferrugineus</i> / <i>P. laevior</i>	1.88

Parmi les couples d'espèces à distance génétique quasi-nulle, se trouvent probablement des espèces en fait non distinctes mais synonymes (*Ampedus pomorum* vs *A. nemoralis*, et *Anastrangalia reyi* vs *A. dubia*). Les échantillons d'Europe centrale (Hendrich *et al.*, 2014) confirment que les 2 espèces d'*Anastrangalia* ne peuvent être distinguées au moyen du code-barre ADN.

Les couples d'espèces à distance génétique faible peuvent être composés de paires d'espèces résultant d'une spéciation récente (*Pityophagus ferrugineus* vs *P. laevior*, *Ampedus pomonae* vs *A. sanguinolentus*).

Il ne faut pas écarter une possible contamination d'échantillons voisins sur la plaque. Le séquençage d'individus supplémentaires est requis pour confirmer ces tendances.

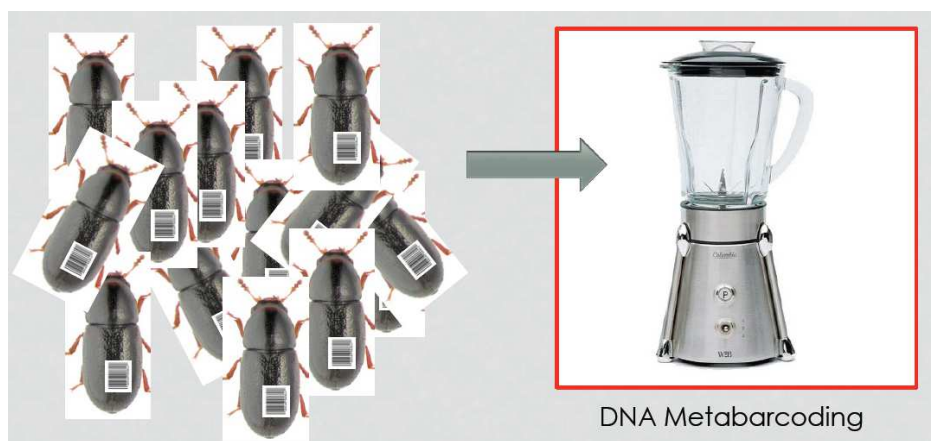
Comme l'indique l'extrait d'arbre ci-dessous, le marqueur génétique du barcode a manqué de résolution pour distinguer des sous-espèces, comme *Lucanus cervus cervus* et *L. c. fabiani* (ce que confirment Cox *et al.*, 2013), ce qui peut traduire leur invalidité ou le recours nécessaire à d'autres segments d'ADN.



## 2.4 Conclusion

Un article a rendu publique et présenté la librairie de référence PASSIFOR (Rougerie *et al.*, 2015), qui représente 16% de la faune nationale des coléoptères saproxyliques. Cette librairie de référence prend un intérêt tout particulier en conjonction avec d'autres efforts européens, notamment sur les faunes des coléoptères de Finlande et d'Allemagne (Pentinsaari *et al.*, 2014 ; Hendrich *et al.*, 2014), dont les librairies cumulant 4330 espèces ont été publiées quelques mois avant. La librairie PASSIFOR contribue à la constitution par assemblage d'une librairie des coléoptères saproxyliques à l'échelle européenne, et à la définition des espèces valides à cette échelle géographique. Un travail conjoint combinant la librairie PASSIFOR et les librairies construites en Finlande, en Allemagne, mais aussi plus récemment au Pays-Bas et en Angleterre, est en cours et devrait mener à la soumission dans le courant de l'année 2016 d'un autre article dans une revue scientifique internationale.

## 3. Test méthodologique comparatif d'identifications moléculaires vs morphologiques



### 3.1 Métabarcoding : atouts et contraintes

La seconde partie de ce volet 2 du projet PASSIFOR a consisté en la mise en œuvre d'un test méthodologique comparant le traitement métagénomique ou morphologique des échantillons. Dans

la partie métagénomique nous avons testé l'application des nouvelles générations de séquenceurs ADN (NGS) pour le séquençage d'échantillons dits totaux ou complexes. C'est une approche qui a été désignée sous le terme de métabarcoding et qui consiste non plus à séquençer des individus un par un, mais à prendre un ensemble d'individus, à en extraire l'ADN global (« soupe d'ADN ») et à séquençer à haut-débit un marqueur choisi, ici celui utilisé pour la librairie de référence et donc associé à des identifications taxonomiques. On cherche ainsi à obtenir des millions de séquences dont la diversité serait représentative de la diversité des espèces contenues dans l'échantillon de départ.

Depuis quelques années, ce métabarcoding est en plein essor, pour l'échantillonnage des Invertébrés d'eau douce (Hajibabaei *et al.*, 2011, Gibson *et al.*, 2015), des plantes (Yoccoz *et al.* 2012), des Arthropodes (Yu *et al.*, 2012), des Diatomées (Kermarrec *et al.*, 2013), des Champignons (Lindahl *et al.*, 2013).

L'identification des échantillons multi-spécifiques («bulk samples», «DNA soups») par métabarcoding suscite des commentaires méthodologiques sur les atouts et les contraintes de cette technologie.

Les premiers atouts sont les suivants :

- Identification haut-débit = affranchissement du verrou taxonomique (tri et identification des spécimens).
- Rapide, peu coûteux, automatisable : traitement en routine de lots d'échantillons complexes peut être réalisé en quelques jours (potentiellement en 24-48h).
- Librairie de référence de DNA barcodes centralisée, en ligne et d'accès public.
- BOLD = base de données et outils basiques d'analyse ; accès facilité à la librairie de référence.
- Aspect communautaire de BOLD : accès aux librairies de référence de projets parallèles (ex. barcoding des faunes nationales en Finlande, Allemagne, Pays-Bas, USA, Canada, etc.) : permet une couverture géographique plus vaste, même globale, de la librairie de référence (détection espèces invasives, cosmopolites, etc.).
- Une fois la base de références établie, utilisable par des non-spécialistes.
- Expertise taxonomique centralisée, dynamique par confrontation des opinions d'experts sur la base de la comparaison objective de séquences ADN (mise en évidence de synonymies, diversité cryptiques, usages et concepts taxonomiques différents, etc.).
- Intégration possibles des groupes non cibles (autres insectes, proies, champignons, microflore, etc.) ; les approches métagénomiques incluent par exemple l'analyse des contenus digestifs et certaines espèces peuvent ainsi être détectées sans être physiquement présentes dans les relevés de terrain. C'est directement lié à la sensibilité de la méthode et peut-être optimisé par un protocole dédié (sans lequel ces éléments demeurent probablement anecdotiques).
- Identification possible avec peu de tissus (fragments d'insectes), et pour tout stade de vie (stades larvaires).
- En l'absence de librairie de références, recensement de la richesse d'unités taxinomiques ; comparabilité des résultats, même si espèces non identifiées (MOTUs (Unités Taxinomiques Opérationnelles Moléculaires), directement comparables).
- Peut faciliter/accélérer/rendre possible les inventaires de biodiversité à large échelle, et libérer les taxinomistes des tâches d'identification simples et répétitives, pour qu'ils se consacrent davantage à délimiter les espèces et en décrire de nouvelles.

En regard, les principales contraintes sont les suivantes :

- Données produites de type présence-absence seulement ; mais comptage possible a posteriori si utilisation de l'alcool uniquement (approche non destructive, cf. plus bas), ou si prélèvement de pattes plutôt que destruction des spécimens entiers (mais approche coûteuse en temps). L'applicabilité d'une utilisation quantitative des résultats de l'approche métabarcoding elle-même (proportionnalité nombre de reads/nombre d'individus) est délicate et complexe. Le peu de publications, toutes très récentes, témoignent d'un champ d'investigation scientifique encore en pleine phase de test et de développement (Elbrecht & Leese, 2015). Un test préliminaire est en cours dans le cadre de l'analyse des résultats de PASSIFOR. La fiabilité d'une approche quantitative est limitée par : les biais PCR, les variations du nombre de copies du gène cible, les différences de stabilité des parois cellulaires. Nécessité d'un calibrage préalable, intégrant ces biais (biomasse, biais PCR). Des approches alternatives visant à s'affranchir du biais PCR en supprimant cette étape d'amplification de l'ADN (ex. Zhou *et al.*, 2013) ont été proposés également, et leur développement (notamment celui des outils bioinformatiques liés) pourrait supplanter l'approche métabarcoding avec la réduction des coûts du séquençage haut-débit.
- Capacité de détection, sensibilité très forte – surtout si séquences visées très courtes (ADN dégradé) : risques de contamination (environnementale, laboratoire), de contamination entre échantillons (nécessité d'inclure systématiquement des témoins négatifs, et de prendre des précautions lors de la manipulation des échantillons), problème de la persistance temporelle de l'ADN.
- Capacité d'identification du marqueur : effet de la longueur du fragment, identifications limitées par le degré de complétion des bibliothèques de référence.
- Gene-tree parfois divergent du species-tree ; besoin de test empirique via les bibliothèques dont l'extension de la couverture taxonomique et géographique affinera la résolution du marqueur utilisé. En pratique, excellente congruence entre espèces définies traditionnellement et variations intra/interspécifiques des barcodes ADN - même si de rares cas d'incongruence ont été mis en évidence (introgression, diversité cryptique, etc.).
- Erreurs inhérentes aux technologies de séquençage (chimères, erreurs de lecture, etc.) ; contrôlables cependant via des outils bioinformatiques faisant partie des chaînes d'analyse standard. Forte efficacité désormais et problème mineur, particulièrement si on travaille avec des bibliothèques de références et pas avec de simples MOTUs. Répétabilité des analyses et stochasticité de la PCR (Pompanon *et al.*, 2012).
- Non détection d'espèces du fait de (1) la qualité de l'ADN, mais c'est justement un des paramètres testés dans le cadre de PASSIFOR pour optimiser l'application de la méthode ; (2) de biais PCR (non amplification de certains taxons, amorces non adaptées), mais également testé ici en employant une approche « multiplex » (3 paires d'amorces combinées pour augmenter l'universalité des amplifications).
- Besoins en ressources bio-informatiques pour l'analyse et le stockage des données.

### **3.2 Objectifs et réflexion sur les facteurs de variation**

Pour l'application de cette approche à l'analyse de relevés de piégeage de coléoptères saproxyliques, nous avons pour objectif de tester l'influence de l'origine de l'échantillon de piégeage sur le succès de la méthode NGS : taux de réussite de l'extraction-amplification d'ADN et taux de reconnaissance



des séquences cibles. L'objectif sous-jacent est évidemment d'optimiser les protocoles qualitatifs de collecte, de conditionnement et de séquençage.

Pour ce 3<sup>e</sup> point, une approche innovante a été développée qui consiste à amplifier et séquencer l'ADN des échantillons à partir de l'alcool dans lequel les échantillons ont été conservés, donc sans destruction des spécimens (Shokralla *et al.*, 2010, Hajibabaei *et al.*, 2012). Cette procédure permet une étude morphologique des spécimens a posteriori si nécessaire. Elle simplifie l'étape d'extraction d'ADN (le broyat d'insectes piégés étant plus difficile à manipuler et source potentielle de contaminations), car l'alcool de stockage extrait l'ADN des spécimens contenus dans le liquide conservateur.

### **3.3 Plan d'échantillonnage : mise en œuvre, conditionnement des échantillons**

35 échantillons représentant différentes modalités ont été recueillis durant le printemps et l'été 2013. Leur contenu a été trié et identifié via une approche morphologique classique pour avoir une connaissance précise de leur contenu et pouvoir apprécier l'efficacité de la méthode par meta-barcoding.

Plusieurs paramètres méthodologiques relatifs à la collecte, au conditionnement et au séquençage ont été testés :

- mode de collecte = type de fluide de piégeage (Monopropylène Glycol 50% vs sec à insecticide Forester vs Ethanol dilué [20% + NaCl + detergent]) [**collecting**]
- mode de préservation et des conditionnements successifs des échantillons :
  - congélation [**freezing**]
  - historique des changements de l'alcool [**status.ethanol**]
- substrat du séquençage :
  - type de soupe variable : effet de la quantité relative d'ADN cible (pattes vs imago entier vs ADN d'insectes non cibles vs ADN de matières végétales/animales autres) [**content**]
    - All organic material vs All insects vs Beetle legs only vs Beetles only
  - ADN extrait du fluide de conservation (alcool de stockage) vs de la soupe d'échantillons solides (*bulk*).

Pour ce dernier point, chaque échantillon a été dédoublé de sorte que l'analyse portait à la fois sur la « soupe d'ADN » résultant du broyat des spécimens, et sur l'ADN présent dans le milieu de préservation, l'alcool, dans lequel étaient conservés les échantillons.

L'historique des changements successifs de l'alcool de stockage en raison de la vidange des tubes et de la manipulation des spécimens à sec pour étude, nous a conduits à définir 3 classes du nombre d'événements de remplacement de l'alcool de stockage : first (aucun remplacement antérieur), second (1 remplacement) ou third (2 remplacements).

Dans le cas des échantillons Irstea Distrator ici traités, chaque échantillon a suivi la procédure suivante en sortie de piège : congélation-prétri1-tri2-dissection-pattes-reconditionnement. Ces étapes ont provoqué le renouvellement au moins partiel de l'alcool de stockage.

Le plan d'échantillonnage suivant a été mis en œuvre :

collecting	content				Total
	All.insects	All.organic.material	Beetle.legs.only	Beetles.only	
Alcohol		7		7	14
Dry.insecticide	4		4		8
MPG	4	5	4		13
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>12</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>35</b>

freezing	status.ethanol			Total
	first	second	third	
freezing		15	7	22
no.freezing	13			13
<b>Total</b>	<b>13</b>	<b>15</b>	<b>7</b>	<b>35</b>

Toutes les combinaisons n'existent pas dans ce plan, si bien que les effets relatifs et intrinsèques de certains facteurs ne peuvent être testés (interaction absente entre certains facteurs, facteurs confondants).

### 3.4 Organisation et coût du séquençage NGS

Ces échantillons ont ensuite été traités par NGS au Centre Canadien de barcoding ADN (CCDB) à l'Institut de la Biodiversité d'Ontario à Guelph au Canada. Les séquences obtenues ont été identifiées par analyse de similarité avec les séquences présentes dans la librairie de référence PSFOR, complétée par les séquences pertinentes des autres projets de barcoding sur ces insectes en Europe et par les données publiquement accessibles sur la base de données génomiques de référence mondiale GenBank.

Deux fragments du gène COI ont été amplifiés avec un lot d'amorces dédiées à chacun dans une PCR en 2 temps (Gibson *et al.*, 2015) : le fragment F230 (230 pb) et le fragment BE (314 pb), non chevauchants. Cibler 2 fragments du barcode, avec des amorces différentes, a pour but de réduire le biais de variabilité de l'amplification PCR.

La procédure suivie pour le séquençage NGS comprend les phases suivantes:

#### 1. Extraction ADN

- a. du broyat total d'échantillons solides après homogénéisation : broyage dans un mixeur (alcool préalablement retiré et potentiellement utilisé pour étape (b)) de l'ensemble des individus du relevé + 20-100mL ETOH ; le broyat est ensuite divisé selon son volume en plusieurs tubes (50mL) ; ces tubes sont centrifugés, l'ETOH est pipeté ; vortex, puis réunion des différents tubes en un seul (50mL) ; centrifugation à nouveau, puis pipetage de l'ETOH ; évaporation du reliquat d'ETOH dans incubateur à 56°C ; puis transfert dans tubes de lyse

(1.5mL) (plusieurs par échantillon si nécessaire) et ajout de protéinase K (100uL) et buffer (kit d'extraction ; 720uL) ; incubation (3h minimum) ; extraction standard sur colonne via kit 'NucleoSpin Tissue' (Macherey-Nagel), produisant 30uL de solution ADN par kit.

b. de l'EtOH de stockage ; la relation entre la durée de stockage dans l'éthanol et l'extraction de l'ADN des échantillons solides n'est pas connue et mériterait une expérimentation dédiée.

Atout = conservation des individus solides pour rétrocontrôle (vérification de contaminants, d'espèces cryptiques, comptage des individus) ; économie importante (temporelle et financière) car pas d'extraction d'ADN nécessaire, on prélève l'éthanol, on le laisse s'évaporer en incubateur (56-70°C - ça peut prendre plusieurs jours si volume important (pas testé si un volume fixe plus réduit donnerait les mêmes résultats) ; ajout d'eau ultra-pure (200uL) puis vortex.

c. qui ? à quel coût ? Technicien ou ingénieur (pipetage, décontamination de matériel, utilisation de kits commerciaux) ; coût du kit d'extraction env. 1.5 à 2€ par kit (1 à 5 par échantillon selon le volume) + consommables (cônes)

## **2. Amplification PCR**

a. Utilisation d'amorces génériques pour invertébrés (pas amplification de l'ADN des Mycètes par ex.). Pour nos échantillons on a utilisé 3 paires de primers (B/R5 ; F/R10 ; FoIF/250R, respectivement 313, 313 et 250 bp) ; pas de coût associé sauf développement futur pour cibler d'autres groupes ou éventuellement des taxons particuliers si on se rend compte que certains ne sont jamais détectés du fait d'un biais PCR.

b. Amplifications PCR plutôt effectuées dans un labo de recherche : approche multiplex (mélange d'amorces ; les 3 paires simultanément) ; 5 réactions par échantillon, coût par échantillon = 5 x 2 à 3 euros par réaction = 10 à 15 euros.

**3. Purification des produits PCR** : produits PCR de l'étape (3) sont combinés et purifiés (kit commercial, 1 à 2 euros par échantillon (selon utilisation de kits ou plaques))

**4. Ajout des adaptateurs** pour NGS et de tags pour tri des séquences par échantillon ; 1 PCR supplémentaire + tags (5 euros (approx.)).

**5. Run NGS** sur Illumina MiSeq (20Mb ou env. 30 000 reads par échantillon (10 000 pour chacun des 3 fragments d'ADN en Paired-End, 2x250bp))

a. prestation à externaliser auprès d'un laboratoire de recherche partenaire (ex. Guelph, ou plateforme universitaire ou INRA), d'un laboratoire public de service (Génoscope ?) ou d'un sous-traitant privé français ou international

b. coût = 2 à 5 euros par échantillon

NGS platforms	Read length (bp)	Data/run (GB)	Reads	Run time	Requirement of library construction
<b>454 platform (GS FLX Titanium XL+)</b>	700-1000	0.7	1.000.000	23 hr.	Yes
<b>Illumina platform (Hi-Seq 2000)</b>	2x100 PE reads	600	6.x10 <sup>9</sup> (PE)	11 d.	Yes
<b>Illumina platform (Mi-Seq)</b>	2x250 PE reads	2.6	35.10 <sup>6</sup> (PE)	27 hr.	Yes
<b>Ion Torrent PI</b>	200bp	~32 (+)	330.10 <sup>6</sup>	2 hr.	No

Le « 454 pyrosequencing » a jusqu'à présent été la méthode la plus utilisée du fait de la longueur des fragments lus, mais les progrès récents d'Illumina permettent de séquençer jusque 500bp (en Paired-End, sur MiSeq), avec un débit considérablement plus important. Le coût diminue aussi, notamment avec HiSeq 2000 (600Gb/run) pour 0.1 USD/1Mbp; 60K\$/run ; par comparaison : MiSeq à 0.3 USD/1Mbp (750 USD per run) ; 454 GS Junior à 31 USD/1Mbp. Mais la longueur des fragments lus est encore trop courte (2x125bp en Paired-End) avec la technique Illumina Hi-Seq 2000 pour permettre l'identification des espèces.

Coût total :

- à partir des soupes d'individus broyés : 19,5 à 37 euros par échantillon (selon volume et donc nombre d'extractions)
- à partir de l'éthanol : 18 à 27 euros par échantillon

### ***3.5 Organisation et coût de l'analyse bioinformatique d'assignation des séquences***

Après le séquençage de l'ADN multi-spécifique, le traitement des données moléculaires implique une succession de tâches bio-informatiques.

#### **1. « Denoising » des séquences et dé-réplication (cf. Yu *et al.*, 2012)**

Des outils (algorithmes) ont été développés dans différents labo pour le nettoyage des séquences (pairing the ends, filtrage qualité, épissage des amorces, détection et élimination des chimères, dé-réplication des séquences 100% identiques) (ex. applis UNIX du LECA par ex. : ObiTools) ; il existe des suites logicielles gratuites également (ex. QIIME, MOTHUR, DADA, AmpliconNoise).

Durée :

- Denoising : potentiellement gourmand en ressources (nombreux processeurs et RAM) et nécessitant de passer par super-computer ; peut prendre plusieurs heures par échantillon - mais nouveaux algorithmes comme DADA (Rosen *et al.*, 2012) proposent des solutions plus rapides (env. 1m30s pour leur échantillon test sur laptop mono-processeur)
- Dé-réplication : 1-2 sec par échantillon (via USEARCH : <http://drive5.com/usearch>)

## 2. Identification des séquences

Nécessité d'utiliser des outils bioinformatiques pour trier/assembler les jeux de données (par relevé, par fragment, etc.) par nom/tag. Filtrage possible d'éventuels contaminations (ADN humain par exemple) ; puis comparaison à librairie de référence locale (préalablement assemblée) ou globale (GenBank par ex.) avec potentiellement plusieurs seuil de similarité (95 ou 98% par ex.) selon les objectifs. Là aussi il existe des suites logicielles gratuites : ObiTools (LECA), ou plus populaire : MEGAN, <http://ab.inf.uni-tuebingen.de/software/megan5/>).

Quelques heures par échantillon sont nécessaires avec un ordinateur de bureau, ou quelques minutes pour un ordinateur multi-processeurs. La durée varie cependant selon la taille de la librairie (si elle est restreinte à un groupe cible, les calculs sont plus rapides). Les logiciels existant ont besoin qu'on leur indique à quelle librairie comparer les séquences et c'est donc soit une librairie locale, que l'on peut construire en téléchargeant les données de BOLD par exemple, soit GenBANK (pas forcément aussi riche pour barcodes, surtout pour nos groupes et le barcode standard - donc pas pertinent ici).

### 3.6 Dépouillement classique : tri morphologique et reconditionnement

Le tri morphologique conventionnel implique un pré-tri (nettoyage des échantillons + extraction des spécimens du groupe cible) par un opérateur technicien, puis l'identification unitaire des individus par un opérateur entomologiste, membre d'un laboratoire ou d'un bureau d'étude spécialisé. La détermination sur des critères morphologiques présente des contraintes : tâche répétitive, longue et coûteuse (1 échantillon multi-spécifique = 3 heures de technicien, incl. pré-tri), identification des stades adultes et des spécimens « complets » uniquement, nombreux groupes orphelins d'outils de détermination (faunes, clés, collections de référence dispersées ...), experts longs à former, rares et peu disponibles, taux d'erreur variable et dépendant des compétences de l'opérateur. L'identification de chaque spécimen permet d'obtenir des données d'abondance.

### 3.7 Etat actuel du jeu de données

Au 25/11/2015, sur les 35 échantillons déjà dépouillés par un opérateur entomologiste (en moyenne 22 espèces par échantillon) et reconditionnés, seules 13 soupes ont été traitées par le CCDB à Guelph alors que les 35 alcools de stockage ont été séquencés.

Le tableau des données partielles actuellement disponibles figure ci-dessous.

		processed.bulk	processed.ethanol
<b>Collecting.fluid</b>	Alcohol	3	14
	Dry.insecticide	6	8
	MPG	4	13
<b>DNAcontent</b>	All.insects	5	8
	All.organic.material	1	12
	Beetle.legs.only	5	8
	Beetles.only	2	7
<b>Alcohol.status</b>	first	6	13
	second	4	15
	third	3	7
	<b>Total</b>	<b>13</b>	<b>35</b>

Ces données ont fait l'objet de graphiques exploratoires ; les données complètes seront soumises à une analyse statistique en règle, préalable à la rédaction d'un article de synthèse : Rougerie *et al.* (in rpep.) « Large-scale monitoring of forest biodiversity : empirical guidelines toward the integration of DNA barcoding and DNA metabarcoding ».

### 3.8 Résultats provisoires

On désignera ci-dessous comme « morphoespèces » les espèces identifiées par l'approche morphologique.

#### 3.8.1 Efficience comparative de l'identification moléculaire

Une métrique estimant l'efficacité de l'identification moléculaire consiste en la proportion de morphoespèces retrouvées par l'approche NGS. Cette proportion de morphoespèces identifiées par l'approche NGS est beaucoup plus forte avec les soupes multispécifiques (n=13, moyenne = 82%, SD=12), qu'avec l'ADN de l'alcool de stockage (n=35, moyenne=32%, SD=30).

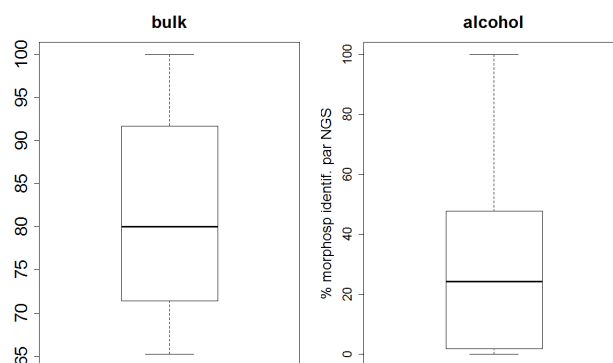


Fig. 2 Proportion de morphoespèces identifiées par l'approche moléculaire NGS sur les soupes multispécifiques (n=13), ou sur l'ADN de l'alcool de stockage (n=35)

En revanche, le taux d'identification NGS des espèces dans l'alcool de stockage est en moyenne faible et très variable (de 0 à 100%).

Avec l'approche NGS sur les soupes,

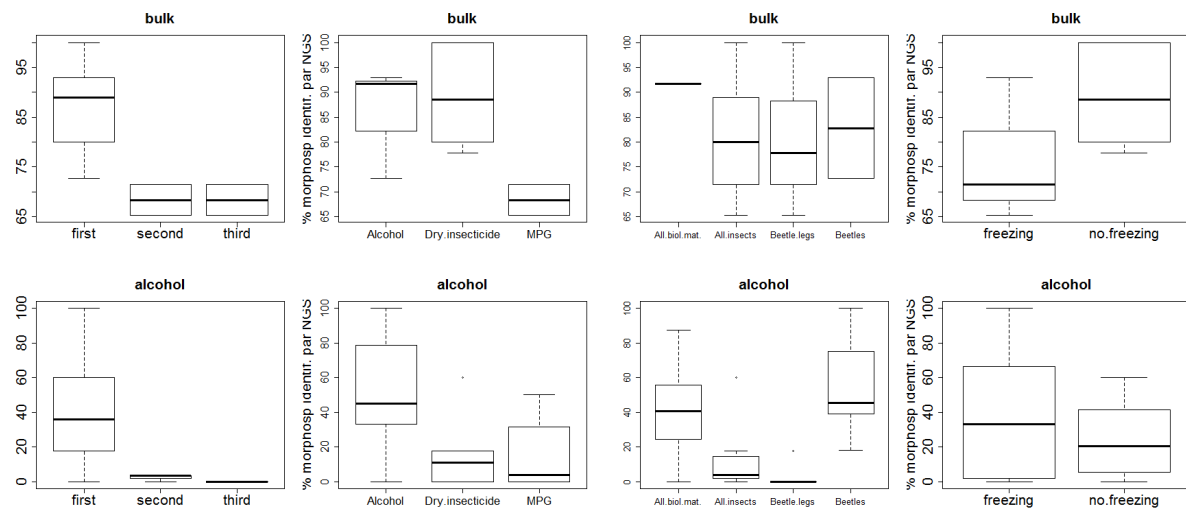
- le taux de détection des espèces est plus fort avec les soupes provenant de pièges secs ou avec l'alcool comme liquide conservateur (environ 90%), qu'avec les soupes provenant de pièges avec glycol conservateur (environ 70%) ;
- le taux de détection est plus fort (environ 85%) quand l'alcool de conservation des échantillons après tri n'a pas été changé ;
- le taux de détection est légèrement plus faible si l'ADN est extrait d'une patte par individu, et plus faible si les échantillons ont été congelés avant le tri.

L'effet des modes de préservation/collecte sur la réussite du NGS des soupes est moindre que sur le NGS de l'alcool de stockage, sans doute compensé par la plus grande quantité d'ADN présente.

Avec l'approche NGS sur l'alcool de stockage,

- le taux de détection est plus fort quand l'alcool de conservation des échantillons après tri n'a pas été changé, et dans des échantillons provenant de pièges à alcool (au-dessus de 50% en moyenne) que de pièges secs ou à glycol ;
- le taux de détection est plus fort si l'échantillon comporte les coléoptères entiers, sans les autres insectes ; l'ensemble de la matière organique ne paraît pas interférer ;
- il y a peu de différences de taux de détection que les échantillons aient été congelés ou non.

Nos résultats sur l'approche NGS avec l'alcool de stockage sont très inégaux. L'historique de l'éthanol de stockage des échantillons (nombre de changements...) est supposé important pour expliquer cette variabilité. Toutefois, même pour la modalité « first » (alcool de conservation non remplacé), la variance du taux de détection est forte (range = 0-100%).



**Fig. 3** Effet de différents paramètres méthodologiques sur la proportion de morphoespèces identifiées par l'approche moléculaire NGS sur les soupes multispécifiques (n=13), ou sur l'ADN de l'alcool de stockage (n=35)

Dans le NGS sur l'alcool de stockage d'échantillons mélangeant coléoptères et autres insectes, voire autre matériel biologique animal et végétal, l'ADN de certains insectes moins sclérifiés (diptères notamment) ou à écailles (papillons) pourrait avoir consommé une grande partie de la profondeur de séquençage en raison de leur caractère majoritaire dans les échantillons. L'ADN des coléoptères pourrait avoir été moins bien amplifié. En fait sur les 20 échantillons concernés, le taux de détection des espèces de coléoptères est très variable (de 0 à 83%).

### 3.8.2 Plus-value de l'identification moléculaire

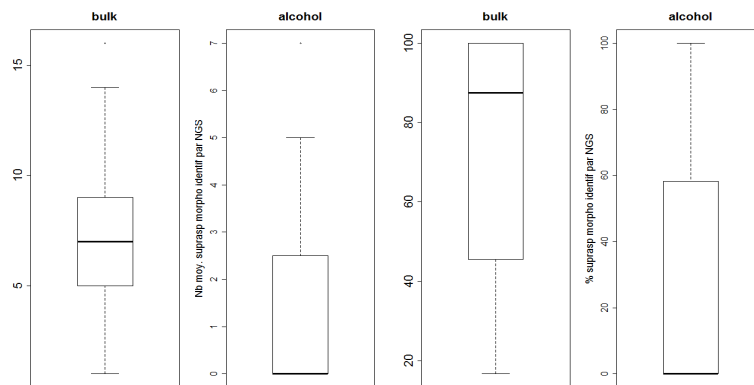
Il apparaît à la vue de nos résultats qu'un nombre significatif d'espèces détectées et identifiées par l'approche métagénomique correspondent à des individus qui avaient été identifiés au niveau supraspécifique (genre, famille) par l'opérateur d'expertise morphologique.

La proportion de ces taxons supraspécifiques identifiés au niveau spécifique par cette approche NGS constitue une métrique simple caractérisant une plus-value de l'identification moléculaire.

Cette part de taxons préalablement identifiés au niveau supraspécifique seulement puis identifiés à l'espèce par metabarcoding est en moyenne de 74% sur les soupes (7.3 taxons en moyenne par échantillon), et de 30% sur l'alcool de stockage (1.3 taxons par échantillon). Le nombre d'espèces ajoutées à la liste grâce à cette identification moléculaire additionnelle représente une augmentation

de +11% et de +55% de la richesse spécifique initiale en NGS de l'alcool de stockage et des soupes respectivement, en moyenne par relevé.

Il est intéressant de noter que pour l'ensemble des pièges, près de la moitié (47% ; 16/34) des espèces que les taxonomistes ne pouvaient pas identifier morphologiquement (absence d'expertise) ont été identifiées formellement à l'espèce grâce aux séquences produites. L'identification de la moitié restante dépendant vraisemblablement majoritairement du niveau de complétion des bibliothèques de référence plutôt que de la capacité de séquençage et donc de détection de notre protocole NGS.



**Fig. 4 Nombre moyen par échantillon et proportion de taxons supraspécifiques identifiés au niveau spécifique par l'approche NGS, sur les soupes multispécifiques (n=13), ou sur l'ADN de l'alcool de stockage (n=35)**

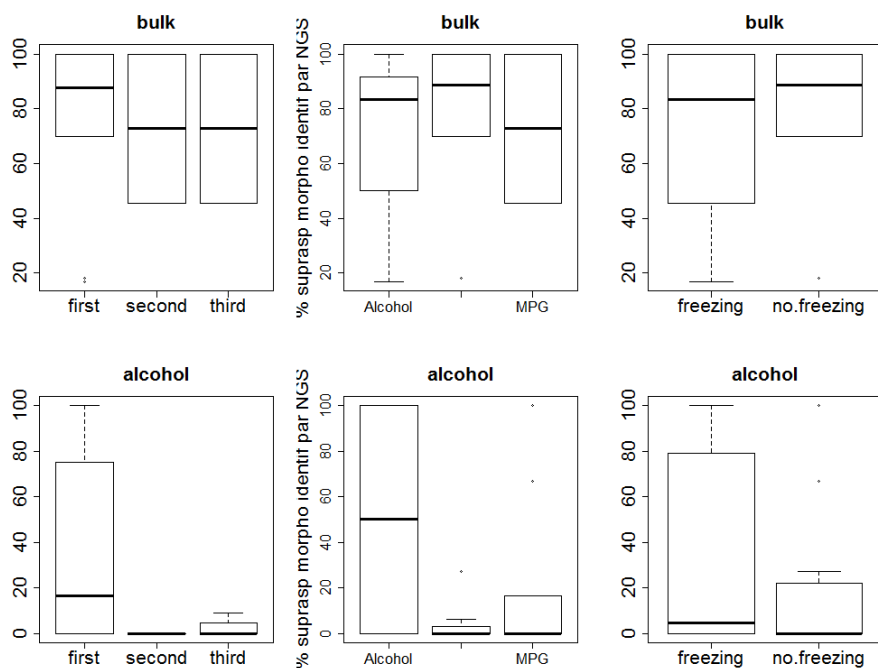
Les facteurs méthodologiques influencent cette métrique de plus-value de l'approche moléculaire.

Avec l'approche NGS sur les soupes et l'alcool de stockage, la valeur de cette plus-value est en effet :

- légèrement plus forte quand l'alcool de conservation des échantillons après tri n'a pas été changé,
- semblable que les échantillons aient été congelés ou non, mais plus variable en cas de congélation.

Par NGS des soupes, cette plus-value est légèrement plus forte avec les échantillons provenant de pièges secs ou avec alcool conservateur qu'avec ceux provenant de pièges à glycol. Par NGS de l'alcool de stockage, la plus value est nettement plus forte avec les échantillons provenant de pièges avec alcool conservateur.





**Fig. 5** Effet de différents paramètres méthodologiques sur la proportion de taxons supraspécifiques identifiés au niveau spécifique par l'approche NGS, sur les soupes multispécifiques (n=13), ou sur l'ADN de l'alcool de stockage (n=35)

Les espèces non identifiées par l'approche morphologique mais déterminées par l'approche moléculaire appartiennent à (cf tableau ci-dessous) :

- des familles non étudiées car non saproxyliques (Scarabaeidae) ou au moins partiellement non saproxyliques (les *Athous* et *Agriotes* parmi les Elateridae, de nombreux Curculionidae phytophages)
- des familles difficiles à étudier, faute d'expertise taxinomique : Latridiidae, Cryptophagidae, Staphylinidae.

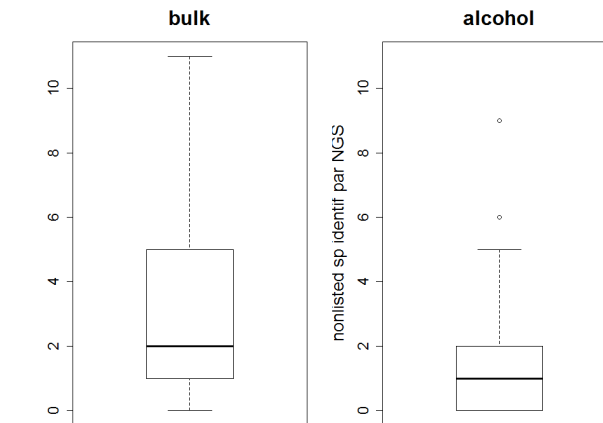
Famille	Nb d'espèces non identifiées par la morphol mais identifiés pas le NGS
Staphylinidae	51
Curculionidae	30
Melyridae	21
Elateridae	20
Scraptiidae	16
Cryptophagidae	14
Latridiidae	13

Leiodidae	9
Scarabaeidae	9
Monotomidae	8
Nitidulidae	7
Ciidae	6
Ptinidae	6
Cantharidae	4
Carabidae	4
Buprestidae	3
Corylophidae	3

### 3.8.3 Détections additionnelles (contaminations...)

La liste des espèces provenant de l'analyse des séquences NGS livre des éléments surnuméraires. Ces espèces additionnelles peuvent relever de contaminants opératoires (dont l'ADN provient d'un autre échantillon) ou naturels (contenus digestifs de prédateurs dans le même relevé), ou de taxons omis par l'opérateur lors du tri ou de la saisie des données.

Ce nombre de taxons additionnels atteint 3.5 espèces par échantillon sur les soupes, et de 1.5 espèces par échantillon sur l'alcool de stockage.



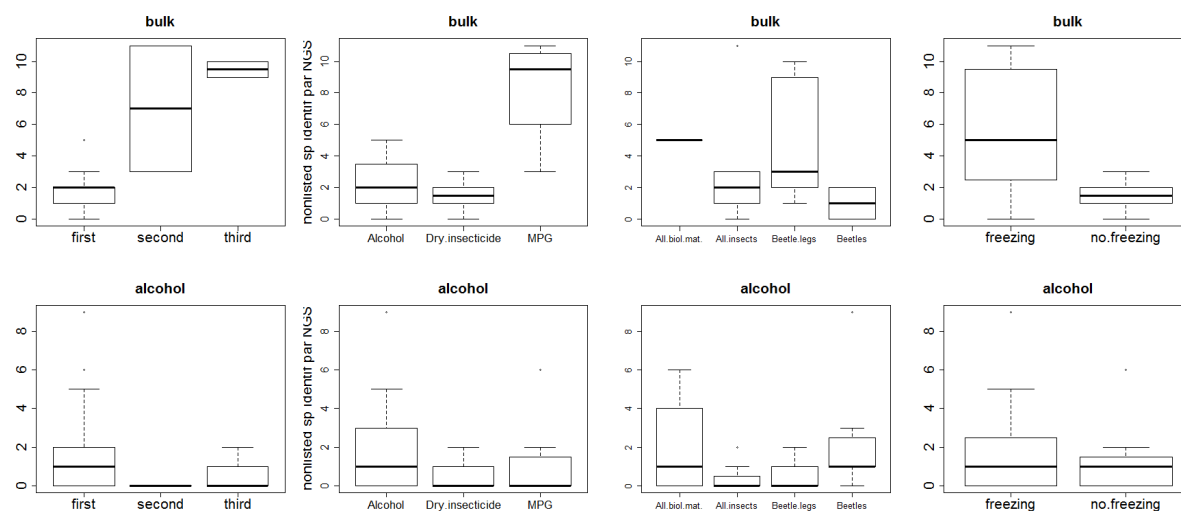
**Fig. 6** Nombre moyen par échantillon de taxons additionnels identifiés au niveau spécifique par l'approche NGS, sur les soupes multispécifiques (n=13), ou sur l'ADN de l'alcool de stockage (n=35)

En interprétant la présence de ces taxons additionnels NGS comme résultant d'une contamination, on peut s'interroger sur l'influence de facteurs méthodologiques de piégeage et de conditionnement des échantillons sur la contamination.

Pour les NGS sur les soupes, le nombre de taxons additionnels NGS est plus fort :

- quand l'alcool de conservation des échantillons a été remplacé 2 fois au laboratoire,
- dans les échantillons provenant de pièges à glycol,
- dans les échantillons de pattes que dans les échantillons d'insectes entiers (le prélèvement des pattes ayant suscité des manipulations supplémentaires des spécimens...),
- dans les échantillons ayant subi une congélation.

Le nombre de taxons additionnels NGS varie peu avec les modalités méthodologiques pour les NGS sur l'alcool de stockage.



**Fig. 7** Effet de différents paramètres méthodologiques sur le nombre de de taxons additionnels NGS, sur les soupes multisécifiques (n=13), ou sur l'ADN de l'alcool de stockage (n=35)

### 3.8.5 Familles, espèces et détectabilité par l'approche NGS

Parmi les espèces présentes dans les échantillons, certaines espèces sont-elles plus systématiquement (donc mieux) détectées par l'approche NGS que d'autres ?

Famille	Moy propNGSbulk	Moy propNGSalc	NB sp
Elateridae	33	48	18
Scolytidae	60	17	13
Cerambycidae	37	65	13
Mycetophagidae	67	34	6
Tenebrionidae	50	54	6
Ptinidae	52	42	5
Nitidulidae	87	0	4
Zopheridae	63	22	4
Cleridae	39	38	4
Carabidae	100	17	3
Scarabaeidae	100	28	3
Melandryidae	33	50	3
Monotomidae	25	44	3
Salpingidae	16	25	3
Anthribidae	42	25	2

Lymexylidae	17	50	2
Staphylinidae	0	100	2
Dermeestidae	100	0	1
Erotylidae	100	0	1
Latridiidae	100	0	1
Lucanidae	100	50	1
Mordellidae	100	0	1
Eucnemidae	75	0	1
Bostrichidae	40	100	1
Histeridae	25	0	1
Leiodidae	0	50	1
Lycidae	0	100	1
Oedemeridae	0	100	1
Tetartomidae	0	100	1
Throscidae	0	50	1
Trogossitidae	0	100	1

L'efficacité de la détection moléculaire varie d'une famille à l'autre. Parmi les familles représentées par plus de 5 espèces dans le jeu de données, les espèces de Scolytidae, de Mycetophagidae, de Tenebrionidae, de Ptinidae sont en moyenne détectées par l'approche NGS sur soupe (bulk) dans plus de 50% des cas, alors que les espèces de Cerambycidae et d'Elateridae sont détectées dans moins de 40% des cas. Par l'approche NGS sur l'éthanol de stockage, les espèces de Tenebrionidae et de Cerambycidae sont en moyenne détectées dans plus de 50% des cas, les Scolytidae dans moins de 20% des cas. Aucune famille présente dans plus de 5 échantillons, n'est jamais détectée (0% des cas).

Cette détection varie d'une espèce à l'autre au sein d'une même famille, comme l'illustre le cas des Scolytidae et des Cerambycidae ci-dessous. L'efficacité de la détection moléculaire semble donc indépendante de la position systématique (dans l'hypothèse d'une amorce d'amplification PCR du COI plus performante pour certaines familles).

Famille	Détection moyenne bulk (%)	Détection moyenne alcool (%)	Occurrence (nb.sample)
<b>Cerambycidae</b>			
<i>Anoplodera.sexguttata</i>	0	100	1
<i>Cerambyx.scopoli</i>	0	100	1
<i>Cortodera.humeralis</i>	67	0	3
<i>Exocentrus.adspersus</i>	0	100	1
<i>Glaphyra.umbellatarum</i>	100	0	1
<i>Grammoptera.ustulata</i>	50	0	4
<i>Mesosa.nebulosa</i>	50	100	2
<i>Pedostrangalia.revestita</i>	0	100	1
<i>Phymatodes.testaceus</i>	100	50	6
<i>Pogonocherus.hispidulus</i>	0	100	1
<i>Rhagium.bifasciatum</i>	50	100	6
<i>Rhagium.mordax</i>	0	100	2
<i>Rhagium.sycophanta</i>	67	0	3
<b>Scolytidae</b>			
<i>Dryocoetes.autographus</i>	33	0	3
<i>Dryocoetes.villosus</i>	25	25	4
<i>Hylastes.attenuatus</i>	100	0	4
<i>Hylurgops.palliatius</i>	100	0	2
<i>Orchestes.quercus</i>	100	0	2
<i>Pityophthorus.pityographus</i>	50	0	2
<i>Trypodendron.domesticum</i>	33	0	3
<i>Trypodendron.signatum</i>	100	0	2
<i>Xyleborinus.saxeseni</i>	41	41	17
<i>Xyleborus.dispar</i>	35	85	20
<i>Xyleborus.dryographus</i>	20	20	5
<i>Xyleborus.germanus</i>	80	0	5
<i>Xyleborus.monographus</i>	56	50	16

Sans considération des biais opérationnels, l'efficacité de la détection semble indépendante de la biomasse, donc de la quantité d'ADN présent (effectif croisé avec la taille d'individuelle). Les petits scolytes très abondants dans les échantillons (comme *Xyleborinus saxeseni* ou *Xyleborus dispar*) ont un taux de détection moyen. En ayant ciblé 2 fragments du barcode, avec des amorces différentes, on réduit sans doute largement le biais PCR.

Parmi les espèces présentes dans plus de 5 échantillons, une seule est détectée dans 100% des cas (*Phymatodes testaceus*, Cerambycidae).

Famille	Moy propNGSbulk (%)	Moy propNGSalc (%)	nb.sample
<b>Anthribidae</b>			
<i>Platystomos.albinus</i>	33	50	6
<b>Bostrichidae</b>			
<i>Scobicia.pustulata</i>	40	100	5
<b>Cleridae</b>			
<i>Clerus.mutillarius</i>	67	33	6
<i>Opilo.mollis</i>	40	60	5
<b>Elateridae</b>			
<i>Ampedus.quercicola</i>	18	9	11
<i>Cardiophorus.rufipes</i>	60	0	5
<i>Hypoganus.inunctus</i>	20	100	5
<i>Melanotus.crassicollis</i>	0	20	5
<i>Melanotus.villosus</i>	45	18	11
<b>Monotomidae</b>			
<i>Rhizophagus.depressus</i>	50	50	6
<b>Mycetophagidae</b>			
<i>Litargus.connexus</i>	50	43	14
<b>Nitidulidae</b>			
<i>Soronina.grisea</i>	80	0	5
<b>Ptinidae</b>			
<i>Hemicoelus.fulvicornis</i>	60	60	5
<b>Salpingidae</b>			
<i>Salpingus.planirostris</i>	27	36	11
<i>Salpingus.ruficollis</i>	20	20	5
<i>Vincenzellus.ruficollis</i>	0	20	5
<b>Tenebrionidae</b>			
<i>Mycetochara.maura</i>	50	25	8
<b>Zopheridae</b>			
<i>Synchita.humeralis</i>	20	20	5

La librairie des codes-barres ADN de référence est encore incomplète (malgré l'assemblage des librairies PASSIFOR, et de Bavière et de Finlande). Parmi les 173 espèces présentes dans les 35 échantillons d'après l'analyse morphologique, 91% figuraient dans la librairie ; certaines, comme *Hylis simonae*, n'ont pu être détectées, car absentes de la librairie.

### 3.9 Conclusion

Les premiers résultats sur l'identification moléculaire par NGS sur les échantillons totaux (soupes= « bulks ») reposent sur un échantillon faible, mais montrent des taux de détection élevés.

L'extraction d'ADN des 22 autres soupes du plan d'échantillonnage vient d'être réalisée par le CCDB, et les résultats du séquençage et de l'analyse bioinformatique seront très bientôt disponibles.

Même si la puissance statistique de 35 échantillons demeurera limitée pour tester l'effet de plusieurs facteurs, avec plusieurs modalités et imparfaitement croisés donc potentiellement confondants, une analyse statistique rigoureuse sera réalisée, avec intégration globale des biais opérationnels.

Dans l'ensemble, le métabarcoding de l'alcool de stockage présente des résultats très variables, en lien probable mais partiel avec les changements de l'alcool durant les reconditionnements successifs des échantillons. Toutefois, le séquençage de l'alcool de stockage a livré de très bons résultats pour plusieurs échantillons (C4, C8, T7, T11), avec un taux de détection supérieur à 75% et l'identification d'une forte proportion des taxons supra-spécifiques non identifiés. Ces échantillons correspondent à des pièges à alcool, avec congélation du sachet de piréageage, sans remplacement ultérieur de l'alcool de stockage des spécimens triés.

L'optimisation du protocole d'échantillonnage et de conditionnement pour maximiser le taux d'identification moléculaire NGS sera un résultat majeur. Le séquençage NGS des échantillons issus des traditionnels pièges à glycol conservateur dans les collecteurs livre des résultats moins bons que les autres types de pièges. La combinaison : [piège à alcool conservateur]x[non congélation des échantillons]x[non remplacement de l'alcool de stockage] est une des trajectoires les plus efficaces à la lueur des premiers résultats NGS des soupes.

Suite à PASSIFOR, il conviendra d'insister sur cette voie pour trouver un protocole d'échantillonnage et de conditionnement qui donnerait de meilleurs résultats NGS.

### ***3.10 Perspectives : les défis de l'application du métabarcoding***

Nos résultats provisoires sur l'identification moléculaire par NGS sur les échantillons totaux (soupes « bulks ») montrent des taux de détection élevés entre 75 et 100%. En revanche, ce protocole est destructeur, et rend impossible le retour à l'un des spécimens de la soupe initiale, en cas de besoin d'examen morphologique complémentaire (ex. description d'une nouvelle espèce par ex.).

Le séquençage de l'ADN de la soupe constituée par une patte de chaque individu piégé garantit un taux de détection assez élevé entre 65 et 100%. Cette procédure permet de conserver les individus quasiment intègres pour éventuelles études ultérieures. Toutefois, ce conditionnement présente de fortes contraintes opératoires : temps de préparation du matériel, augmentation des risques de contamination par manipulation.

Dans notre étude, le métabarcoding de l'alcool de stockage présente des résultats trop variables et requiert de nouvelles investigations pour travailler sur un protocole d'échantillonnage et de conditionnement optimisant le succès opératoire et réduisant les écarts de détection.

Le métabarcoding a été employé ici pour détecter seulement la présence d'espèces dans l'échantillon. Pour l'estimation de l'abondance, plusieurs pistes sont à explorer.

La première vise à quantifier la relation entre le nombre de reads (séquences lues) et la biomasse et/ou le nombre d'individus. A cet égard, il sera intéressant de mesurer si, en prenant des pattes et en réduisant ainsi les déséquilibres de biomasse entre grosses et petites espèces, ou entre espèces populeuses et rares, l'évaluation des abondances ou des abondances relatives par le nombre de reads est plus fidèle. Des tests avec des échantillons de composition artificielle dominés par une espèce abondante, faisant varier la fréquence ou la biomasse relative des espèces présentes, sont encore à mener.

De nouvelles approches sans PCR se développent, comme les procédures mitogénomiques (Tang *et al.*, 2015). Le caractère stochastique et non proportionnel de l'étape d'amplification biaise en effet les évaluations quantitatives dans les approches métagénomiques.

Nos résultats sur l'utilisation du barcode ADN en taxinomie intégrative pour la délimitation des espèces, illustrent les progrès à réaliser. Le dénombrement des MOTUs comme métrique de diversité phylogénétique entre communautés pourra également être approfondi (Faith & Baker, 2006).

Enfin, la détection des barcodes ADN, non pas dans une soupe d'individus piégés, mais parmi les traces ADN laissées par les espèces dans leur environnement (terreau, de bois mort...), et l'analyse des contenus digestifs des prédateurs en ADN des proies sont amenés à se développer.

Après PASSIFOR, de nouvelles applications pour le métabarcoding ou l'optimisation des protocoles d'échantillonnage et de conditionnement devront inspirer de nouveaux projets de recherche afin de promouvoir l'extension de l'outil.

### **3.11 Liste des publications PASSIFOR**

Rougerie R., Lopez-Vaamonde C., Barnouin T., Delnatte J., Moulin N., Noblecourt T., Nusillard B., Parmain G., Soldati F., Bouge C., 2015. PASSIFOR: A reference library of DNA barcodes for French saproxylic beetles (Insecta, Coleoptera). *Biodiversity Data Journal*. 3: e4078. doi: 10.3897/BDJ.3.e4078

Rougerie R., Bouget C., Lopez-Vaamonde C., 2013. Intégration des approches métagénomiques dans l'étude de la diversité des coléoptères saproxyliques : progrès et perspectives. 7e rencontres annuelles du Groupe des Entomologistes Forestiers Francophones (GEFF), Brens (81), 22-24/10/2013

Rougerie R., Hajibabaei M., Bouget C., Lopez-Vaamonde C., 2013. Monitoring forest biodiversity using DNA metabarcoding: high-throughput species identification of saproxylic beetles. Poster, 5<sup>th</sup> International Barcode of Life Conference, Kunming, China, 26-31 October 2013

Rougerie R., Shokralla S., Gibson J.F., Bouget C., Hajibabaei M., Lopez-Vaamonde C. 2015. Streamlining species identification for large-scale forest biomonitoring. 6th International Barcode of Life Conference, August 18-21, 2015, University of Guelph (Canada)

## **Références**

Bergsten J., Bilton D.T., Fujisawa T., Elliott M., Monaghan M.T., *et al.*, 2012. The effect of geographical scale of sampling on DNA barcoding. *Syst Biol* 61, 851-869

Cox K., Thomaes A., Antonini G., Zilioli M., De Gelas K., Harvey D., Solano E., Audisio P., McKeown N., Shaw P., Minetti R., Bartolozzi L., Mergeay J. (2013) Testing the performance of a fragment of the COI gene to identify western Palaearctic stag beetle species (Coleoptera, Lucanidae). *ZooKeys* 365, 105-126

Elbrecht V. and Leese F., 2015. Can DNA-Based Ecosystem Assessments Quantify Species Abundance? Testing Primer Bias and Biomass-Sequence Relationships with an Innovative Metabarcoding Protocol. *PLoS One* 10(7), e0130324

Faith D.P., Baker A.M., 2006. Phylogenetic diversity (PD) and biodiversity conservation: some bioinformatics challenges. *Evol Bioinf* 2,121-128

Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R. & Vrijenhoek R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3, 294-299.

- Gibson J.F., Shokralla S., Curry C., Baird D.J., Monk W.A., King I., *et al.* (2015) Large-Scale Biomonitoring of Remote and Threatened Ecosystems via High-Throughput Sequencing. *PLoS ONE* 10(10), e0138432. doi:10.1371/journal.pone.0138432
- Gunawardana D., Balakrishnan B., Jones D., Kumarasinghe L., 2011. DNA Barcoding: A tool to identify exotic wood-boring beetle larvae of the family Bostrichidae. Fourth International Barcode of Life Conference
- Hajibabaei M., Janzen D.H., Burns J.M., Hallwachs W., Hebert P.D.N., 2006. DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103 (4), 968-971
- Hajibabaei M., Shokralla S., Zhou X., Singer G.A.C., Baird D.J. (2011) Environmental barcoding: a next-generation sequencing approach for biomonitoring applications using river benthos. *PLoS ONE* 6, e17497
- Hajibabaei M., Spall J.L., Shokralla S., van Konynenburg S., 2012. Assessing biodiversity of a freshwater benthic macroinvertebrate community through nondestructive environmental barcoding of DNA from preservative ethanol. *BMC Ecology*, 12, 28
- Hebert P.D, Dewaard J.R., Zakharov E.V., Prosser S.W.J., Sones J.E., McKeown J.T.A., Mantle B., La Salle J. , 2013. A DNA 'barcode blitz': rapid digitization and sequencing of a natural history collection. *PLoS One* 8 (7), e68535
- Hebert P. D. N., Cywinska A., Ball S. L. and deWaard J. R., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270, 313-321.
- Hebert P. D. N., Penton E.H, Burns J.M., Janzen D.H. and Hallwachs W., 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101(41), 14812-14817..
- Hendrich L., Morinière J., Haszprunar G., Hebert P.D.N., Hausmann A, Köhler F, Balke M., 2014. A comprehensive DNA barcode database for Central European beetles with a focus on Germany: adding more than 3500 identified species to BOLD. *Molecular Ecology Resources* n/a: n/a-n/a. DOI: 10.1111/1755-0998.12354
- Jordal B.H., Kambestad M., 2014. DNA barcoding of bark and ambrosia beetles reveals excessive NUMTs and consistent east-west divergence across Palearctic forests. *Mol Ecol Resour* 14(1),7-17
- Kermarrec L., Franc A., Rimet F., Chaumeil P., Humbert J.-F. and Bouchez A., 2013. Next generation sequencing to inventory taxonomic diversity in eukaryotic communities: a test for freshwater diatoms. *Molecular Ecology Resources* 13, 607–619
- Lindahl B.D., Nilsson R.H., Tedersoo L., Abarenkov K., Carlsen T., Kjøller R., Kõljalg U., Pennanen T., Rosendahl S., Stenlid J., Kauterud H., 2013. Fungal community analysis by high-throughput sequencing of amplified markers – a user's guide. *New Phytologist*, 199(1), 288 - 299
- Pentinsaari M., Hebert P.D.N., Mutanen M., 2014. Barcoding Beetles: A Regional Survey of 1872 Species Reveals High Identification Success and Unusually Deep Interspecific Divergences. *PLoS ONE* 9 (9): e108651. DOI: 10.1371/journal.pone.0108651
- Pompanon F., Deagle B.E., Symondson W.O., Brown D.S., Jarman S.N., Taberlet P., 2012. Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. *Mol Ecol*. 2012 Apr;21(8),1931-1950



- Rosen M.J., Callahan B.J., Fisher D.S., Holmes S.P., 2012. Denoising PCR-amplified metagenome data. *BMC Bioinformatics* 13, 283
- Rougerie R., Lopez-Vaamonde C., Barnouin T., Delnatte J., Moulin N., Noblecourt T., Nusillard B., Parmain G. Soldati, F. Bouget C., 2015. PASSIFOR: A reference library of DNA barcodes for French saproxylic beetles (Insecta, Coleoptera). *Biodiversity Data Journal*. 3: e4078. doi: 10.3897/BDJ.3.e4078
- Sebek P., Barnouin T., Brin A., Brustel H., Dufrene M., Gosselin F., Meriguet B., Micas L., Noblecourt T., Rose O., Velle L., Bouget C., 2012. A test for assessment of saproxylic beetle biodiversity using subsets of monitoring species. *Ecological Indicators*, 20, 304-315
- Shokralla S0, Singer G.A., Hajibabaei M., 2010. Direct PCR amplification and sequencing of specimens' DNA from preservative ethanol. *Biotechniques*, Vol. 48, No. 3
- Smith M. A., Bertrand C., Crosby K., Eveleigh E. S., Fernandez-Triana J., Fisher B. L., Gibbs J., Hajibabaei M., Hallwachs W. Hind K. Hrcek J., Huang D.-W., Janda M., Janzen D. H., Li, Y., Miller S.E., Packer L., Quicke D., Ratnasingham S., Rodriguez J., Rougerie R., Shaw M. R., Sheffield C., Stahlhut J. K., Steinke D., Whitfield J., Wood M. and Zhou X., 2012. Wolbachia and DNA Barcoding Insects: Patterns, Potential, and Problems. *PLoS ONE* 7(5), e36514
- Tang M., Hardman C.J., Ji Y.Q., Meng G.L., Liu S.L., Tan M.H., Yang S.Z., Moss E.D., Yang C.X., Bruce C., Nevard T., Potts S.G., Zhou X., Yu D.W., 2015. High-throughput monitoring of wild bee diversity and abundance via mitogenomics. *Methods in Ecology and Evolution*
- Woodcock T.S., Boyle, E.E., Roughley R.E., Kevan P.G., Labbee R.N., Smith A.B.T., Goulet H., Steinke D. & Adamowicz, S.J. 2013. The diversity and biogeography of the Coleoptera of Churchill: insights from DNA barcoding. *BMC Ecology*, 13(40), 1–15
- Yoccoz N.G., Bråthen K.A., Gielly L., Haile J.S., Edwards M.E., Goslar T., Von Stedingk H., Brysting A.K., Coissac E., Pompanon F., Sonstebo J.H. Miquel C., Valentini A., De Bello F., Chave J., Thuiller W., Wincker P., Cruaud C., Gavory F., Rasmussen M., Gilbert M.T.P., Orlando L., Brochmann C., Willerslev E. & Taberlet P., 2012, 'DNA from soil mirrors plant taxonomic and growth form diversity' *Molecular Ecology*, vol 21, no. 15, pp. 3647-3655
- Yu D., Ji Y., Emerson B.C., Wang X., Ye C., Yang C. and Ding Z. (2012) Biodiversity soup: metabarcoding of arthropods for rapid biodiversity assessment and biomonitoring. *Methods in Ecology and Evolution*, 3 (4), 613-623
- Zhou X., Y. Li S. Liu Q. Yang X. Su L., Zhou M., Tang R., Fu R., Li, J. and Huang Q., 2013. Ultra-deep sequencing enables high-fidelity recovery of biodiversity for bulk arthropod samples without PCR amplification. *GigaScience* 2(1): 4.

## Annexe 1 : Jeu de données partiel (30/11/2015)

sample	collector	collecting	content	year	beetle.abund	beetle.richness	freezing	status.ethanol	Processed bulk	Processed ethanol	NIDsp	NnonIDsp	All bulk	Allprop bulk	Nonident bulk	Nonlisted bulk	Nonidprop bulk	All alc	Allprop alc	Nonident alc	Nonlisted alc	Nonidprop alc
BFR1	Irstea	Dry.insecticide	All.insects	2013	347	13	no.freezing	first	0	1	5	7	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0	0	0
BFR1b	Irstea	Dry.insecticide	Beetle.legs	2013	347	13	no.freezing	first	0	1	5	7	NA	NA	NA	NA	NA	Failed	NA	Failed	NA	NA
C01	ONF	Alcohol	Beetles	2012	75	27	freezing	first	1	1	22	5	16	73	5	2	100	4	18	0	0	0
C03	ONF	Alcohol	Beetles	2012	31	15	freezing	first	0	1	9	6	NA	NA	NA	NA	NA	4	44	0	2	0
C04	ONF	Alcohol	Beetles	2012	52	20	freezing	first	1	1	14	6	13	93	1	0	17	11	79	2	1	33
C06	ONF	Alcohol	Beetles	2012	49	15	freezing	first	0	1	9	4	NA	NA	NA	NA	NA	3	33	2	1	50
C08	ONF	Alcohol	Beetles	2012	36	18	freezing	first	0	1	13	4	NA	NA	NA	NA	NA	13	100	3	9	75
C09	ONF	Alcohol	Beetles	2012	15	12	freezing	first	0	1	11	1	NA	NA	NA	NA	NA	5	45	1	1	100
C12	ONF	Alcohol	Beetles	2012	14	9	freezing	first	0	1	7	1	NA	NA	NA	NA	NA	5	71	2	3	100
Dtf1236.2	Irstea	MPG	All.insects	2012	336	34	freezing	second	1	1	23	11	15	65	5	3	45	Failed	NA	Failed	NA	NA
Dtf1236.2b	Irstea	MPG	Beetle.legs	2012	336	34	freezing	third	1	1	23	11	15	65	5	10	45	0	0	1	0	9
Dtf231.3	Irstea	MPG	All.insects	2012	85	20	freezing	second	0	1	13	7	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0	0	0
Dtf231.3b	Irstea	MPG	Beetle.legs	2012	85	20	freezing	third	0	1	13	7	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0	2	0
Dtf242.2	Irstea	MPG	All.insects	2012	300	39	freezing	second	0	1	27	11	NA	NA	NA	NA	NA	1	4	0	0	0
Dtf242.2b	Irstea	MPG	Beetle.legs	2012	300	39	freezing	third	0	1	27	11	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0	0	0
Dtf790.3B	Irstea	MPG	All.insects	2012	196	36	freezing	second	1	1	28	8	20	71	8	11	100	1	4	0	0	0
Dtf790.3Bb	Irstea	MPG	Beetle.legs	2012	196	36	freezing	third	1	1	28	8	20	71	8	9	100	Failed	NA	Failed	NA	NA
IZ17	ONF	MPG	All.biol.mat.	2013	27	13	no.freezing	first	0	1	10	6	NA	NA	NA	NA	NA	5	50	1	2	17
IZ18	ONF	MPG	All.biol.mat.	2013	77	27	no.freezing	first	0	1	20	6	NA	NA	NA	NA	NA	5	25	4	1	67
IZ19	ONF	MPG	All.biol.mat.	2013	28	22	no.freezing	first	0	1	17	3	NA	NA	NA	NA	NA	4	24	0	6	0
IZ20	ONF	MPG	All.biol.mat.	2013	58	17	no.freezing	first	0	1	13	1	NA	NA	NA	NA	NA	5	38	4	1	100
IZ21	ONF	MPG	All.biol.mat.	2013	27	9	no.freezing	first	0	1	9	0	NA	NA	NA	NA	NA	4	44	0	0	NA
Q2013-01	ONF	Dry.insecticide	All.insects	2013	53	22	no.freezing	first	1	1	10	11	8	80	2	0	18	6	60	3	0	27
Q2013-01b	ONF	Dry.insecticide	Beetle.legs	2013	53	22	no.freezing	first	1	1	10	11	10	100	11	1	100	0	0	0	0	0
Q2013-02	ONF	Dry.insecticide	All.insects	2013	53	27	no.freezing	first	1	1	17	10	17	100	7	1	70	3	18	0	2	0
Q2013-02b	ONF	Dry.insecticide	Beetle.legs	2013	53	27	no.freezing	first	1	1	17	10	15	88	9	3	90	3	18	0	1	0
Q2013-03	ONF	Dry.insecticide	All.insects	2013	72	26	no.freezing	first	1	1	9	16	8	89	14	2	88	1	11	1	1	6

Q2013-03b	ONF	Dry.insecticide	Beetle.legs	2013	72	26	no.freezing	first	1	1	9	16	7	78	16	2	100	0	0	0	0	0
T02	ONF	Alcohol	All.biol.mat.	2012	162	34	freezing	first	0	1	29	4	NA	NA	NA	NA	NA	6	21	0	0	0
T05	ONF	Alcohol	All.biol.mat.	2012	66	31	freezing	first	1	1	24	6	22	92	5	5	83	8	33	3	3	50
T07	ONF	Alcohol	All.biol.mat.	2012	61	22	freezing	first	0	1	16	5	NA	NA	NA	NA	NA	14	88	7	5	100
T10	ONF	Alcohol	All.biol.mat.	2012	59	23	freezing	first	0	1	18	4	NA	NA	NA	NA	NA	11	61	0	0	0
T11	ONF	Alcohol	All.biol.mat.	2012	47	20	freezing	first	0	1	12	6	NA	NA	NA	NA	NA	10	83	5	5	83
T13	ONF	Alcohol	All.biol.mat.	2012	17	11	freezing	first	0	1	8	2	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0	0	0
T14	ONF	Alcohol	All.biol.mat.	2012	20	11	freezing	first	0	1	7	4	NA	NA	NA	NA	NA	3	43	4	1	100





## PASSIFOR

"Proposition d'Amélioration du Système de Suivi de la biodiversité FORestière"

### **Volet 3. Elaboration d'un projet de recherche appliquée et d'expertise sur des maquettes de suivi de la biodiversité forestière : PASSIFOR-2**

**Responsables/Coordinateurs de la tâche : Frédéric Gosselin\* et Guy Landmann\*\***

\*Irstea, Domaine des Barres, 45 290 Nogent-sur-Vernisson  
[frederic.gosselin@irstea.fr](mailto:frederic.gosselin@irstea.fr)

\*\* GIP Ecofor, 42, rue Scheffer, 75116 Paris, [guy.landmann@gip-ecofor.org](mailto:guy.landmann@gip-ecofor.org)

# 1. Introduction au projet PASSFOR-2

## Responsables/Coordinateurs de la tâche

- Frédéric Gosselin, ICPEF, Chercheur en écologie forestière et biométrie, Irstea, Domaine des Barres, 45 290 Nogent-sur-Vernisson, 02 38 95 03 58, [frederic.gosselin@irstea.fr](mailto:frederic.gosselin@irstea.fr)
- Guy Landmann, IGPEF,- directeur-adjoint du GIP Ecofor, 42, rue Scheffer, 75116 Paris, 01 53 21 41, [guy.landmann@gip-ecofor.org](mailto:guy.landmann@gip-ecofor.org)

## 1.1 Synopsis

1. L'objet de ce projet est d'élaborer différentes « maquettes » (assemblages d'éléments existants et à créer) de suivi de la biodiversité en forêt. Il vise une aide aux politiques publiques dans le domaine du suivi continu de la biodiversité, centré sur la forêt en lien avec les autres milieux
2. En dépit des acquis importants dans le domaine, les indicateurs de biodiversité forestière mobilisent surtout des données dendrométriques, de sorte qu'il manque des informations pour (i) mieux cerner l'état et la dynamique de la biodiversité forestière et (ii) mieux évaluer le lien entre mesures de gestion ou politiques publiques en forêt et biodiversité.
3. Les processus d'indicateurs forestiers passés ont souvent manqué d'une concertation et d'une explicitation de ses objectifs ou des questions auxquelles il souhaite répondre. Un accent est donc mis dans PASSIFOR sur ces aspects.
4. Un des choix importants concerne donc les données mobilisées – existantes ou à venir : il s'agit de proposer une procédure d'adjonction de données de biodiversité hétérogènes (typiquement des données de sciences participatives) autour d'un réseau de données de biodiversité planifié et recueilli par des professionnels.

Un soutien financier est recherché sur la base du projet formulé ci-après.

Le détail du projet est présenté en 5 volets distincts mais étroitement reliés.

## 1.2 Le pourquoi du Projet PASSIFOR

La Conférence des Nations Unies sur l'environnement et le développement de Rio en 1992 a défini les grands principes du développement durable. L'application de ces principes à la forêt européenne a conduit au lancement du processus paneuropéen de gestion forestière durable dit d'Helsinki. Les indicateurs de gestion forestière durable ont depuis la Conférence ministérielle d'Helsinki (1993) laissé une place importante à la biodiversité, puisque non seulement la biodiversité constitue un des six critères de gestion durable mais elle participe également à différents autres aspects de la gestion durable.

L'acquis dans le domaine est important :

- une forte coordination intergouvernementale européenne (Forest Europe) est à l'œuvre, favorisant des exercices nationaux, européens et mondiaux (FAO) de rapportage sur la gestion forestière durable. (Levrel *et al.*, 2007) ;

- des recherches ont été menées sur le lien entre gestion forestière et biodiversité depuis une quinzaine d'années dans le cadre du programme BGF – Gestion forestière et Biodiversité<sup>9</sup> – soutenu par les ministères de l'écologie et de l'agriculture, un important travail de réflexion a été mené au sein du GIP Ecofor et fait l'objet d'une publication récente sur les indicateurs de biodiversité (Nivet *et al.*, 2012). Aussi, le colloque de Montargis (décembre 2011) sur les indicateurs forestiers a comporté une partie importante consacrée à la biodiversité (cf. n° thématique 5-2012 de la *Revue forestière française*<sup>10</sup>) ;
- par ailleurs, l'inventaire forestier (IGN) comporte divers éléments sur la composition spécifique et la structure des peuplements qui peuvent être traduits en termes de biodiversité et des données de suivi sur la biodiversité floristique (IGN) et avifaunistique (MHNN) sont disponibles et peuvent être intégrées, dans des conditions à préciser, dans le suivi de la biodiversité forestière.
- enfin, plusieurs processus mobilisent ces indicateurs : le rapportage sur la gestion forestière durable, le volet forestier de l'observatoire national de la biodiversité (ONB, MEDDE), le bilan patrimonial de l'ONF et les processus d'écocertification du bois.

Depuis le début néanmoins, **le critère biodiversité a été renseigné essentiellement avec des indicateurs mobilisant des données dendrométriques** (e.g. Levrel *et al.*, 2007, Gosselin et Gosselin, 2008, Gosselin *et al.*, 2012a,b), de sorte qu'**il nous manque des informations pour (i) mieux cerner l'état et la dynamique de la biodiversité et (ii) mieux évaluer le lien entre mesures de gestion ou politiques publiques et biodiversité**. Or ces indicateurs de « lien » ou indicateurs « prédictifs » sont probablement un des axes importants d'amélioration des indicateurs de biodiversité existants (Gosselin *et al.*, 2012a, Pellissier *et al.*, 2013, Bockstaller *et al.*, 2013).

De plus, **le processus des indicateurs de gestion forestière durable manque d'une concertation et d'une explicitation sur ses objectifs** ou sur les questions auxquelles il souhaite répondre (Levrel *et al.*, 2007, Brédif, 2008), comme sur une meilleure prise en compte des grands enjeux (Peyron et Bonhême, 2013).

En cohérence avec ces constats, la demande du Ministère de l'agriculture à la base de ce projet provient d'une part des suites des débats au colloque de Montargis<sup>11</sup> et d'autre part d'une réflexion au Ministère de l'agriculture en lien avec la « plateforme biodiversité pour la forêt »<sup>12</sup> mise en place dans le cadre de la Stratégie Nationale de la Biodiversité. Le projet PASSIFOR – pour « Propositions d'Amélioration de système de suivi de la biodiversité forestière – est un projet en trois étapes (cf. infra) dont **l'objectif est de fournir les éléments de méthode et de réflexion indispensables à la mise en place d'un suivi de la biodiversité forestière intégrant différentes sources de données** et visant à **mettre en relation biodiversité forestière et gestion ou politiques forestières** dans le cadre d'une gouvernance ouverte centrée sur les questions. Il constituerait à ce titre une contribution forestière importante au dispositif de surveillance de la biodiversité continentale tel que proposé par le MNHN (Touroult *et al.*, 2015).

---

<sup>9</sup> Récemment renommé « Biodiversité, Gestion forestière et politiques publiques : voir le site [bgf.gip-ecofor.org/](http://bgf.gip-ecofor.org/)

<sup>10</sup> <http://documents.irevues.inist.fr/handle/2042/50642>

<sup>11</sup> <http://documents.irevues.inist.fr/handle/2042/50642>

<sup>12</sup> <http://agriculture.gouv.fr/Strategie-nationale-et-foret>

Un des choix importants de PASSIFOR concerne les données mobilisées – existantes ou à venir : il s'agit de proposer une procédure d'adjonction de données de biodiversité hétérogènes (typiquement des données de sciences participatives, des données d'observatoires scientifiques comme ceux d'Ecoscope ou d'autres données disponibles sur le GBIF) autour d'un réseau de données de biodiversité planifié et recueilli par des professionnels. Cette procédure devra inclure une phase de vérification de cohérence entre ces données, débouchant sur des estimateurs mêlant les deux types de données si la vérification est positive, et sur un estimateur basé uniquement sur les données planifiées dans le cas contraire.

### 1.3 Les phases du Projet PASSIFOR

L'objet du projet PASSIFOR est d'élaborer différentes « maquettes » (assemblages d'éléments existants et à créer de suivi) de suivi de la biodiversité en forêt. Il vise une aide aux politiques publiques dans le domaine du suivi continu de la biodiversité, centré sur la forêt en lien avec les autres milieux.

#### Un projet en trois étapes

1. **PASSIFOR** est le projet qui se termine fin 2015 ; il comporte (volet 3) la rédaction du projet présenté ci-après, organisé en 5 tâches (A à E) ;
2. **PASSIFOR-2**, d'une durée devrait être de 2 à 3 ans, devrait consister à mettre en œuvre le projet formulé ci-après. Il s'agit d'un projet d'expertise et de synthèse, plus que de recherche à proprement parler.
3. **PASSIFOR-3** correspondra, le cas échéant, à la mise en œuvre proprement dite de l'observatoire à l'issue de PASSIFOR 2. Sa réalisation supposera d'arriver non seulement à une vision commune des acteurs, en lien avec l'Agence française pour la biodiversité. Elle nécessitera probablement des études pilotes conduites par les organismes collecteurs de données.

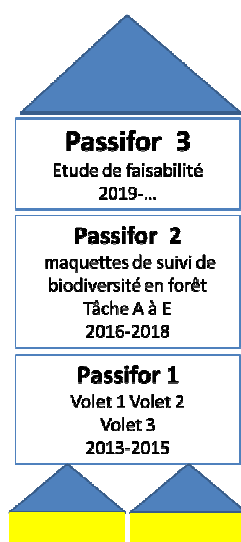


Figure 1. Vision schématique des trois étages temporels du projet PASSIFOR



## 1.4 L'objectif et les composantes de PASSIFOR-2

L'objectif de PASSIFOR 2 est de **proposer des maquettes de suivi de la biodiversité** en forêt, préalables aux décisions de mise en place ce type de suivi et à des études de faisabilité (PASSIFOR-3). Le projet est décomposé en cinq tâches :

- la **tâche A**, ensemble du projet, sera chargée de l'intégration des différents résultats pour évaluer différentes maquettes de suivi et identifier différents besoins de recherche ;
- la **tâche B** a pour objectif de réfléchir à la gouvernance des observatoires existants et des maquettes élaborées dans le cadre du projet ;
- les **tâches C, D et E** sont plus techniques ; elles sont relatives respectivement aux groupes taxonomiques suivis (C), aux variables écologiques (D) et à la mesure et à l'analyse (E). Elles sont toutes en interaction forte avec la tâche A et en interaction entre elles sur certains points (cf. Figure 2).

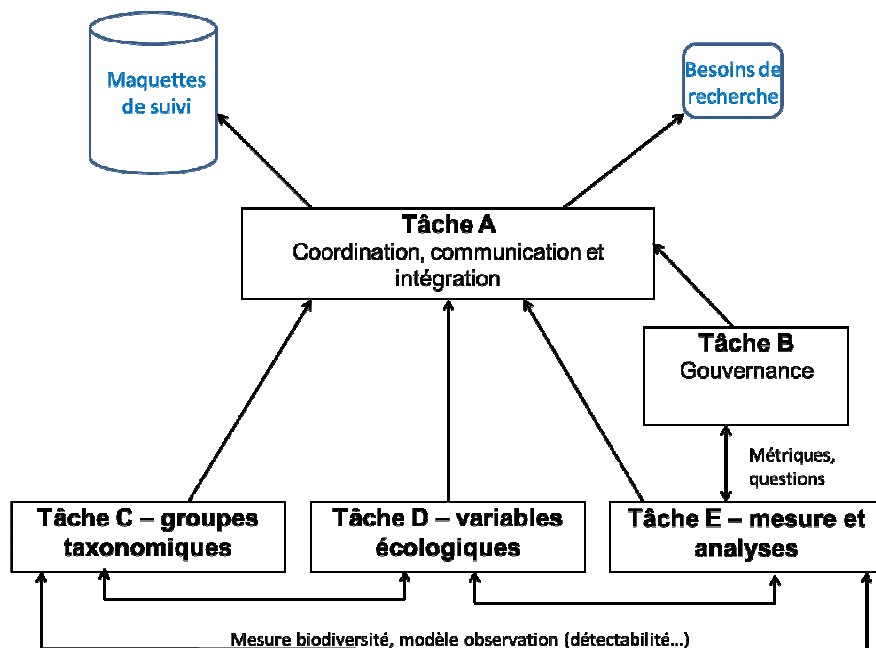


Figure 2. Schéma de la structure du projet PASSIFOR.

Au départ de ce projet et pour lancer la réflexion, nous proposons qu'une maquette de suivi de la biodiversité intègre les 7 composantes identifiées<sup>13</sup> par Vos *et al.* (2000) :

1. Objectifs de suivi
2. Objets et variables
3. Stratégie d'échantillonnage
4. Collecte des données

<sup>13</sup> reprises et développées dans une présentation de F. Gosselin faite au Forum des Gestionnaires, Paris, le 28 mars 2013

5. Gestion des données
6. Maintenance
7. Organisation

Ce projet met en œuvre une **recherche finalisée et de la R&D** qui peut :

- suggérer (et pour partie entreprendre) des **recherches à caractère méthodologique** (ex. type d'échantillonnage, métrologie) ;
- **évaluer les maquettes** proposées ;
- viser la **coordination dans la collecte des données** (échantillon, variables, éléments de biodiversité, analyses, indicateurs) et
- proposer des **modalités de délibération/gouvernance**.

Il est proposé que le contenu soit discuté (et éventuellement modifié) avec les bailleurs de fonds et soumis au conseil scientifique d'ECOFOR.

Les actions de **gestion forestière** à évaluer pourront être choisies dans PASSIFOR-2 ou, seulement par la structure délibérative de PASSIFOR-3. Néanmoins, les réflexions incorporeront l'identification des principales questions de politique publique forestière qui pourraient être évaluées. A minima, l'incorporation d'un échantillon « réserves » dans l'observatoire sera étudiée.

Les moyens que nous cherchons à mobiliser sont (liste non exclusive):

- un chargé de mission (à ½ temps),
- des étudiants en M2 et/ou des CDD,
- du temps de personnel permanent (prise en charge partielle des coûts d'environnement),
- des frais de déplacements, notamment pour des voyages à l'étranger ou des invitations de scientifiques étrangers.

## Références

Bockstaller C., Cariolle M., Guichard L., Leclercq C., c Morin A. *et al.*, 2013. Evaluation agri-environnementale et choix des indicateurs: acquis, enjeux et pistes. *Innovations Agronomiques*, 31(1), 1-14

Gosselin F. et Gosselin M., 2008. Pour une amélioration des indicateurs et suivis de biodiversité forestière. *Ingénieries-EAT*, 55-56, 113-120

Gosselin F., Gosselin M. et Paillet Y., 2012. Suivre l'état de la biodiversité forestière : pourquoi ? comment ? *Revue forestière française*, 64(5), 683-700

Gosselin M., Bonhême I., Archaux F. et Nivet C., 2012. Suivi national de la biodiversité forestière : état des lieux, pistes d'amélioration. *Revue forestière française*, 64(5), 665-682

Levrel H., Lois G. et Couvet D., 2007. Indicateurs de biodiversité pour les forêts françaises. État des lieux et perspectives. *Revue forestière française*, 59(1), 45-56

Nivet C., Bonhême I. et Peyron J.-L. (coord.), 2012. Les indicateurs de biodiversité forestière. Synthèse des travaux du programme de recherche « biodiversité, gestion forestière et politiques publiques ». Paris, MEDDE-Gip Ecofor, 144 p.. [www.gip-ecofor.org/doc/drupal/Indicateurs.pdf](http://www.gip-ecofor.org/doc/drupal/Indicateurs.pdf)

Pellissier V., Touroult J., Julliard J., Sibley J.-P. et Jiguet F., 2013. Assessing the Natura 2000 network with a common breeding birds survey. *Animal Conservation* , 16(5), 566-574

Peyron J.-L., Bonhême I., 2012 Indicateurs de gestion durable et enjeux forestiers des politiques publiques, *Revue. forestière française.*, Vol. 64, N° 5, p. 567-581 <http://hdl.handle.net/2042/50646>

Touroult J., Poncent L., Sibley J.-P., Graffin V., 2015. Propositions techniques pour un dispositif de surveillance de la biodiversité continentale. Note de réflexion. Muséum national d'histoire naturelle.

## 2. Tâche A - Coordination, Animation & Intégration

### Responsables/Coordinateurs de la tâche

- Guy Landmann, IGPEF,- directeur-adjoint du GIP Ecofor, 42, rue Scheffer, 75116 Paris, 01 53 21 41, [guy.landmann@gip-ecofor.org](mailto:guy.landmann@gip-ecofor.org)
- Frédéric Gosselin, ICPEF, Chercheur en écologie forestière et biométrie, Irstea, Domaine des Barres, 45 290 Nogent-sur-Vernisson, 02 38 9503 58, [frederic.gosselin@irstea.fr](mailto:frederic.gosselin@irstea.fr)

### Partenaires de la tâche projet

- Chargé de mission (Ecofor)
- Responsables des tâches B-E
- Gestionnaires des dispositifs de suivi analysés (organismes techniques et de recherche)
- Bailleurs de fonds (ministères de l'écologie et de l'agriculture, ADEME, AFB)

## DESCRIPTIF DE LA TACHE

### 2.1 Justification de la proposition

PASSIFOR-2 repose sur plusieurs publics : chercheurs (tâche B-E), responsables / gestionnaires des dispositifs de suivi, et bailleurs de fond potentiels (ministères et agences) qui financent d'ores et déjà des suivis de biodiversité ou sont susceptibles de le faire. La tâche A consiste en un travail de coordination, d'animation autour d'un processus d'intégration :

- la **coordination** concerne plus particulièrement le travail mené dans les 4 tâches scientifiques et techniques B à E (voir Introduction, figure 2) ;
- l'**animation** vise à faire participer les différents acteurs susmentionnés autour de la production de maquettes de suivi de la biodiversité. Si des relations bilatérales existent d'ores et déjà, par exemple entre les bailleurs de fond et les gestionnaires de différents dispositifs de suivi, il faudra mettre sur pied, dans le cadre du projet, un travail collectif autour d'un objet qui sera délimité collectivement (sous-tâche 1) ;
- l'**intégration** des informations provenant des tâches B-E et de celles produites au sein de la tâche A (sous-tâche 2) doit aboutir à des maquettes consolidées.

### Exposé de la proposition

#### 2.2 Objectifs et résultats attendus.

L'objectif final de cette tâche est d'intégrer le travail réalisé autour de **maquettes** (constituées d'éléments existants et à créer) **de suivi de la biodiversité forestière** qui soit (i) scientifiquement fondé et (ii) quantitatif.

Les maquettes devront répondre à des **objectifs explicites** et être décrites par les caractéristiques suivantes (d'après Vos *et al.*, 2000) : (i) les **composantes de biodiversité suivies** (voir tâche C), (ii) les

**variables écologiques ou de gestion associées** (tâche D), (iii) les **plans d'échantillonnage** et les **méthodes d'analyse** (tâche E).

Il s'agira en outre de :

- proposer les **échelles** (pays, région, massif) auxquelles déployer ces suivis, et
- d'appréhender ce qu'impliqueraient ces options pour les acteurs institutionnels et de le traduire en **termes d'organisation** à mettre en place, de déploiement dans le temps, de coûts et de financements.

### **2.2.1 Définition du contour des dispositifs et de quelques maquettes possibles**

Cette sous-tâche vise à fixer le **cadre du travail commun**, discuter et **définir un contour initial de dispositifs de suivi de biodiversité** qui servira de référence aux différentes tâches (particulièrement C-E) qui se positionneront par rapport à ce contour de référence chaque fois que cela sera nécessaire.

En guise d'exemple, un contour (minimal) pourrait inclure les dispositifs suivants : l'inventaire forestier (IGN), le réseau de suivi à maille carrée 16\*16 km, le programme Vigie Nature. A l'intérieur de ce contour, on envisagera au départ plusieurs maquettes, en lien avec de grands **objectifs** définis selon Yoccoz *et al.*(2001) :

- **Maquette 1 : suivi de la biodiversité** (quelques taxons) à l'échelle la France métropolitaine,
- **Maquette 2 : suivi de la biodiversité** (quelques taxons) à l'échelle de la France métropolitaine **en forêt exploitée (ou non protégée) versus en forêt non-exploitée (ou protégée (RBI / Natura 2000)** ; le différentiel pourrait constituer un indicateur de gestion durable pour le critère biodiversité,
- **Maquette 3 : suivi de biodiversité en lien avec une politique publique forestière** non zonale mais aux effets potentiellement différenciés ; suivi et évaluation de cette politique (ex : bois énergie ?),
- **Maquette 4 : suivi organisé autour de l'un des objectifs listés ci-dessus avec, en plus, la possibilité d'un changement d'échelle :**
  - avec réplification du protocole biodiversité à des échelles plus locales, ou
  - via le suivi local de variables écologiques autres que la biodiversité (IBP, télédétection, variables dendrométriques) dont le lien avec la biodiversité serait en parallèle étayé au niveau national.

Au-delà de l'importance centrale de l'objectif pour définir une maquette, le passage des objectifs aux maquettes proprement dites nécessitera de renseigner les caractéristiques listées plus haut (métriques de biodiversité, les variables et placettes prise en comptes... cf. Vos et al., 2000). Par ailleurs, les maquettes envisagées en fin de projet dans la sous-tâche 3 pourront impliquer plusieurs objectifs, donc plusieurs de ces maquettes initiales.

## Mise en œuvre

Une réunion collective de lancement du projet s'intéressera aux dispositifs potentiellement concernés et à la définition des maquettes, de façon à permettre aux trois principaux groupes d'acteurs de se familiariser à ces notions centrales au projet. Un questionnaire élaboré par les responsables de la tâche A en lien avec ceux des autres tâches de manière visera à faire émerger les opinions des acteurs sur l'existant: positionnement, articulation des dispositifs de suivi actuels) les infléchissements souhaités,... Les gestionnaires des dispositifs seront interrogés une deuxième fois vers la fin du projet sur la base des réponses données au premier passage, de façon à mesurer les évolutions des positions et analyses des acteurs présents. Les résultats acquis en cours de projet pourront modifier le positionnement en raison de certaines limites, et faire apparaître la nécessité de compléter tel ou tel dispositif.

### *2.2.2 Etude approfondie des dispositifs retenus dans la perspective de leur intégration dans une maquette*

Il s'agit, dans cette sous-tâche, de conduire une analyse des dispositifs sous des angles variés en :

- caractérisant le **fonctionnement actuel** (qualité des procédures et des données, circuits de décision et modalités de financement) ou encore des **aspects juridiques liés à la mobilisation** et l'utilisation des données susceptibles de poser problème pour la mise en œuvre éventuelle des maquettes (à compléter par gouvernance) ;
- d'évaluer le **potentiel d'évolution** des dispositifs selon des éléments suggérés par les experts.

Cette analyse intégrera (i) les apports des responsables des dispositifs, (ii) les apports de l'analyse des dispositifs et du paysage institutionnel conduits dans la tâche B, et (iii) les apports des tâches analytiques C à E.

## Mise en œuvre

Ce travail sera mené par le chargé de mission, épaulé par les responsables du projet, et, le cas échéant, par des spécialistes extérieurs au projet.

Le travail s'appuiera sur le questionnaire mentionné plus haut (sous-tâche 1) complété par un 2ème jeu de questions plus centré sur les dispositifs et leur gestion (cf. supra). Le questionnaire sera soumis en début de projet aux acteurs individuels dans le cadre d'entretiens bilatéraux et il sera répété dans un format allégé (relecture du compte-rendu du premier échange) vers la fin du projet. En complément, une page internet sera disponible pour permettre aux participants des idées et informations nouvelles en cours de projet.

### *2.2.3 Intégration des différents dispositifs*

Lorsque la sélection des dispositifs retenus sera stabilisée et les informations sur ces dispositifs acquises, le travail d'intégration des différents dispositifs pourra être réalisé. Cette sous-tâche prendra en compte les dimensions : **financement**, **organisation** à mettre en place, et **déploiement** dans le temps. Cette sous-tâche devra se faire en interaction étroite avec la définition des maquettes, et en lien avec les tâches B-E.

## Mise en œuvre

Cette phase sera mise en œuvre lors des derniers mois du projet. Elle sera pilotée par le chargé de mission épaulé par les coordonnateurs du projet en lien étroit avec les responsables des dispositifs et les responsables de tâches.

### 2.2.4 Aspects transversaux de la mise en œuvre

Il est proposé que les bailleurs de fonds potentiels constituent, avec les responsables du projet, le **comité de pilotage**. A ce titre, il est prévu de le mobiliser au démarrage du projet (définition du contour et des maquettes), à mi-période (nouveaux éclairages fournis par la phase d'études bibliographiques des différentes tâches) et à l'occasion du séminaire final qui donnera les conclusions relativement au potentiel / difficultés d'évolution du dispositif actuel.

Les **responsables de dispositifs** seront, de la même façon, associés aux réunions de début, de mi-terme et finale, mais également de façon bilatérale avec le chargé de mission (et, le cas, échéant, un responsable du projet) pour réaliser l'étude « multi-facettes » de leur dispositif.

Les **experts** du projet auront à mener à bien les 4 tâches/thèmes (B à E) tout en participant aux étapes collectives décrites ci-dessus, et en fournissant éventuellement des expertises ponctuelles additionnelles.

La tâche A reposera donc largement sur des **échanges bi-ou multilatéraux, selon les besoins**. Il est en outre prévu **deux missions à l'étranger qui pourront** associer les responsables du projet et des tâches, de façon à renforcer la cohésion de l'équipe-projet et de sortir du contexte hexagonal. Il pourrait s'agir d'un pays qui a déjà structuré les inventaires de biodiversité (ex. Suède) et d'un pays en phase de réflexion (ex. Italie).

## Valorisation scientifique

Les résultats du projet pourraient faire l'objet d'un « cahier thématique » d'une revue forestières. Le cas échéant, certains travaux des tâches B à E pourraient en outre (mais probablement) après la fin du projet de publications scientifiques spécialisés, selon possibilité.

## Références

Vos P., Meelis E. and Ter Keurs W. J., 2000. A framework for the design of ecological monitoring programs as a tool for environmental and nature management. *Environmental Monitoring and Assessment*, 61(3), 317-344.

Yoccoz N. G., Nichols J. D. & Boulinier T., 2001. Monitoring of biological diversity in space and time. *Trends in Ecology and Evolution* 16, 446-453.

## 3. Tâche B - Gouvernance du système d'observation

### Responsable/Coordinateur scientifique de la tâche

- Christophe Chauvin, Ingénieur-Chercheur, Irstea - Ecosystèmes montagnards, Domaine universitaire 2, rue de la Papeterie BP76, 38 402 SAINT MARTIN D'HERES CEDEX02, 04 76 76 27 72, [christophe.chauvin@irstea.fr](mailto:christophe.chauvin@irstea.fr)

### Partenaires de la tâche projet (sous-tâche B2): Experts SHS (Sous-tâche B2)

- AgroParisTech, Audrey Coreau,
- Irstea, Gabrielle Bouleau, Arnaud Sergent, André Miralles,
- CNRS, LADDYS, Raymond Richard),
- MNHM, Luc Manil.

## DESCRIPTIF DE LA TACHE B

### 3.1 Justification de la proposition

Autant que de suivi technique, les indicateurs forestiers jouent un rôle important de médiation politique par l'information et la concertation. Il importe donc que les processus de production et d'utilisation des indicateurs de biodiversité forestière prennent en compte ces objectifs socio-politiques qui sont *in fine* de permettre des débats effectifs entre acteurs sur les choix relatifs à la biodiversité perçue comme un bien commun.

Il est alors nécessaire de réfléchir « en dehors de la boîte » le système actuel d'observation de la biodiversité forestière se présentant comme l'assemblage conjoncturel de sous-produits d'observatoires conçus indépendamment sans véritable stratégie d'ensemble. Cette prise de recul passe notamment par l'examen de systèmes d'observation pris hors du contexte national, ou du domaine forestier.

## Exposé de la proposition

### 3.2 Objectifs et résultats attendus

La tâche B vise à **élargir le champ des références** pour l'amélioration du système national d'observation de la biodiversité forestière. On étudiera donc des systèmes d'observation construits sur d'autres domaines (eaux continentales, littoral, espaces naturels) et dans d'autres pays, de manière à pouvoir **proposer des structures de gouvernance** et des modes de fonctionnement pour les maquettes envisagées, avec des **éléments d'évaluation** de leurs avantages et inconvénients.

Deux points clés sont plus particulièrement visés pour une amélioration du système d'observation actuel :

- La coordination **entre types d'observation**, scientifiques structurées ou issues du terrain (naturalistes, gestionnaires). Il s'agit notamment d'organiser une **intégration entre échelles**, de locale à européenne, et parallèlement **entre recherche et gestion**. Cela concerne



la déclinaison d'un outil de niveau national en règles d'action et de suivi au niveau local, et réciproquement l'intégration de données de gestion et de données naturalistes locales.

- La coordination **entre observatoires** ayant une activité dans le domaine de la biodiversité forestière, chacun avec ses objets et objectifs, ses financeurs et son histoire.

Pour cette coordination d'un système d'observation composite, la tâche B produira des recommandations génériques en matière de processus de définition d'objectifs, d'obtention des données, d'interprétation et discussions des résultats, de communication, le tout déployé aux diverses échelles pays, région, massif ; et, de façon plus circonstanciée, des propositions d'amélioration pour les maquettes nationales au cours de leur élaboration dans le projet.

## Organisation de la recherche en sous-tâches

### *3.2.1 Etude de systèmes de suivi de la biodiversité*

Cette première sous-tâche correspond à l'objectif d'élargissement des références, et comportera les actions suivantes :

- Bibliographie scientifique : recherche et analyse des principales références pertinentes en matière de systèmes d'observation (principes et gouvernance).
- Bibliographie technique : identification et analyse des principaux textes de référence
  - Européens : Indicateurs de gestion durable de Forest Europe, directive Habitats, etc.
  - Nationaux, régionaux, avec identification de régions pilotes
- Etude spécifique d'exemples forestiers à l'étranger (3 pays) et dans 3 régions (observatoires régionaux) ; et en France dans d'autres domaines : eaux continentales, domaine marin, espaces naturels. Ces études feront appel à des entretiens et des missions in situ.

#### **Livrables :**

- Document sur l'état de l'art du suivi de la biodiversité et sur les institutions de mise en œuvre
- Synthèse sous forme de tableau benchmark.

### *3.2.2 Analyse des questionnaires*

Cette deuxième sous-tâche concerne le dépouillement des questionnaires administrés en tâche A (sous-tâche 2.2.2), en ce qui concerne la partie structure des observatoires et organisation des processus. Ce travail sera réalisé à deux reprises, cette partie du questionnaire étant administrée deux fois : la première en sous-tâche 2.2.2 avec l'ensemble du questionnaire, en étude préalable à l'intégration dans une maquette, et en sous-tâche 2.2.3, après une première proposition d'intégration.

#### **Livrables**

- Analyse des questionnaires administrés en 2.2.2
- Analyse des questionnaires administrés en 2.2.3 : comparatif avec la première analyse, des points d'évolution et des points de dissension.

### ***3.2.3 Evaluation des maquettes***

Cette sous-tâche correspond à une confrontation des projets de maquette à un panel d'experts en sciences humaines et sociales, et aux autres experts du projet, à la lumière des résultats des sous-tâches B1, A2 et B2 (première analyse). Elle conduit à une évaluation des projets de maquette et à un ensemble de recommandations pour leur amélioration dans la sous-tâche d'intégration A3. Les interactions avec les experts seront organisées par entretiens et réunions. En complément des experts déjà identifiés (AgroparisTech, MNHM, CNRS LADYSS, Irstea, experts du projet), d'autres pourront l'être dans la sous-tâche B1 Etude de systèmes de suivi.

#### **Livrable**

- Evaluation de la première version des maquettes : Matrice AFOM atouts/faiblesses/opportunités/menaces. Recommandations et éventuelles propositions d'amélioration.

## 4. Tâche C - Parties de la biodiversité forestière suivies

### Responsables/Coordinateurs scientifiques de la tâche

- Christophe Bouget, Ingénieur-chercheur, ICPEF, Irstea - Unité "Ecosystèmes Forestiers"  
Domaine des Barres, F-45290 Nogent-sur-Vernisson, 02.38.95.05.42,  
[christophe.bouget@irstea.fr](mailto:christophe.bouget@irstea.fr),
- Julien Touroult, Directeur-adjoint Muséum national d'Histoire naturelle, Service du Patrimoine Naturel, CP41, 36 rue Geoffroy Saint-Hilaire F-75005 Paris, 01 40 79 32 57, [julien.touroult@mnhn.fr](mailto:julien.touroult@mnhn.fr)

### Partenaires de la tâche projet (liste plus complète en fin de partie de la tâche)

- MNHN: Rodolphe Rougerie (Métabarcoding Insectes), Christian Kerbirou
- LECA Eric Coissac (Métabarcoding Faune du sol + ADN environnemental)
- CNRS- CEFE: Franck Richard (Métabarcoding Champignons)
- INRA : Jean-Luc Dupouey, Luc Barbaro

## DESCRIPTIF DE LA TACHE

### 4.1 Justification de la proposition

On déplore une carence de chiffres sur l'identité de la biodiversité forestière. En dépit de l'intérêt croissant porté à la biodiversité depuis une vingtaine d'années, les connaissances disponibles en France pour en définir l'état, en forêt et hors forêt, restent limitées. Pour la plupart des groupes taxinomiques, à l'exception peut-être des Mammifères, des Phanérogames et des Oiseaux, il n'existe pas de catalogue des espèces strictement forestières ou forestières facultatives. De nombreux segments de la biodiversité, malgré leur rôle présumé important dans les services écologiques et dans le fonctionnement des écosystèmes forestiers, sont très mal connus : micro-faune du sol, nombreux groupes d'Arthropodes, champignons... et le nombre estimé de leurs espèces forestières est hautement approximatif. La distribution et l'état des populations des espèces forestières, ordinaires comme patrimoniales, sont évidemment encore plus méconnus, si bien que les statuts sont difficiles à affecter.

En France, la constitution de réseaux de suivis de biodiversité dans les écosystèmes terrestres (de Bello *et al.*, 2010) connaît un retard important sur les milieux aquatiques, où la normalisation de protocoles et la promotion d'outils sont à l'œuvre depuis plusieurs dizaines d'années déjà (Oberdorff *et al.*, 2002 ; Poulet *et al.*, 2011). Les milieux agricoles ont vu récemment émerger de premiers réseaux de surveillance. A l'étranger, des initiatives pionnières ont permis la mise en œuvre de réseaux de placettes de suivi simplifié (Alberta, Suisse... ; ex. : Stadt *et al.*, 2006). Des méthodes d'échantillonnage émergentes relancent le débat, mais sans réflexion sur les opportunités de leur transposition à large échelle. Une analyse coûts-bénéfices de leur opérationnalité et de leur adéquation pour les groupes forestiers reste à conduire.

## Exposé de la proposition

### 4.2 Objectifs et résultats attendus

Identifier un cortège pertinent des groupes taxinomiques et/ou écologiques, meilleurs candidats et de méthodes idoines, incluant coût et faisabilité, pour leur suivi en forêt métropolitaine

#### 4.2.1 Identité de la biodiversité forestière

##### Tableau de la biodiversité forestière

Il s'agit, dans cette sous-tâche dresser un tableau de la biodiversité forestière en chiffres, pour l'ensemble des groupes concernés (taxinomiques ou écologiques, comme les coléoptères coprophages, saproxyliques, les oiseaux d'eau, les Mollusques terrestres...), en décrivant (i) le nombre total approximatif d'espèces en France, (ii) le nombre d'espèces présentes (parfois [facultatifs] vs seulement [obligatoires]) dans les forêts françaises, (iii) le nombre d'espèces présents dans les autres grands types d'écosystèmes (prairies, milieux humides...).

**Méthode** : interrogation des bases de données sur les affinités d'habitat (ex. Frisbee, SNPN : Odonates, Rhopalocères, Vertébrés, Hétérocères) + enquête auprès du groupe d'experts taxinomiques constitué pour le projet + 2 réunions du groupe d'experts

**Livrable** : tableau quantitatif de la biodiversité forestière, à la résolution taxinomique de la classe ou de l'ordre, avec distinction interne possible de groupes écologiques

##### Groupes transversaux pour le suivi de la biodiversité terrestre (y compris forestière)

Cette sous-tâche vise à identifier des groupes transversaux (Lépidoptères Hétérocères, oiseaux, flore) à différents écosystèmes terrestres (humides, prairiaux, forestiers), dans une logique de surveillance biologique globale du territoire, intégrant la forêt et d'autres milieux (ex. des oiseaux, qui permettent de construire des indices composites sur tous les milieux).

**Méthode** : réunions du groupe d'experts taxinomiques)

**Livrable** : liste sélective de groupes taxinomiques et/ou écologiques d'intérêt transversal pour le suivi de la biodiversité continentale

#### 4.2.2 Analyse multicritères

Il s'agit d'établir une grille d'analyse multicritères des atouts et contraintes, pratiques et écologiques, des groupes taxinomiques (critères et importance relative des critères), en étendant la liste des critères suivants :

- affinité forestière et dépendance à la forêt,
- enjeux de services écosystémiques ou de fonctions clés pour la forêt,
- enjeux de conservation,
- sensibilité aux changements d'habitat induits par la gestion forestière, notamment aux variations de certains descripteurs de composition et de structure des peuplements influencés par les orientations sylvicoles (cf tâche D)
- inclusion d'espèces charismatiques aptes à convoquer un message dans les sphères socio-professionnelles, politiques, associatives ou grand public

- niveau d'utilisation dans les dispositifs de surveillance des pays voisins,
- niveau de diversité spécifique
- disponibilité d'un référentiel taxinomique actualisé, d'outils de détermination, de synthèses sur la distribution et la rareté des taxa (atlas nationaux, liste rouge nationale ou internationale...),
- variabilité inter-spécifique du statut de rareté,
- identifiabilité, existence et taille d'une communauté d'experts taxinomiques,
- niveau des connaissances autécologiques (voire disponibilité d'une base de données sur les traits de vie),
- méthodes d'échantillonnage envisageables (ex. disponibilité ou non d'un marqueur ADN barcode diagnostique pour ce groupe, de librairies de barcodes de référence), disponibilité d'un protocole d'échantillonnage standardisé à l'échelle "site" (des éléments métrologiques de détectabilité et d'effet « opérateur » seront analysés en tâche E, cf. Manley *et al.*, 2005)
- contraintes organisationnelles de mise en œuvre du protocole d'échantillonnage et de détermination (processus automatisable par un opérateur lambda vs opérateur-expert, possibilité de délégation à un bureau d'études, à des opérateurs professionnels institutionnels),
- disponibilité d'un dispositif national pré-existant de surveillance.

Les contraintes d'utilisation de la **méthode Prométhée (Brans *et al.*, 1984)** seront intégrées dans l'élaboration de la grille.

**Méthode** : 1 réunion du groupe d'experts taxinomiques

**Livable** : grille de critères classés par famille

#### **Evaluation multi-critères des groupes de biodiversité forestière**

Cette sous-tâche vise, pour l'ensemble des groupes concernés définis plus haut et selon la grille construite en 4.4., d'amorcer l'analyse **multicritères, en appliquant la méthode Prométhée** (Jactel *et al.*, 2012),

**Méthode** : 3 réunions du groupe d'experts taxinomiques

**Livable** : grille de critères renseignée pour l'ensemble des groupes et sélection de groupes candidats « idéaux »

#### **4.2.3 Modes innovants et coûts d'échantillonnage des groupes de biodiversité forestière**

Recueil des retours d'expérience (littérature internationale, connaissances récemment acquises et projets en cours) sur les coûts d'acquisition de données selon les méthodes (par unité d'échantillonnage, en lien avec l'action sur le plan d'échantillonnage), traditionnelles et classiques ou émergentes (terrain, labo...).

Parmi les méthodes d'échantillonnage émergentes, seront en particulier abordées : (i) analyses partielles d'une sélection d'espèces issues de relevés-experts traditionnels (Sebek *et al.*, 2012), (ii) recueil de données participatives grand public, (iii) Barcoding (par groupe : disponibilité d'un

marqueur DNA-Barcode diagnostique, taille des bibliothèques des barcodes de référence, amorces fonctionnelles et +/- universelles), metabarcoding (<http://metabarcoding.org/>) et mitogénomique (Ji *et al.*, 2013) pour la reconnaissance moléculaire d'individus (entiers ou tissus) des espèces cibles présentes dans un échantillon piégé (« Biodiversity soup », Yu *et al.*, 2012) (données d'abondance et de richesse), (iv) ADN environnemental de substrats (sol, terreau, bois...) pour la reconnaissance moléculaire des espèces cibles à partir des traces d'ADN laissés par les individus dans leur habitat (Taberlet *et al.*, 2012), (v) détection sonore. Ces méthodes peuvent bien entendu être combinées (ex. suivis participatifs par détection sonore).

Pour les couples (méthode x groupe), différents scénarios du processus d'acquisition de données, de l'échantillon à la donnée, pourront être examinés (identification des postes clés). L'estimation des coûts inclura les coûts économiques directs et les coûts associés aux contraintes logistiques (ex. coûts d'animation d'un réseau de collecteurs participatifs, ex. contraintes de conditionnement des échantillons, ex. estimation des étapes intermédiaires de conversion de format des données (ex. analyse bio-informatique associée au metabarcoding)).

Leur maturité pour être déployées à grande échelle, leur faisabilité seront évaluées à la lueur des récents projets engagés, avec le souci d'identifier les besoins de connaissance et de recherches complémentaires à développer (par ex. sur les prospections d'ADN environnemental de substrats ligneux, actuellement au stade prospectif).

#### **Analyse des modes innovants et coûts d'échantillonnage des groupes de biodiversité forestière**

**Méthode** : encadrement d'un stage M2 pro ou ingénieur en fin d'études et 2 réunions du groupe d'experts

**Livrable** : rapport de stage

#### **4.2.4 . Synthèse**

Croiser les synthèses des objectifs 1 à 3 pour définir des groupes cibles, réactifs, représentatifs, complémentaires, pour le suivi de la biodiversité forestière, en incluant les contraintes pratiques et budgétaires

Les perspectives liées au modèle économique et organisationnel (nature des opérateurs, cf tâche B ; taille et configuration du plan d'échantillonnage, cf. tâche E) seront discutées avec les tâches dédiées.

La complémentarité d'informations écologiques entre groupes sera abordée ici. La complémentarité d'informations écologiques et la complémentarité méthodologique (possibilités d'interférences ou de combinaison) entre les suivis directs et les mesures d'indicateurs indirects (dendrométriques, paysagers...) sera examinée en tâche D (Blasi *et al.*, 2010).

#### **Analyse multicritères complète des groupes de biodiversité forestière**

**Méthode** : réunion du groupe d'experts taxinomiques

**Livrable** : grille entièrement complétée, sélection de couples (groupes candidats, méthodes) « réalistes »

#### **Partenaires pressentis (liste non exhaustive)**

Il s'agit de couvrir un large gradient taxinomique et méthodologique (méthodes traditionnelles de relevés, données participatives de biodiversité, barcoding, ADN environnemental)

(en **gras** : accord du partenaire)

- MNHN : **Rodolphe Rougerie** (Métabarcoding Insectes), **Christian Kerbiriou**, Experts du pôle espèces du Service du patrimoine naturel
- **LECA : Eric Coissac** (Métabarcoding Faune du sol + ADN environnemental)
- CNRS- CEFE : Franck Richard (Métabarcoding Champignons)
- INRA : Jean-Luc Dupouey, **Luc Barbaro**
- Université Lille: Régis Courtecuisse ou Pierre-Arthur Moreau
- Représentants de bureaux d'étude ?
- Représentation de sociétés naturalistes nationales ?
- Représentant des réseaux naturalistes de l'ONF ?
- Représentant d'INRA barcoding sol (RMQS) ?

## Références

Blasi C., Marchetti M., Chiavetta U., (...), Tilia A., Burrascano S. 2010. Multi-taxon and forest structure sampling for identification of indicators and monitoring of old-growth forest. *Plant Biosystems* 144 (1), 160-170

Brans J.P., Mareschal B., Vincke P., 1984. PROMETHEE, a new family of outranking methods in multicriteria analysis. *Operational Research* 84:477-490

de Bello F., Lavorel S., Gerhold P., Reier Ü., Pärtel M., 2010. A biodiversity monitoring framework for practical conservation of grasslands and shrublands. *Biological Conservation* 143, 9-17.

Jactel H., Branco M., Duncker P., Gardiner B., Grodzki W., Langstrom B., Moreira F., Netherer S., Nicoll B., Orazio C., Piou D., Schelhaas M.J., Tojic K., 2012. A Multicriteria Risk Analysis to Evaluate Impacts of Forest Management Alternatives on Forest Health in Europe. *Ecology and Society*, 17, 4, art. 52

Ji Y.Q., Ashton L., Pedley S. M., Edwards D. P., Tang Y., Nakamura Akihiro, Kitching R.L., Dolman P., Woodcock P., Edwards F.A., Larsen T.H., Hsu W.W., Benedick S., Hamer K.C., Wilcove D.S., Bruce C., Wang X.Y., Levi T., Lott M., Emerson B.C. and Yu, D. W., 2013. Reliable, verifiable, and efficient monitoring of biodiversity via metabarcoding. *Ecology Letters*, 16 (10). 1245-1257

Manley P.N., Schlesinger M.D., Roth J.K., Van Horne B., 2005. A field-based evaluation of a presence-absence protocol for monitoring ecoregional-scale biodiversity. *Journal of Wildlife Management*. 69 (3), 950-966

Oberdorff T., Pont D., Hugueny B., Porcher J., 2002. Development and validation of a fish-based index for the assessment of "river health" in France. *Freshwater Biology* 47, 1720-1734

Poulet N., Beaulaton L., Dembski S., 2011. Time trends in fish populations in metropolitan France: insights from national monitoring data. *Journal of Fish Biology* 79, 1436-1452

Sebek P., Barnouin T., Brin A., Brustel H., Dufrene M., Gosselin F., Meriguet B., Micas L., Noblecourt T., Rose O., Velle L., Bouget C., 2012. A test for assessment of saproxylic beetle biodiversity using subsets of "monitoring species". *Ecological Indicators*, 20, 304-315

Stadt J.J., Schieck, J., Stelfox H.A., 2006. Alberta Biodiversity Monitoring Program – Monitoring Effectiveness of Sustainable Forest Management Planning. *Environmental Monitoring and Assessment*, 121, 1, 33-46

Taberlet P., Coissac E., Hajibabaei M., Rieseberg L.H., 2012. Environmental DNA. *Molecular Ecology* 21, 1789–1793

Yu D., Ji Y., Emerson B.C., Wang X., Ye C., Yang C. and Ding Z., 2012. Biodiversity soup: metabarcoding of arthropods for rapid biodiversity assessment and biomonitoring. *Methods in Ecology and Evolution*, 3 (4), 613-623



## 5. Tâche D - Variables écologiques et de peuplement forestier

### Responsables/Coordinateurs scientifiques de la tâche

- Hervé Jactel, Directeur de Recherche, INRA, UMR 1202 Biodiversité Gènes et Communautés, Equipe Ecologie des Communautés, INRA 69 route d'Arcachon, 33610 Cestas– France, 05 57 12 27 39, [herve.jactel@pierroton.inra.fr](mailto:herve.jactel@pierroton.inra.fr)
- Thomas Cordonnier, Chercheur en Sciences Forestières, Irstea, Unité de Recherche Ecosystèmes Montagnards. Equipe Dynamiques et gestions des écosystèmes de montagne. Domaine Universitaire 2, Rue de la Papeterie BP 76, F-38402 SAINT MARTIN D'HERES, 04 76 76 27 81, [thomas.cordonnier@irstea.fr](mailto:thomas.cordonnier@irstea.fr)

### Partenaires de la tâche projet pressentis (non exhaustif)

- Irstea Grenoble : Marc Fuhr, Christophe Chauvin, Thomas Cordonnier
- Irstea Aix-en-Provence : Sylvie Vanpeene, Laurent Bergès
- Irstea Nogent : Yoan Paillet, Marion Gosselin, Christophe Bouget
- Irstea Bordeaux : Arnaud Sergent
- INRA Toulouse : Marc Deconchat, Laurent Larrieu, Luc Barbaro
- INRA Bordeaux : Inge van Halder, Frédéric Revers, Hervé Jactel
- INRA Nancy : Jean-Luc Dupouey
- Université de Rouen : Michael Aubert
- IGN Nogent-sur-Vernisson : Fabienne Benest

## DESCRIPTIF DE LA TACHE

### 5.1 Justification de la proposition

Les forêts constituent le plus vaste écosystème sur Terre (Pan *et al.*, 2013), abritant la majorité de la biodiversité terrestre (entre 50% et 80%, Millenium Ecosystem Assessment 2005). Les peuplements forestiers fournissent en effet des ressources alimentaires et des habitats favorables à de nombreuses espèces. Parmi les caractéristiques des forêts qui expliquent leur rôle de préservation d'une grande partie de la biodiversité terrestre figurent i) la stabilité du milieu, constitué d'espèces pérennes longévives (les arbres) et peu impacté par des événements de gestion espacés dans le temps (coupes), ii) la diversité des espèces végétales arbustives et arborées fournissant de nombreuses niches écologiques à la faune, iii) la complexité structurale du couvert, lié à une forte stratification, contribuant elle aussi la diversification des niches. Ces relations ont donc conduit les écologues à proposer que des descripteurs de l'habitat forestier pouvaient être utilisés pour prédire certaines dimensions de la biodiversité, conduisant au concept d'indicateurs indirects de la biodiversité (Bonhême, 2012).

La forêt représente ainsi un système complexe qui doit être décrit avec une combinaison de variables (Franc *et al.*, 2000). En foresterie, à l'échelle du peuplement et à un instant donné, il est usuel de distinguer **trois composantes pour le bois vivant** (Pommerening, 2002) : 1) la diversité et la

composition en espèces arborées (richesse, abondances, diversité, surface terrière, biomasse, volume, couvert), 2) la structure des tailles/âges des arbres (taille/âge moyen, diversité) déterminant une hétérogénéité verticale et enfin 3) la structure spatiale (distribution spatiale des arbres) déterminant l'hétérogénéité horizontale. A cela **s'ajoute la structure spatiale des facteurs abiotiques** (ex. topographie, sol, cours d'eau), **le bois mort** (volume, diversité) et les **micro-dendro-habitats** (par exemple des cavités) qui contribuent à définir l'habitat forestier. A chacun de ces éléments est associé un grand nombre de métriques plus ou moins élaborées (McElhinny *et al.*, 2005).

De nombreuses études révèlent l'existence de relations significatives entre certaines de ces métriques forestières et la richesse ou l'abondance de certains taxons. Par exemple, l'âge des peuplements ou leur stade de développement reste une variable clé pour prédire les évolutions de biodiversité des oiseaux (du Bus de Warnaffe et Deconchat, 2008), de la flore vasculaire (Duguid et Ashton 2013), des insectes saproxyliques (Lassauce *et al.*, 2013) ou encore des lichens épiphytes (Gao *et al.*, 2015). Pour la flore vasculaire, la composition et la stratification peuvent également influencer de manière significative la diversité de la flore vasculaire (Gao *et al.*, 2014 ; Zilliox et Gosselin, 2014). Un autre exemple emblématique est celui du bois mort pour lequel le volume ou la diversité semblent être de bons indicateurs de la richesse de taxons saproxyliques (Lassauce *et al.*, 2011 ; Bouget *et al.*, 2013). **Ainsi, ces variables descriptives de l'habitat forestiers présentent pour certaines un caractère indicateur intéressant.**

Outre leur lien plus ou moins étroit, plus ou moins direct avec la biodiversité, les métriques ou indicateurs précités **présentent le grand intérêt d'être sensibles aux actions de gestion**. La structure et la composition du peuplement (composition en espèces, tailles des arbres etc.) est en grande partie pilotée par la sylviculture. Le compartiment bois mort et les arbres porteurs de microhabitats dépendent des mesures de rétention effectuées lors du martelage et de l'exploitation. Les indicateurs basés sur les structures des peuplements impliquent également des mesures en général moins coûteuses que les inventaires de biodiversité.

Si ces variables descriptives du peuplement forestier et les indicateurs indirects qui en découlent **offrent ainsi un complément intéressant aux mesures et indicateurs directs de biodiversité, ils ne peuvent s'y substituer complètement**. En effet ils ont pour principaux défauts i) de ne pouvoir prédire qu'une part limitée de la richesse en espèces car cette dernière dépend d'autres filtres environnementaux (biogéographie, climat, fragmentation) agissant à d'autres échelles spatiales (ex. biome, paysage), ii) de ne pouvoir rendre compte de la composition des communautés (assemblages d'espèces).

Dans ce volet, nous proposons de réaliser **une approche en trois temps** :

- dans un premier temps, il est proposé de réaliser un recensement des politiques publiques et environnementales susceptibles d'impacter la biodiversité forestière en modifiant la gestion forestière ;
- dans un deuxième temps, sur un sous-échantillon de ces politiques publiques, les modifications de gestion seront précisées pour en tester les effets sur les éléments de composition, structure et dynamique des peuplements forestiers (i.e. variables de réponse) ;
- dans un troisième temps, enfin, une recherche sur les fonctions de liens existantes entre ces variables de réponse (en termes de composition, structure et dynamique) sensibles aux politiques publiques ciblées et la biodiversité de groupes taxonomiques d'intérêts sera

effectuée à partir d'une analyse et synthèse bibliographique. L'objectif est de vérifier si des effets significatifs ou non ont été rapportés dans la littérature.

L'ensemble de cette tâche se concentrera sur l'échelle du peuplement en ayant le souci d'être le plus générique possible et d'embrasser l'étendue géographique la plus large possible afin de proposer des résultats valables pour la France entière. La problématique du changement climatique sera indirectement prise en compte *via* les politiques publiques associées. Outre les trois temps forts énoncés ci-dessus, cette tâche intégrera des éléments de méthodologie en abordant les complémentarités ou antagonismes entre approches directes et indirectes de mesure de la biodiversité et en abordant également la quantification des variables d'intérêt.

## Exposé de la proposition

### **5.2 Objectifs**

#### ***5.2.1 Identification des complémentarités écologiques et méthodologiques entre les approches indirectes et directes d'évaluation de la biodiversité***

Cela inclut les éléments pratiques de mises en œuvre (ex. compatibilité et incompatibilité de mise en œuvre des protocoles de mesure sur un même site).

#### ***5.2.2 Recensement des politiques publiques ayant des effets sur la gestion forestière.***

Deux grands types de politiques publiques seront pris en compte : celles qui visent explicitement la protection de la biodiversité (ex. Natura 2000 ; réserves biologiques ; îlots de sénescences, trame verte) et celles susceptibles d'influencer de manière significative la biodiversité sans la cibler (ex. bois énergie, adaptation au changement climatique, usages du sol).

#### ***5.2.3 Influence des politiques publiques sur la gestion forestière et modifications induites sur la structure, composition et dynamique des peuplements forestiers***

Sur un sous-échantillon des politiques publiques recensées dans l'objectif 1 (à définir en lien avec les tâches A et B), traduire leurs conséquences en terme de gestion forestière et les modifications induites en termes de structure, composition et dynamique des peuplements forestiers.

Cette traduction pourra éventuellement être déclinée par grands bassins de production ou grands domaines bioclimatiques si cela s'avère pertinent.

#### ***5.2.4 Liens entre variables de structure, de composition et de dynamique sensibles aux politiques publiques et diversité des groupes taxonomiques***

Il s'agit des groupes taxonomiques d'intérêt définis dans la Tâche. Cette étape vise à apporter des éléments objectifs supplémentaires pour la sélection des variables d'intérêt.

#### ***5.2.5 Recherche de pistes de méthodologies pour quantifier ces variables de structure, de composition et de dynamique des peuplements forestiers.***

Ce travail devra se faire en lien avec la tâche E.

### 5.3 Etudes

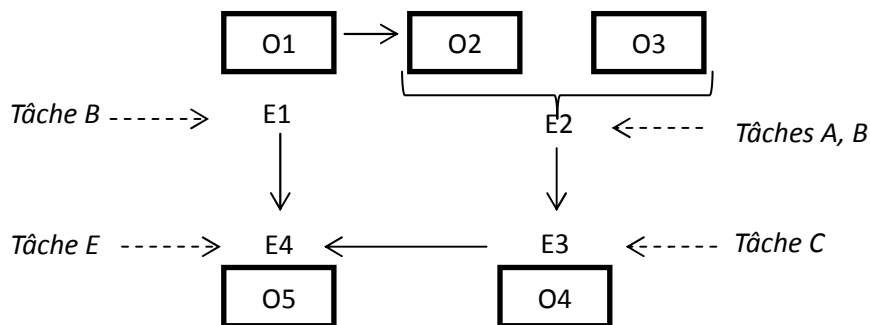
**Etude 1 :** Un **séminaire de travail** sera organisé avec les partenaires et des chercheurs invités pour identifier les complémentarités écologiques et méthodologiques ainsi que les contraintes entre les mesures directes et indirectes de biodiversité (objectif 1). La réflexion s'appuiera sur des exemples concrets de dispositifs ayant abordé les deux types de mesure de manière simultanée et qui ont détecté des effets significatifs de variables indirectes (ex. GNB). Un tel séminaire pourrait être organisé en synergie avec le programme BGF animé par le GIP Ecofor afin de bénéficier de l'expertise des chercheurs impliqués dans ce programme.

**Etude 2 :** Le recensement des politiques publiques, de leur déclinaison et de leur mise en œuvre concrète dans les domaines biogéographiques, bassins de production ou territoires sera effectué par un master professionnel II (objectif 2). Un **séminaire de travail** sera ensuite organisé avec les partenaires et des experts invités pour sélectionner les plus pertinentes. Seront alors précisés les effets potentiels d'un sous-échantillon de ces politiques publiques sur la gestion sylvicole des peuplements forestiers (objectif 3).

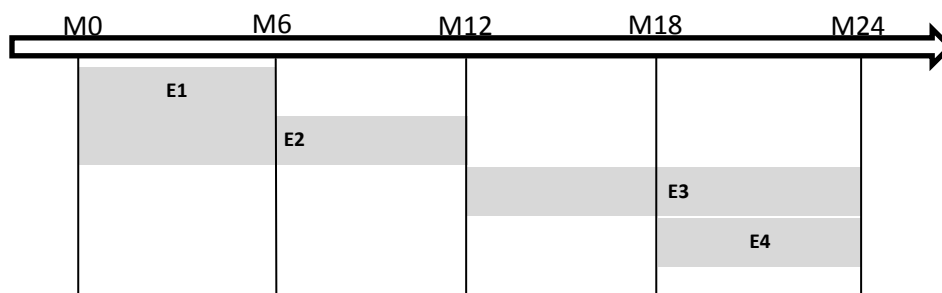
**Etude 3 :** Une **synthèse bibliographique** des liens entre variables de composition, de structure et de dynamique et la biodiversité des taxons d'intérêt définis dans la tâche C sera réalisée (objectif 4). Cette synthèse sera effectuée par un CDD transversal aux différentes tâches du projet avec l'appui des chercheurs impliqués dans la tâche C et la tâche D. Les variables identifiées seront mise en regard des effets des politiques publiques sur la structure et la dynamique des peuplements (cf. Etude 2).

**Etude 4 :** Une analyse des contraintes et coûts des méthodologies de suivi des variables indirectes d'intérêt sera effectuée par un master II en lien avec la tâche E (intégration du design du dispositif de suivi). Cette analyse intégrera les réflexions issues de l'étude Etude 1.

**Organisation de la tâche, et lien avec les autres tâches** (O : objectif E : Etude)



**Calendrier**



## Références

- Bonhême I. 2012. Les indicateurs écologiques de biodiversité forestière : questions introductives. Dans « Les indicateurs de biodiversité forestière : synthèse des réflexions issues du programme de recherche «Biodiversité, gestion forestière et politiques publiques», coordonné par C. Nivet, I. Bonhême et J.-L. Peyron, Paris, Gip Ecofor-MEDDE, pp. 21-39.
- Cordonnier T., Dreyfus P., Trouvé R. 2012. Quelles dimensions et quels indices d'hétérogénéité privilégier pour l'expérimentation dans les peuplements forestiers mélangés ou irréguliers? *Revue forestière française* 64(6), 773-788
- Du Bus De Warnaffe G., Deconchat M., 2008. Impact of four silvicultural systems on birds in the Belgian Ardenne: Implications for biodiversity in plantation forests. *Biodiversity and Conservation* 17, 1041-1055
- Duguid M.C., Ashton M.S. 2013. A meta-analysis of the effect of forest management for timber on understory plant species diversity in temperate forests. *Forest Ecology and Management* 303:81-90
- Franc A., Gourlet-Fleury S., Picard, N. 2000. Une introduction à la modélisation des forêts hétérogènes. ENGREF, 312p.
- Gao, T., Hedblom, M., Emilsson, T., Nielsen, A.B., 2014. The role of forest stand structure as biodiversity indicator. *Forest Ecology and Management* 330, 82-93.
- Gao T., Nielsen A.B., Hedblom M. 2015. Reviewing the strength of evidence of biodiversity indicators for forest ecosystems in Europe. *Ecological Indicators* 57, 420-434
- Lassauce A., Larrieu L., Paillet Y., Lieutier F., Bouget C., 2013. The effects of forest age on saproxylic beetle biodiversity: Implications of shortened and extended rotation lengths in a French oak high forest. *Insect Conservation and Diversity* 6:396-410
- Lassauce A., Paillet Y., Jactel H. Bouget C. 2011. Deadwood as a surrogate for forest biodiversity: Meta-analysis of correlations between deadwood volume and species richness of saproxylic organisms. *Ecological Indicators* 11, 1027-1039
- Pan Y., Birdsey R.A., Phillips O.L., Jackson R.B. 2013. The structure, distribution, and biomass of the world's forests. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 44, 593-622
- Pommerening A. 2002. Approaches to quantifying forest structures. *Forestry* 75, 305-324.
- Zilliox C., Gosselin F. 2014. Tree species diversity and abundance as indicators of understory diversity in French mountain forests: Variations of the relationship in geographical and ecological space. *Forest Ecology and Management* 32, 105-116.

## 6. Tâche E - Mesures, échantillonnage, analyses statistiques

### Responsable/Coordinateur scientifique de la tâche

- Frédéric Gosselin, Ingénieur en Chef des Ponts, des Eaux et des Forêts - Chercheur en écologie forestière et biométrie à Irstea, Irstea - UR EFNO - Domaine des Barres - F-45290 Nogent-sur-Vernisson, 02 38 95 03 58, [frederic.gosselin@irstea.fr](mailto:frederic.gosselin@irstea.fr)

### Partenaires de la tâche projet

- Irstea Nogent-sur-Vernisson : Frédéric Gosselin & Frédéric Archaux
- MNHN : Romain Julliard
- IGN Nogent-sur-Vernisson : François Morneau
- INRA Avignon : Pascal Monestiez

## DESCRIPTIF DE LA TACHE

### 6.1 Justification de la proposition

Le projet PASSIFOR-2 a pour objectif de fournir des maquettes de suivis de biodiversité en forêt afin de fournir de meilleures informations sur l'état et la dynamique de la biodiversité en forêt et sur ses liens avec la gestion et les politiques publiques, notamment forestières. La tâche E a pour objectif de fournir les éléments relatifs à l'échantillonnage (où faire les relevés de biodiversité), à la mesure (comment relever la biodiversité) et à l'analyse des données de biodiversité.

Les objectifs même retenus par PASSIFOR-2 impliquent que les maquettes de biodiversité sur lesquelles nous travaillerons incluent un ou des dispositifs de type surveillance – dans lesquels aucune hypothèse n'est faite a priori dans la manière de concevoir le suivi sur les causes des dynamiques de la biodiversité<sup>14</sup> – et des dispositifs ciblés – conçus autour d'une hypothèse sur la ou les causes des dynamiques de biodiversité<sup>15</sup>. Notre tâche dépasse de ce point de vue le débat académique sur les intérêts relatifs de ces deux approches (Nichols & Williams, 2006 ; Boutin *et al.*, 2009 ; Lindenmayer & Likens, 2010 ; Haughland *et al.*, 2010 ; Haughland *et al.*, 2010 ; Wintle *et al.*, 2010). PASSIFOR-2 s'oriente plutôt vers une construction mixte, adaptative (Lindenmayer & Likens, 2009; Lindenmayer *et al.*, 2011) qui dépendra pour partie des objectifs du dispositif. La construction s'appuie notamment sur deux synthèses parues dans les années 2000 (Vos *et al.*, 2000; Yoccoz *et al.*,

---

<sup>14</sup> Par exemple pour la Maquette 1 : suivi de la biodiversité (de quelques taxons) en forêt à l'échelle la France métropolitaine (cf. Tâche A).

<sup>15</sup> Par exemple pour les objectifs liés aux maquettes suivantes (cf. Tâche A) :

Maquette 2 : suivi de la biodiversité (quelques taxons) à l'échelle de la France métropolitaine **en forêt exploitée (ou non protégée) versus en forêt non-exploitée (ou protégée (RBI / Natura 2000))** ; le différentiel pourrait constituer un indicateur de gestion durable pour le critère biodiversité,

Maquette 3 : suivi de biodiversité en lien avec une politique publique forestière non zonale<sup>15</sup> mais aux effets potentiellement différenciés ; suivi et évaluation de cette politique (ex : bois énergie ?),

2001) qui ont guidé le contenu de cette tâche, du séminaire organisé en août 2014 dans le cadre du projet PASSIFOR<sup>16</sup>) et des discussions/réunions qui ont eu lieu au cours du montage de ce projet.

## **Exposé de la proposition**

### **6.2 Objectifs et résultats attendus.**

Le travail de cette tâche s'articulera autour de 5 livrables (numérotés E1 à E5) qui ont chacun leurs objectifs : il s'agit de 4 rapports et d'une participation à une possible tournée internationale. Les études E2 à E4 seront mises en œuvre autour des Objectifs 1 à 3 de la tâche A (cf. notes de bas de page 14 et 15) :

- 1 : dynamique de métriques de biodiversité au niveau métropolitain ;
- 2 : dynamique de métriques de biodiversité dans différents contextes en métropole – avec ici une focalisation sur les réserves intégrales (Gosselin *et al.*, 2012), sur les zones ou habitat Natura 2000 (Pellissier *et al.*, 2013) et sur différents contextes sylvicoles, de propriétés, stationnels qui pourraient être intéressants en termes de rapportage (Hamza *et al.*, 2007) ;
- 3 : actes de gestion ou politique publiques identifiées avec la tâche D). Pour le cas plus spécifique de l'étude E4, des modèles statistiques impliquant les indicateurs IGD (Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, 2011) ou de biodiversité forestière de l'ONB seront aussi pris en compte (<http://indicateurs-biodiversite.naturefrance.fr/thematiques/biodiversite-foret>).

D'autres livrables plus académiques pourront être réalisés mais ne sont pas identifiés pour le moment (articles scientifiques, participation à des colloques et/ou organisation de sessions).

### **6.3 Synthèse et veille bibliographique**

Il s'agit ici de réaliser une synthèse bibliographique en début de projet pour traiter une partie des thématiques et commencer à défricher les thématiques des livrables (études 6.4 à 6.6). Nous avons identifié les points suivants comme étant déterminants pour la mise en place de suivis de biodiversité.

#### **6.3.1 Métriques de biodiversité visées**

C'est un point qui a émergé comme important lors du séminaire d'août 2014. De fait, les travaux que nous connaissons sur le sujet utilisent des métriques variées : indices de diversité ; indices de similarité ; abondance d'espèces ; moyenne géométrique d'abondance ; ... En plus de la métrique elle-même, il faudra bien distinguer les approches qui visent à estimer la métrique à un moment donné des approches davantage basées sur la variation de la métrique dans le temps ou l'espace. Certaines de ces métriques – couplées à la manière dont les données sont récoltées – sont inutilisables ou difficilement utilisables dans des dispositifs qui n'ont pas été prévus pour cela (par exemple la métrique du STOC pour des dispositifs sans placettes permanentes). Il s'agira ici de faire une synthèse des métriques proposées, je proposer un choix raisonné pour les dispositifs PASSIFOR et d'en tirer les conséquences pratiques. Ces métriques seront reliées aux Variables Essentielles de Biodiversité (EBVs ; Pereira *et al.*, 2013), qui ont le mérite de mieux définir les différents types de

---

<sup>16</sup> <https://drive.google.com/file/d/0B218VGCYhGR5czM5NDdfUFZxZU0/view?usp=sharing>

quantités élémentaires sous-jacentes à la notion de biodiversité. On apportera un soin particulier dans cette synthèse à analyser les métriques les plus utilisées dans la sphère publique et celles proposées ou utilisées dans la recherche, ainsi que celles liées aux suivis mono-taxons et celles liées aux suivis multitaxons (et les travaux qui proposent des ponts entre les deux ; cf. par exemple McCarthy *et al.*, 2014).

### **6.3.2 Approches statistiques "Model-based" vs "design-based"**

Le débat entre approche par les modèles statistiques – où une forme de modèle probabiliste de la variable d'intérêt est utilisée – et l'approche par le design – où seules les probabilités de choix des échantillons sont utilisées – de la conception de plans d'échantillonnage et de l'estimation est ancien mais toujours d'actualité (Brus & De Gruijter, 1993; Grégoire, 1998; de Gruijter & ter Braak, 1992, McRoberts, 2006 ;Albert *et al.*, 2010). L'approche sous-jacente à PASSIFOR, qui cherche à coupler des dispositifs planifiés avec des dispositifs non-planifiés, devrait nécessiter des modèles statistiques au moins dans la phase d'analyse des données. Il s'agira ici de faire le point sur ce débat dans le contexte de PASSIFOR, d'en tirer les conséquences pratiques.

### **6.3.3 Données de variables explicatives bruitées dans le cadre des modèles statistiques**

Il s'agira ici de faire le point, à la fois en termes de protocole de mesure et d'analyse, sur la prise en compte de variables explicatives bruitées (par exemple Chapitre 10.3 dans Legendre & Legendre, 1998), où la variable explicative intégrée dans un modèle statistique n'est plus considérée comme connue parfaitement mais comme entachée d'erreur. En effet, si le « vrai » modèle reliant une variable de biodiversité à une variable dendrométrique implique une variable dendrométrique calculée à large échelle (par exemple 0.5 ha) et que la variable dendrométrique disponible n'est mesurée qu'à 0,1 ha, le coefficient estimé avec la dernière variable sera biaisé par rapport au vrai coefficient. Ce point apparaît important pour joindre cette tâche E avec la tâche D sur les variables écologiques. On pourra se documenter sur des méthodes utilisées dans d'autres disciplines (par exemple économie), avec en ligne de mire des modèles non-linéaires ou linéaires généralisés.

### **6.3.4 Quelle organisation pour l'analyse et la "valorisation" des données?**

Il s'agit d'un des points faibles fréquent des suivis (Vos *et al.*, 2000). Il est donc important de faire le point sur les structures mises en place sur le sujet. C'est un point d'autant plus important que le projet PASSIFOR-2 s'oriente vers l'utilisation intensive de modèles statistiques. Encore davantage que les autres points traités, cette réflexion devra être menée en lien avec le reste du projet et notamment les tâches A et B.

### **6.3.5 Identification de cas étrangers ou d'autres domaines à prendre en compte**

Ce travail sera surtout bibliographique. On se basera d'abord sur les synthèses et ouvrages existants sur les différents sujets avant d'aller voir les articles les plus pertinents. Ce travail s'étalera sur environ 6 mois et s'accompagnera de la mise en place d'alertes bibliographiques. Il sera effectué par les responsables des études pour les parties 6.4 à 6.6 et par les personnes de l'équipe projet qui le souhaitent pour le reste.



## **6.4 Aspects liés à la mesure notamment de biodiversité**

(observateur, détection, archivage, positionnement...)

Ce point est apparu comme important lors du séminaire d'août 2014. Certains questionnements sont partagés avec la tâche C sur le choix de taxons et la manière de les échantillonner (et en partie avec les parties 6.5 et 6.6 suivantes). Seront ici traités les problèmes de mesure liés aux protocoles (ex : fréquence des passages), l'archivage des données quand c'est nécessaire (cas d'échantillons qui bénéficieraient de nouvelles méthodes dans le futur). Mais le point principal aura trait à la prise en compte de la qualité de l'observation – et potentiellement de l'observateur – et à la détection des espèces – avec un accent mis sur une probabilité de détection ou une qualité de la mesure qui serait variable entre milieux ou dans le temps (par ex. Archaux *et al.*, 2012). Cette prise en compte pourra se faire à travers des mesures complémentaires (relevés de référence ou relevés multiples sur une partie des placettes) et/ou dans l'analyse des données.

Cette étude sera encadrée par Frédéric Archaux (Irstea Nogent sur Vernisson) et nécessitera un stage d'élève ingénieur ou de Master 2, en concertation avec les autres responsables de tâche pour déterminer les questions prioritaires.

## **6.5 Aspects échantillonnages utiles pour PASSIFOR**

Les choix en terme d'échantillonnage sont fondamentaux pour la qualité des résultats des suivis (Vos *et al.*, 2000, Yoccoz *et al.*, 2001), Vos *et al.* (2000) désignent même l'échantillonnage comme le cœur méthodologique du suivi. En forêt, quelques exemples de suivi pêchent sur ce plan-là (cf. Ferretti & Chiarucci, 2003 pour le cas du suivi Européen forestier de niveau II) ; il en était de même pour le début des suivis des oiseaux communs (Freeman *et al.*, 2007) et des questions du même types se posent pour le Living Planet Index (Loh *et al.*, 2005, Lughadha *et al.*, 2005). Un des choix a priori de PASSIFOR est de fonder le suivi sur une partie de l'échantillonnage qui soit planifié, mais d'essayer d'y adjoindre autant que possible des informations venant d'autres dispositifs. De plus, une partie de l'échantillon planifié pourrait être stratifié – par exemple en fonction des questions de gestion ou de politiques publiques posées. Les questions abordées dans cette étude sont issues de ce choix et comprennent (voir aussi 6.6) :

- (i) la place des strates dans l'échantillon en fonction notamment de la possibilité que certaines strates soient non constantes dans le temps (cf. Boutin *et al.*, 2009) ; place de la post-stratification ;
- (ii) la place des placettes permanentes dans l'échantillon – en lien avec les niveaux de variabilité spatio-temporelle (e.g. Rhodes & Jonzén, 2011), avec les métriques de biodiversité choisies et les méthodes d'analyse, et avec les strates et leur permanence (e.g. possibilité qu'une placette permanente en forêt devienne non-forestière au fil du temps) ;
- (iii) le couplage entre différents dispositifs de différentes façons : il s'agira ici de tester empiriquement la capacité à réunir les placettes des dispositifs suivant différents découpages (par exemple, les placettes en forêt, les placettes dans différents types de forêt...). On utilisera ici les données réelles de certains dispositifs. On étudiera par ailleurs différentes caractéristiques de ces échantillons.

Cette étude sera encadrée par Romain Julliard (MNHN) et nécessitera un stage d'élève ingénieur ou de Master 2. Elle se fera sur base bibliographique mais aussi, sur base de ce qui est fait dans les réseaux existants. L'approche se fondera a priori sur des modèles statistiques en visant une philosophie de robustesse statistique plutôt que d'optimisation. Enfin, une coordination sera à faire avec la tâche C sur le nombre de placettes (volet coût des relevés de différents taxons).

### ***6.6 Aspects d'analyses statistiques***

Le projet PASSIFOR-2 a deux caractéristiques qui nécessiteront de bien réfléchir aux analyses statistiques menées. D'abord, il vise à intégrer des dispositifs de collectes de données hétérogènes. Cela implique de modéliser cette hétérogénéité dans le modèle statistique même. Ce travail se fera en lien avec les groupes de statisticiens et écologues se penchant sur l'analyse de données de biodiversité de sciences participatives. L'idée est à la fois d'essayer d'intégrer ces données hétérogènes dans le modèle statistique et d'essayer de mettre en place des outils de diagnostic du modèle permettant de statuer quand le regroupement des données est acceptable ou non. Notamment, si les données « non représentatives » sont trop incohérentes avec les tendances observées sur les données représentatives, on ne gardera dans les modèles que les dernières.

Ensuite, PASSIFOR-2 souhaite analyser le lien entre gestion/politiques publiques et biodiversité. Il s'agira ici sur quelques cas de figure de mettre en place des formes d'analyse statistique de ces relations. On pourra axer ces modèles sur des « pressions » pesant sur la biodiversité et sur les réponses prises par la société (ex : Natura 2000 ; réserves). Il s'agira de hiérarchiser ces « pressions » et aussi de mettre en place un travail sur les indicateurs de biodiversité à l'intérieur du suivi, pour jauger l'intérêt de remplacer les mesures de biodiversité aux échelles locales par des mesures de ces indicateurs. Les politiques publiques/gestions analysées seront inspirées du travail de la tâche D sur le sujet.

Enfin, les analyses devront intégrer les résultats des analyses précédentes de la tâche E, notamment relatives à la mesure (Etude 2) et aux métriques (Etude 1).

Les outils utilisés dans cette tâche prendront en compte la possibilité d'autocorrélation spatio-temporelle des données, c'est-à-dire d'une forme de dépendance probabiliste dans le temps et dans l'espace. Un travail spécifique peut être par simulation sera mené sur les conséquences du « floutage » des positions géographiques des relevés – en prenant comme exemple le cas des relevés actuels de l'inventaire forestier – sur les résultats de certains des modèles statistiques.

Cette étude sera encadrée par Frédéric Gosselin (Irstea Nogent-sur-Vernisson) et nécessitera un stage d'élève ingénieur ou de Master 2. Elle se fera sur base bibliographique mais aussi éventuellement en analysant des données réelles ou des données simulées.

En complément des tâches décrites en parties 6.3 à 6.6, un personnel temporaire en séjour post-doctoral sera mobilisé pour compléter une ou plusieurs des tâches précédentes suivant les bilans effectués avec la tâche A et les autres tâches.

### ***6.7 Contacts avec d'autres organismes français et étrangers***

En parallèle du travail effectué, des contacts seront pris par l'équipe projet sous forme d'entretiens avec des collègues d'autres domaines qui pourraient nourrir notre réflexion (ONEMA et collègues en

lien avec la DCE ; peut-être INSEE ; observatoire des pratiques agricoles...). Ce travail sera restitué dans l'étude E5.

Enfin, il est prévu qu'une ou deux personnes participent à une ou deux missions à l'étranger (suivant le résultat de la Tâche en partie 6.3 notamment, avec d'autres)

## Calendrier d'exécution et échéancier des livrables

### Organisation dans le temps :

- 0-> 6 mois: Tâche 6.3
- 6 mois: à l'issue, réunion de l'équipe projet pour avaliser les thèmes traités plus en détail puis aux autres tâches PASSIFOR
- 6 mois -> 16 mois: veille Tâche 6.3; Tâches 6.4 à 6.6; + participation aux réunions de concertation avec autres Tâches (notamment B, C, D)
- 12 et 18 mois : réunion de l'équipe projet pour suivre le projet et prévoir des contacts extérieurs
- 16 mois-> 24 mois: Complément des tâches 6.3 à 6.6 par le post-doc, Tâche 6.7 + participation aux réunions de concertation avec autres Tâches (notamment B et A)

## Références

Albert C. H., Yoccoz N. G., Edwards T. C., Graham C. H., Zimmermann N. E. *et al.*, 2010. Sampling in ecology and evolution - bridging the gap between theory and practice. *Ecography*, 33(6), 1028-1037.

Archaux F., Henry P. Y. and Gimenez O., 2012. When can we ignore the problem of imperfect detection in comparative studies? *Methods in Ecology and Evolution*, 3(1), 188-194.

Boutin S., Haughland D., Schieck J., Herbers J. and Bayne E., 2009. A new approach to forest biodiversity monitoring in Canada. *Forest Ecology and Management*, 258(Supplement 1), S168-S175.

Brus D. J. and De Gruijter J.J., 1993. Design-based versus model-based estimates of spatial means: theory and application in environmental soil science. *Environmetrics*, 4(2), 123-152.

de Gruijter, J. J. and ter Braak C. J.F., 1992. Design-based versus model-based sampling strategies: Comment on R. J. Barnes' "bounding the required sample size for geologic site characterization". *Mathematical Geology*, 24(7), 859-864.

Ferretti M. and Chiarucci A., 2003. Design concepts adopted in long-term forest monitoring programs in Europe - problems for the future? *Science of the Total Environment*, 310(1-3), 171-178.

Freeman S. N., Noble D. G., Newson S. E. and Baillie S. R., 2007. Modelling population changes using data from different surveys: The Common Birds Census and the Breeding Bird Survey. *Bird Study*, 54(1), 61-72.

Gosselin, F., Gosselin M. and Paillet Y., 2012. Suivre l'état de la biodiversité forestière : pourquoi ? comment ? *Revue forestière française*, 64(5), 683-700.

Grégoire, T. G., 1998. Design-based and model-based inference in survey sampling: Appreciating the difference. *Canadian Journal of Forest Research*, 28(10), 1429-1447.

Hamza N., Boureau J. G., Cluzeau C., Dupouey J. L., Gosselin F. *et al.*, 2007. Evaluation des indicateurs nationaux de biodiversité forestière, Inventaire Forestier National, Nogent-sur-Vernisson, France.

Haughland, D. L., Hero J. M., Schieck J., Castley J. G., Boutin S. *et al.*, 2010. Planning forwards: biodiversity research and monitoring systems for better management. *Trends in Ecology and Evolution*, 25(4), 199-200.

Haughland D. L. *et al.*, 2010. Why resist real solutions for biodiversity research and monitoring? *Trends in Ecology & Evolution*.

Legendre P. and Legendre L., 1998, Numerical Ecology (). Elsevier, Amsterdam.

Lindenmayer D. B., Likens G. E., Haywood A. and Mieziš L., 2011. Adaptive monitoring in the real world: Proof of concept. *Trends in Ecology and Evolution*, 26(12), 641-646.

Lindenmayer D. B. and Likens G. E., 2010. Improving ecological monitoring. *Trends in Ecology and Evolution*, 25(4), 200-201.

Lindenmayer, D.B. and Likens G.E., 2009. Adaptive monitoring: a new paradigm in long-term studies. *Trends in Ecology and Evolution*(24), 482-486.

Loh, J., Green R. E., Ricketts T., Lamoreux J., Jenkins M. *et al.*, 2005. The Living Planet Index: using species population time series to track trends in biodiversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-biological Sciences*, 360(1454), 289-295.

Lughadha E. N., Barthlott W., Brummitt N. A., Cheek M. R., Farjon A. *et al.*, 2005. Measuring the fate of plant diversity: towards a foundation for future monitoring and opportunities for urgent action. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-biological Sciences*, 360(1454), 359-372.

McCarthy M. A., Moore A. L., Krauss J., Morgan J. W. and Clements C. F., 2014. Linking Indices for Biodiversity Monitoring to Extinction Risk Theory. *Conservation Biology*, 28(6), 1575-1583.

McRoberts R. E., 2006. A model-based approach to estimating forest area. *Remote Sensing of Environment*, 103(1), 56-66.

Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, 2011. Les indicateurs de gestion durable des forêts françaises métropolitaines - Edition 2010, MAP, Paris.

Nichols, J. D. and Williams B. K., 2006. Monitoring for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 21(12), 668-673.

Pellissier V., Touroult J., Julliard R., Sibley J. P. and Jiguet F., 2013. Assessing the Natura 2000 network with a common breeding birds survey. *Animal Conservation* , 16(5), 566-574.

Pereira H. M., Ferrier S., Walters M., Geller G. N., Jongman R. H.G. *et al.*, 2013. Essential biodiversity variables. *Science*, 339(6117), 277-278.

Rhodes J. R. and Jonzén N., 2011. Monitoring temporal trends in spatially structured populations: how should sampling effort be allocated between space and time? *Ecography*.34(6):1040-1048.

Vos P., Meelis E. and Ter Keurs W. J., 2000. A framework for the design of ecological monitoring programs as a tool for environmental and nature management. *Environmental Monitoring and Assessment*, 61(3), 317-344.

Wintle B. A., Runge M. C. and Bekessy S. A., 2010. Allocating monitoring effort in the face of unknown unknowns. *Ecology Letters*, 13(11), 1325-1337.

Yoccoz N. G., Nichols J. D. and Boulinier T., 2001. Monitoring of biological diversity in space and time. *Trends in Ecology and Evolution*, 16(8), 446-453.

## 7. Besoins financiers pour conduire le projet PASSIFOR-2

NB Le détail pour les différentes tâches est disponible auprès des coordinateurs

<u>Tâches</u>	<u>A</u>	<u>B</u>	<u>C</u>	<u>D</u>	<u>E</u>	<u>total</u>
<b>Coordination</b>	Ecoforc &Irstea	Irstea & Ecofor	Irstea &MNHN	Irstea &INRA	Irstea	
<b>Coûts en euros</b>						
1 <b>Coût direct Personnel permanent</b> (salaires publics)	47412	37946	37930	79041	69538	271867
2 <b>Coûts directs de personnel temporaire</b> (stagiaires M2 / école ing. et CDD)	36000	12000	27324	31572	29972	136868
3 <b>Autres coûts directs</b> (fonctionnement, déplacements, missions)	10000	8000	10000	8000	6000	42000
4 <b>Coûts indirects</b> (tarifs Irstea) (frais d'environnement et généraux)	40756	32605	32605	67889	58776	232631
<b>Coût total du projet (1-4)</b>	134168	90551	107859	186502	164286	<b>683366</b>
<b>Coût total du projet hors coûts de personnel</b>	86756	52605	69929	107461	94748	<b>411499</b>
<b>Financement demandé</b>	50000	30000	40000	40000	40000	<b>200000</b>
<b>Autofinancement organismes</b>	36756	22605	29929	67461	54748	211499

Le coût total du projet s'élève à environ 680 000 euros, dont 411 000 euros hors personnel.

Le financement sollicité est de 200 000 euros, l'autofinancement des organismes s'élevant à 211 000 euros.

