MINISTÈRES
TRANSITION ÉCOLOGIQUE
AMÉNAGEMENT DU TERRITOIRE
TRANSPORTS
VILLE ET LOGEMENT

Liberté
Égalité
Fraternité

ADEME
AGENCE DE LA TRANSITION ÉCOLOGIQUE

Journées 2026 • ITTECOP
Infrastructures, territoires, transports, énergies, écosystèmes et paysages

biotope

Mammif'Air - Méthode innovante pour étudier la fonctionnalité des passages à faune des infrastructures linéaires à partir de l'ADNe de l'air

Mise en œuvre et validation d'un protocole basé sur les outils moléculaires (ADN de l'air) pour étudier les passages à faune

Responsables scientifiques : Kim EUSTACHE, Baptiste FAURE, Suzon BEDU · bfaure@biotope.fr · kim.eustache@biotope.fr

Organismes : Biotope (porteur), SGS · Financement : programme ITTECOP, MTECT et ADEME, via la FRB

Projet exploratoire ITTECOP (2024) · 2025–2026 · terrain: été 2026

1 RÉSUMÉ

Les gestionnaires d'infrastructures linéaires de transports (autoroutes, voies ferrées…) doivent démontrer l'efficacité de leurs passages à faune (SNB 2030, doctrine ERC). Les méthodes conventionnelles (pièges photo et leurs variantes, pièges à empreintes, protocoles par groupe) sont longues et ciblées : aucune ne donne en une fois la diversité des espèces qui empruntent l'ouvrage. **Mammif'Air est un projet exploratoire, une preuve de concept :** l'ADN environnemental (ADNe) et le séquençage à haut débit (NGS) permettent-ils de suivre un passage à faune ? En juin 2026, nous avons prélevé l'ADNe de l'air, des surfaces et d'indices biologiques dans deux passages à faune inférieurs de l'A65 à Bazas (33, concession A'liénor), analysé par le GBC (Global Biosciences Center), laboratoire de SGS, avec trois marqueurs, puis vérifié par BLAST et validé par un écologue. **L'ADNe a identifié 323 taxons d'animaux sauvages, dont 309 espèces, parmi lesquels 30 vertébrés, dont 13 mammifères.** Les données locales de la Fédération des chasseurs de la Gironde (pièges photo, 2025–2026) ont offert une validation inattendue : l'ADNe retrouve 11 des 12 vertébrés connus et en ajoute 19.

2 CONTEXTE ET ENJEU

Une obligation réglementaire

La SNB 2030 (engagement COP15) cible les « points noirs » de fragmentation liés aux infrastructures de transport ; les mesures ERC imposent d'évaluer l'efficacité des passages à faune.

Des méthodes conventionnelles chronophages, avec des angles morts

Pièges photo : des mois de pose, un relevé par mois, des milliers de clichés à vérifier. Déclenchés par la chaleur et le mouvement, ils ne voient pas les espèces à sang froid (amphibiens, reptiles, insectes) et détectent ou identifient mal les micromammifères, les mustélidés et chauves-souris. Les variantes (pièges photo modifiés, pièges à empreintes, enregistreurs d'ultrasons) ciblent un nombre restreint de groupes taxonomiques. Le matériel laissé *in situ* fait souvent l'objet de vol ou de dégradation.

3 OBJECTIFS ET QUESTIONS

Objectif : mettre en œuvre et valider un protocole basé sur les outils moléculaires (ADN de l'air) pour étudier les passages à faune.

- **Q1** **Les méthodes innovantes basées sur les outils moléculaires peuvent-elles être mobilisées pour suivre les passages à faune ?**
- **Q2** **Ces approches sont-elles restreintes à un groupe taxonomique (ex. les mammifères) ou offrent-elles une vision large des espèces présentes ?**
- **Q3** **Comment juger de l'efficacité de cette méthode vis-à-vis des méthodes conventionnelles ?**
- **Q4** **Ce monitoring peut-il être déployé à large échelle ?**

4 MATÉRIEL ET MÉTHODES

4.1 Choix de l'aire d'étude : des passages inférieurs



Passage OH 9.1 « Le Toupiey »

Recherche, à l'échelle nationale, de passages à faune inférieurs avec rétablissement hydraulique : l'étape la plus longue, décisive pour la suite.

Site retenu : deux passages inférieurs de l'A65 à Bazas (33), traversés par un ruisseau, éloigné des chemins de randonnée.

- **Entonnoir** — faune canalisée, ADN concentré
- **Abri** — ni pluie ni UV : ADN préservé
- **Air confiné** — l'ADN vient de l'ouvrage
- **Cours d'eau** — milieux diversifiés, corridor écologique

4.2 Prélèvements d'ADNe : trois modalités

- **Air** — aspirateur à ADNe : poils, cellules, poussières en suspension
- **Surfaces** — rouleau à ADNe sur parois et sol
- **Indices biologiques** — collecte opportuniste : fèces, feuilles…

Juillet 2026, une demi-journée, deux passages. Réplicats regroupés par compartiment : 6 échantillons analysés (air et surfaces de chaque passage, végétation P2, fèces P1).

4.3 Analyses moléculaires et validation

Extraction → **PCR** 16S · COI · MarVer → **Séquençage** NGS → **Assignation** MIDORI2 · BLAST → **Validation** par un écologue

NGS (métabarcoding) : des millions de fragments séquencés en parallèle, toutes espèces confondues.
Contrôle : 72 assignations douteuses vérifiées par BLAST (NCBI) ; En cas d'ambiguïté, l'espèce la plus probable (présente en France) a été retenue.

4.4 Comparaison bibliographique et robustesse des résultats

Listes d'espèces identifiées par ADNe confrontées à la bibliographie et aux données locales disponibles : suivi par pièges photo de l'OH 9.1 (FDC 33 pour A'liénor, 2025–2026, 7 547 clichés), dont **juin-juillet 2026, période des prélèvements**. Grille de lecture : les pièges photo permettent de dénombrer les passages d'animaux à sang chaud ; l'ADNe donne une liste d'espèces (qualitatif), ne permet pas d'aborder l'aspect qualitatif (pas d'effectifs, ni la date ou la récurrence de la fréquentation).

5 RÉSULTATS

5.1 Des résultats exhaustifs (Q2)

Objectif atteint : 13 mammifères détectés, dont 7 moyens et grands

- **Chevreuil européen** *Capreolus capreolus* — air, surfaces · P1, P2
- **Sanglier** *Sus scrofa* — air, surfaces, fèces · P1, P2
- **Renard roux** *Vulpes vulpes* — air, surfaces, fèces · P1, P2
- **Blaireau européen** *Meles meles* — surfaces · P1, P2
- **Loutre d'Europe** *Lutra lutra* — air · P2
- **Genette commune** *Genetta genetta* — air · P2
- **Martre ou Fouine** *Martes sp. (BLAST)* — martre probable
- **Écureuil roux** *Sciurus vulgaris* — air, surfaces · P2

4 487 séquences uniques (ASV), 3 marqueurs

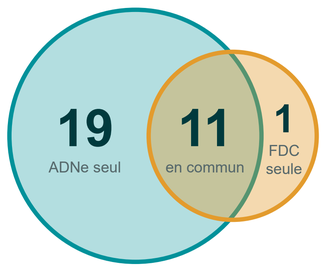
323 taxons d'animaux sauvages, dont 309 espèces

84 % des taxons détectés dans l'air (268 / 318)

Insectes	*Dont 116 diptères, 39 lépidoptères, 34 coléoptères, 24 hémiptères…*	**251**
Vertébrés		**30**
Arachnides		**17**
Collemboles		**9**
Myriapodes		**8**
Annélides, crustacés, mollusques		**8**

- **Chiroptères (n= 2) :** Murin à oreilles échancrées (*Myotis emarginatus*), Pipistrelle commune (*Pipistrellus pipistrellus*)
- **Micromammifères (n= 3) :** Mulot sylvestre (*Apodemus sylvaticus*), Campagnol roussâtre (*Myodes glareolus*), Musaraigne pygmée (*Sorex minutus*)
- **Amphibiens (n= 2) :** Grenouille agile (*Rana dalmatina*), Grenouille verte (*Pelophylax sp.*) : retrouvée par BLAST au genre, l'ADN mitochondrial ne séparant pas les espèces du complexe
- **Reptile (n= 1) :** Lézard des murailles (*Podarcis muralis*)
- **Oiseaux (n= 14) :** Rougegorge familier, Troglodyte mignon, Chouette hulotte, Pigeon ramier, Pouillot véloce, Accenteur mouchet, Martinet noir, Geai des chênes, Canard colvert ; retrouvé par BLAST : Merle noir, Mésange bleue, Mésange à longue queue, Corneille noire, Moineau (*Passer sp.*)

5.2 Comparaison et validation de la méthode (Q3)



92 % des vertébrés connus localement (2025–2026) retrouvés par l'ADNe (11/12)

7/8 le même mois (juin 2026)

+ 19 vertébrés en plus, absents des données locales, dont 13 protégés

Absent de l'ADNe : Ragondin (*Myocastor coypus*). *Martre ou Fouine, Merle noir et Corneille noire sont identifiés par BLAST (absents de la liste SGS).*

6 CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Q1 Oui, il est possible d'exploiter l'ADNe

Des protocoles dédiés (air, surfaces, indices) couplés à des analyses NGS permettent d'exploiter l'ADNe des passages à faune inférieurs, tous compartiments confondus.

Sécurisation du matériel : aucun matériel laissé sur site.

Q2 Vision large, exhaustive

323 taxons issus 8 grands groupes taxonomiques, des insectes au chevreuil.

30 vertébrés dont 13 mammifères et 16 espèces protégés.

Q3 Méthode validée et complémentaire

Efficacité: 11/12 vertébrés connus localement retrouvés en ½ journée. Les pièges photo permettent cependant d'évaluer les effectifs et la fréquentation.
L'écologue, clé de la réussite : déterminant lors des prélèvements sur le terrain + regard critique lors de la validation des listes d'espèces

Q4 Fonctionnel pour les passages inférieurs + pistes de standardisation

Protocole rapide et efficace, matériel léger : déployable en l'état pour suivre les passages inférieurs.

Optimisation et standardisation possible: nombre de réplicats, témoins et marqueurs standardisés.

Limites

- Pas de quantification : ni effectif, ni fréquentation, ni date de passage.
- Erreurs d'identification ponctuelles (bases de référence incomplètes, espèces proches : Martre/Fouine, Grenouilles vertes, Sanglier/porc).
- Etude « Preuve de Concept (PoC): effort d'échantillonnage limité: un passage, une date ;
- Utilisation de marqueurs (MarVer) initialement conçu pour le milieu marin.

Pistes d'amélioration

- Réplicats analysés séparément ; témoins de terrain, d'extraction et de PCR.
- Normaliser gènes et amorces (OE. marqueur dédié aux mammifères ou ciblant un autre groupe).

Perspectives

- Comparaisons temporelles (inter-saisons, interannuelles) et spatiales (différents territoires) ; passages supérieurs vs. inférieurs ou sur d'autres infrastructures linéaires de transport.
- Vitesse de dégradation de l'ADN en conditions réelles encore inconnues.
- Un nouveau projet, plus ambitieux et appuyé sur des statistiques robustes, pour un biomonitoring fiable et réplicable, utile aux maîtres d'ouvrage comme aux services de l'État.

Références : Clare et al. 2022, Curr. Biol. · Lynggaard et al. 2022, Curr. Biol. · Leempoel et al. 2020, Proc. R. Soc. B · Polling et al. 2024, Environ. DNA · FDC/FRCNA 2025, suivi A65. Données pièges photo : FDC 33, pour A'liénor.

Porteur biotope

Partenaire SGS

Financeurs MINISTÈRE DE LA TRANSITION ÉCOLOGIQUE ET DE LA COHÉSION DES TERRITOIRES · ADEME AGENCE DE LA TRANSITION ÉCOLOGIQUE · ITTECOP

Programme ITTECOP
Infrastructures de transport, territoires, écosystèmes et paysages