



**MUSÉUM
D'ORLÉANS**



Diversité génétique de la loutre d'Europe (*Lutra lutra*) en France
Focus sur le Massif central et la région Auvergne
dans le cadre du Plan Régional d'Actions



**Charles Lemarchand, Anne-Laure Geboes, René Rosoux, Eric Hansen,
Yves Boulade et Roland Libois**

2016

Ce rapport est une adaptation reprenant les données, résultats et conclusions, de l'article de synthèse suivant, recentrés sur le périmètre de la région Auvergne avec l'aimable autorisation des co-auteurs :

**Geboes, A.-L., Rosoux, R., Lemarchand, C. Hansen, E. & Libois, R. (2016).
Genetic diversity and population structure of the Eurasian otter (*Lutra lutra*) in France.
Mammal Research DOI 10.1007/s13364-015-0258-5.**

La diffusion des résultats qui suivent devra rester en accord avec les principes de la propriété intellectuelle et scientifique.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Muséum des Sciences d'Orléans pour la collecte, la centralisation et le stockage des échantillons de loutres, les services départementaux (SD) de l'ONCFS (Loire-Atlantique, Vendée, Charente-Maritime, Deux-Sèvres, Gironde, Aveyron, Lot, Lozère, Cantal, Allier, Puy-de-Dôme, Haute-Loire, Loire, Corrèze, Creuse, Vienne, Haute-Vienne, Indre) pour avoir grandement facilité voire permis cette valorisation de spécimens en France, la Ligue pour la Protection des Oiseaux (LPO Vendée, Charente-Maritime, Charente, Pays de la Loire), le Muséum d'Histoire Naturelle de Nantes et M. Didier Monfort, le GREGE, le Parc Interrégional du Marais Poitevin et l'association PRO LUTRA pour leur collaboration active dans le suivi, la collecte et la conservation des loutres mortes. Merci à Willy Dabin (CNRS/Pelagis) pour les analyses odontochronologiques. Pour leurs aides en laboratoires et leurs conseils statistiques, nous remercions tout spécialement Laurent Gohy, Virginie Hutsemeykers et Clotilde Lambinet, Marie-France Larigauderie, Marie-des-Neiges de Bellefroid et Amina Brahimi. Merci à Arnaud Beckers pour la cartographie, ainsi qu'à deux anonymes pour leur relecture et leurs commentaires. Cette étude a été cofinancée par le Muséum des Sciences d'Orléans, la DREAL Poitou-Charentes et la DREAL Auvergne, la direction interrégionale de l'ONCFS Centre-Ile-de-France et Catiche productions.

INTRODUCTION

La recolonisation naturelle de ses anciens territoires par la loutre d'Europe, en Auvergne comme dans le reste de la France, est suivie activement sur le terrain, notamment par la recherche d'indices de présence (épreintes, traces de pas entre autres) ou le recensement des observations directes et des cas de mortalité. En Auvergne, une des premières actions concrètes de la déclinaison régionale du Plan National d'Actions pour la loutre a d'ailleurs été la publication d'une mise à jour de la carte de répartition de l'espèce.

Cette recolonisation naturelle amène les naturalistes et les scientifiques à étudier les populations sources, puis les corridors de dispersion, afin d'évaluer et de quantifier au mieux les dynamiques locales de populations (à l'échelle de sous populations ou de noyaux historiques, de bassins versants ou de régions administratives). L'une des méthodes de suivi est l'analyse génétique effectuée à partir de fèces de loutres (épreintes), ou de tissus, ce second type d'échantillons fournissant des résultats plus fiables. Les méthodes modernes d'analyse génétique (comme l'étude du polymorphisme des microsatellites d'ADN) permettent une identification au niveau individuel, mais aussi l'étude des filiations, ou des dynamiques de populations locales. Selon les échelles géographiques de travail, il est ainsi possible, en théorie (à condition de récolter des échantillons exploitables de l'ensemble des individus), de connaître le nombre d'individus dans une zone donnée, d'établir les modalités de la reproduction (par exemple, nombre de femelles et de jeunes lors d'un cycle annuel), de suivre l'émancipation d'individus en recherche de territoire, d'étudier le déclin éventuel de populations isolées, ou de constater l'arrivée d'individus issus de populations extérieures sur un territoire, signe de brassage des populations. Ce dernier aspect est extrêmement intéressant, dans la perspective d'évaluation de la contribution de certaines populations à la recolonisation globale de la loutre en France, d'étude de la fonctionnalité de corridors biologiques de dispersion, ou d'évolution de la diversité génétique intrinsèque de l'espèce, globalement assez pauvre au sein du continent suite aux dynamiques post-glaciaires.

Le Massif central a longtemps hébergé et abrite encore un des bastions de survie de la loutre en France (l'autre se trouvant sur la façade atlantique), réparti sur une partie des régions administratives du Limousin et de l'Auvergne, et sur les bassins hydrographiques amont de l'Allier, de la Dordogne et de certains de leurs affluents. Ce noyau « continental » s'est considérablement développé, l'ensemble du Massif central géographique étant aujourd'hui quasiment recolonisé, et alimente le mouvement national de répartition, tous azimuts. Cependant, la contribution relative des loutres issues des différents bassins est encore

méconnue, de même que les dynamiques locales. Plusieurs études sont en cours, concernant entre autres le noyau « Atlantique » de la population nationale d'une part, et une partie du noyau « Massif central » d'autre part. Les individus issus du bassin de l'Allier, et par extension de la Loire amont, ne sont pour le moment pas encore étudiés sur cet aspect de diversité génétique.

Ce travail, mené en parallèle d'une étude toxicologique de l'espèce réalisée sur le bassin de la Loire depuis 2004, a donc visé à appréhender la diversité génétique des loutres découvertes en Auvergne, notamment sur le bassin de la Loire, en lien avec l'extension constatée et suivie de cette population vers l'aval (régions Centre, Bourgogne, Pays de la Loire). L'objectif général est d'évaluer la diversité génétique des loutres présentes, de mettre en évidence une dynamique de population, puis, en croisant les résultats avec ceux à venir correspondant à d'autres populations, de mettre en évidence sur le plan génétique le croisement des loutres issues des deux noyaux nationaux de populations. A terme, la diversité génétique de l'ensemble de la population de loutres en France pourrait ainsi être connue.

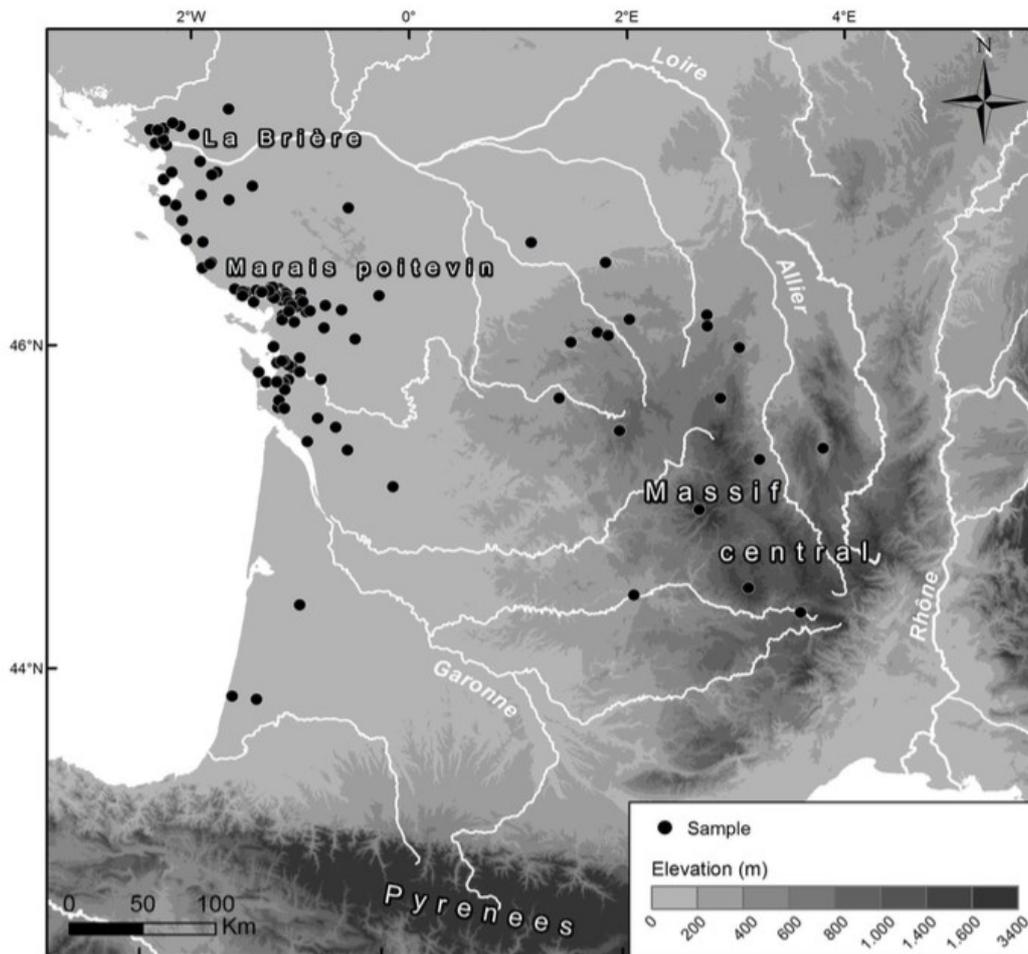
MATERIEL ET METHODES

Echantillonnage des individus

Les échantillons de loutres utilisés pour cette étude ont consisté en des prélèvements de tissu musculaire (généralement issus des membres), prélevés lors des autopsies menées au Muséum d'Orléans, dans le cadre de l'étude toxicologique de la loutre d'Europe coordonnée par VetAgro Sup depuis 2004. Les loutres ont été collectées par un vaste réseau de personnes et de structures réparties au sein du bassin de la Loire et des marais de l'ouest atlantique, coordonnées par l'ONCFS (réseau mammifères du bassin de la Loire) et le Muséum d'Orléans. Les prélèvements ont été effectués à l'aide de matériel stérilisé, et les fragments de tissus ont été conservés soit en éthanol (70° au moins) soit au congélateur.

Des échantillons provenant de 145 loutres ont été utilisés pour cette étude. La grande majorité des individus a été collectée au bord de routes suite à des collisions routières sur la zone d'étude. Sur ces 145 individus, 122 provenaient de la frange nord-ouest de la répartition de l'espèce (bassin de la Loire aval, Marais poitevin, bassin de la Sèvre, côte atlantique), où les densités de populations sont importantes, 16 du Massif central (noyau « continental » de répartition de l'espèce), 2 des marais de la Brenne (un des secteurs de France pouvant être recolonisé par des individus issus des deux principaux noyaux de populations et donc illustrer

leur jonction). A titre comparatif par rapport au bassin de la Loire, 3 individus issus d'Aquitaine (partie sud du noyau atlantique de population) ont également été utilisés. Enfin, pour comparaison, des tissus provenant d'un individu collecté au Maroc lors d'une étude de répartition et de régime alimentaire de l'espèce ont également été utilisés. La carte ci-dessous rassemble les différentes provenances géographiques des individus.



Carte 1. Origine des loutres analysées.

Extraction et amplification

L'analyse a été conduite par l'Unité de Recherches Zoogéographiques de l'Université de Liège (Belgique), sous la coordination du Professeur Roland Libois, la technique et l'analyse des résultats y étant éprouvée depuis plusieurs années, à travers des travaux portant sur la loutre ou encore le vison d'Europe.

A partir des échantillons de tissus, l'extraction de l'ADN a été traitée par un kit Qiagen (Dneasy Tissue kit) suivant les instructions de la firme. La qualité de l'ADN a été contrôlée

avec un spectrophotomètre UV VIS Biospec nano (Shimadzu). Dix microsatellites ont été utilisés pour cette étude : Lut435, Lut604, Lut701, Lut715, Lut717, Lut733, Lut782, Lut818, Lut832 et Lut902. Chaque paire d'amorces a été marquée par fluorescence (6 FAM). Les microsatellites ont été amplifiés dans un volume de 10µl avec 1µl d'ADN (concentration 2µM), les amorces de 2µM et la PCR Master Mix (Qiagen). L'amplification a été réalisée sur un thermocycleur (GeneAmp PCR System 2700 : Applied Biosystems) avec un protocole précis : dénaturation pendant 15 min à 95°C, 40 cycles à 94°C pendant 30s, puis 60°C pendant 90s pour l'hybridation et, finalement, une élongation de 10 min à 72°C.

Analyse des microsatellites

Le logiciel MICROCHECKER version 2.2.3 a été utilisé pour détecter les erreurs de génotypage (allèles nuls, allèles « drop out »). Pour décrire la diversité génétique, le nombre total d'allèles a été utilisé, ainsi que la richesse allélique (le nombre d'allèles par locus : nA), le coefficient de consanguinité (F_{is}) pour l'ensemble des microsatellites en utilisant le logiciel FSTAT version 2.9.3.2. La déviation par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg (HWE), l'hétérozygotie attendue (H_e) et observée (H_o) et le déséquilibre de liaison (LD) ont été estimés avec le logiciel GENEPOP version 4. La correction de Bonferroni a été appliquée.

Par ailleurs, la structure génétique de la population française a été analysée par une méthode de groupement bayésien (logiciel STRUCTURE version 2.3.1.). Elle simule la partition des populations distinctes sur base des génotypes multilocus des individus échantillonnés. Cette méthode utilise la chaîne de Markov par la technique de Monte-Carlo pour diviser l'échantillon en groupes (clusters) où la panmixie est respectée avec une probabilité postérieure maximum. Chaque groupe possède une fréquence allélique particulière et donc une distance par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg : il faut que la distance soit minimisée. Plusieurs simulations ont été réalisées, allant d'un seul ensemble jusqu'à 8 groupes ($1 \leq K \leq 8$). Pour chaque simulation, les paramètres utilisés ont été une période initiale de pré-chauffage de 250000 itérations, suivie de 3.000.000 d'itérations, répété cinq fois afin de vérifier la répétabilité du résultat. La probabilité postérieure a été calculée afin de déterminer la simulation la plus réaliste. Ensuite, chaque individu a été assigné à un des groupes simulés si la probabilité d'y appartenir était d'au moins 80% ($q > 0,8$). Des méthodes statistiques descriptives ont été utilisées afin de comparer les résultats obtenus par l'inférence bayésienne, notamment l'analyse des correspondances multiples à partir des génotypes multilocus (logiciel GENETIX). Le logiciel BOTTLENECK (version 1.2.02.) sera utilisé pour détecter un éventuel goulot génétique dans la population. Nous prendrons plusieurs

hypothèses de modèles de mutation des microsatellites : un modèle avec allèles infinis (MAI), un modèle avec mutation pas à pas (stepwise) (MMS) et modèle avec 2 phases (TPM avec 90% de MMS et avec une variance de 12). La significativité sera testée avec le test de Wilcoxon (séries appariées).

RESULTATS

Structure de l'échantillon

Un total de 145 loutres a été génotypé avec succès avec les 10 microsatellites. La loutre de génotype marocain a seulement été utilisée pour la comparaison avec les loutres issues de France. Les classes d'âge de chaque individu ont été déterminées sur la base d'une inspection visuelle, de la taille et de la masse, et de la morphologie dentaire, en partie contrôlée par analyse odonto-chronologique. Le *sex-ratio* global était de 51% de mâles et 49% de femelles. La structure des classes d'âge rassemblait 100 adultes (55 mâles et 45 femelles), 26 jeunes individus (11 mâles et 15 femelles), 15 sub-adultes (6 mâles et 9 femelles) et 4 loutres d'âge inconnu.

Diversité génétique

La diversité génétique estimée de l'ensemble des échantillons est illustrée dans le tableau 1 ci-dessous. Le logiciel Microchecker n'a pas détecté de décrochage allélique particulier. Cependant, trois marqueurs microsatellites (Lut435, Lut604 et Lut818) ont été caractérisés par une fréquence élevée d'allèles nuls, et les données génotypiques de ces loci n'ont pas été incluses dans l'analyse génétique ultérieure. Tous les loci analysés restants étaient polymorphes. La richesse allélique variait de quatre à six allèles par locus, et le nombre moyen d'allèles était de $A = 4,7$ (tableau 1). Un allèle privé a été trouvé au locus Lut902 dans loutres individuels d'Aquitaine, de la Brenne et du Massif central seulement.

Aucun de loci étudiés ne s'est avéré en déséquilibre de liaison. Les hétérozygoties attendues et observées étaient modérément élevées (respectivement $H_e = 0,62 \pm 0,08$ et $H_o = 0,64 \pm 0,13$) sans écart significatif par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg. Cependant, lors du calcul concernant chaque locus indépendamment, un déficit faible mais significatif d'hétérozygotie a été détecté à deux loci (Lut715 et Lut782), ce qui suggère l'existence d'une structure génétique au sein de la population française, résultant de l'effet de Wahlund.

Locus	A	H_e	H_o	F_{is}
Lut701	6	0,71	0,74	-0,036
Lut715	4	0,58	0,52	0,074*
Lut717	5	0,72	0,69	0,026
Lut733	5	0,59	0,63	-0,063
Lut782	5	0,53	0,52	0,026*
Lut832	4	0,68	0,66	0,036
Lut902	4	0,54	0,73	-0,349
Multilocus	4,7	0,62	0,64	-0,004

Tableau 1: diversité génétique de la loutre d'Eurasie en France, estimée par 7 microsatellites. A : nombre d'allèles par locus ; H_e : Hétérozygotie attendue ; H_o : hétérozygotie observée, F_{is} : coefficient de consanguinité et test de déficit d'hétérozygotie (seuil $p < 0,05$).

Structure génétique de la population

Les statistiques appliquées au groupement bayésien, réalisées avec le logiciel STRUCTURE ont suggéré la présence de deux groupes distincts ($K=2$, voir tableau 2). Avec le modèle LOCPRIOR, un groupe correspond à la sous-population de la côte atlantique et le deuxième groupe correspond au Massif central et à la population de la Brenne (groupe du Centre de la France). Étonnamment, un individu présentant une signature différente a été trouvé dans le groupe de l'Atlantique. Il correspondait à une loutre trouvée morte dans le Marais Poitevin (marais de Vendée), qui pourrait être attribuée au groupe du Centre de la France (Massif central et Brenne) ($q_i = 0,83$).

K	Moyenne $\ln P(K)$	ΔK
1	-3296	-
2	-3249	63.81
3	-3286	3.05
4	-3269	1.24
5	-3285	1.25
6	-3347	2.60
7	-3528	0.70
8	-3653	3.31

Tableau 2 : Résultats de la simulation de regroupement bayésien effectuées sur les génotypes de loutres par le logiciel STRUCTURE. K : nombre de groupes présumés ; Moyenne $\ln P(K)$: valeur moyenne du \ln de la probabilité de K ; ΔK : méthode Evanno (non applicable à $K=1$).

Les deux individus de la Brenne ont été clairement attribués au groupe du Centre de la France (proportion d'adhésion de 92% pour le groupe Brenne prédéfini). Concernant le groupe prédéfini du Massif central, la proportion d'adhésion au groupe du Centre de la France était de 89%.

Enfin, les trois loutres de la région Aquitaine n'ont pu être clairement attribués à l'un ou l'autre des deux groupes simulés, mais semblent être plus proches des loutres du Centre de la France (proportion de l'adhésion de 0,67 au groupe Centre et 0,33 au groupe de la côte atlantique, bien qu'aucun des trois individus n'ait affiché un $q > 0,8$). Il faut toutefois souligner que sans le modèle LOCPRIOR, les échantillons ne peuvent pas être rassemblés en groupes génétiques distincts.

Les résultats de l'analyse factorielle des correspondances sur la base de variations alléliques de sept microsatellites sont présentés sur la figure 1. Le premier axe explique 8,17% de la variance totale et le second 7,81%.

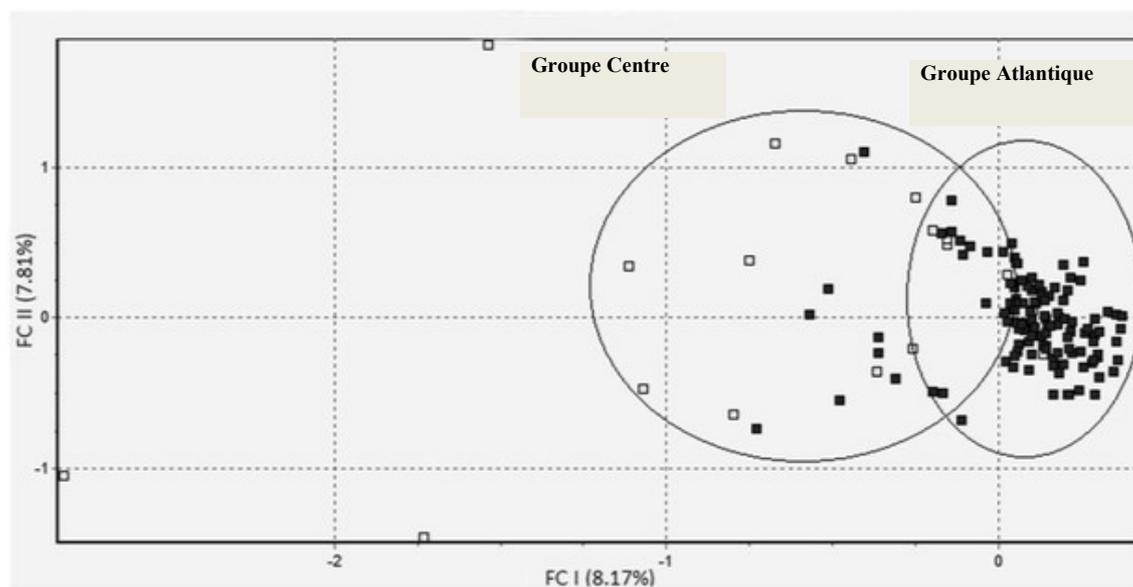


Figure 1. Analyse factorielle des correspondances (AFC) basée sur la variation allélique de 7 microsatellites de la population de loutres de France. Les carrés vides représentent les individus du groupe du Centre de la France (n=18), les carrés sombres représentent ceux issus des zones humides de la côte atlantique (n=122).

L'analyse factorielle des correspondances des génotypes individuels avec le logiciel STRUCTURE selon le modèle LOCPRIOR montre que les deux groupes sont assez génétiquement distincts, mais se recoupent avec un chevauchement d'une partie des groupes issus du groupe du Centre de la France et de l'Atlantique respectivement. Le groupe du Centre de la France est plus significativement dispersé que le groupe de l'Atlantique, davantage aggloméré. Deux des loutres issues de la région Aquitaine n'ont pu être reliées à un quelconque groupe et se trouvent donc représentées au centre de l'ensemble du groupe.

La même analyse, effectuée cette fois en comparant le groupe complet de loutres issues de France continentale (Massif central, Brenne et ouest atlantique d'une part, et l'individu issu de la population marocaine d'autre part, montre que ce dernier est génétiquement très différent des loutres issues de France (figure 2).

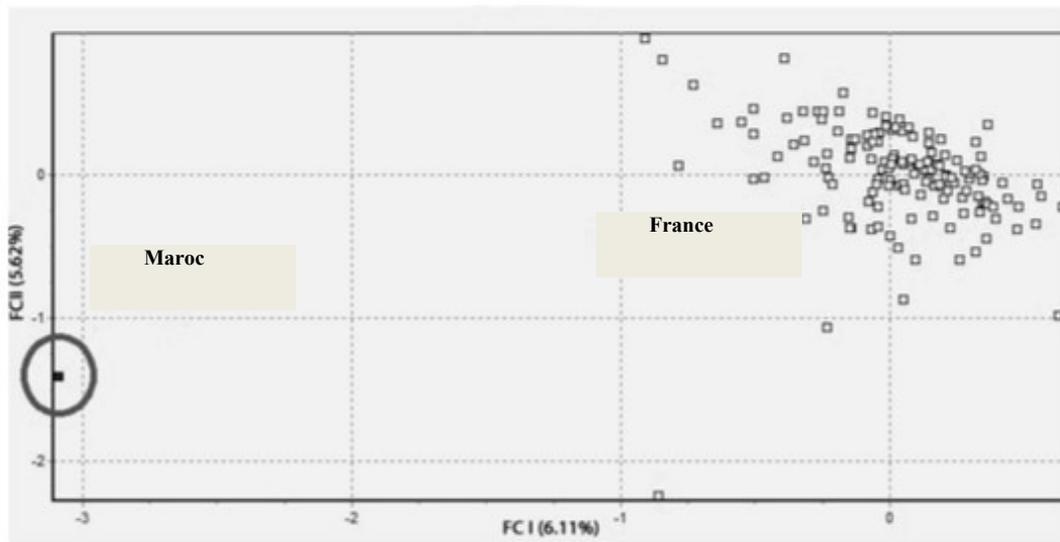


Figure 2. Analyse factorielle des correspondances (AFC) basée sur la variation allélique de 7 microsatellites de loutres d'Europe. Les carrés vides représentent les individus issus de France continentale (n=145), le carré sombre représente la loutre provenant du Maroc (n=1).

Les deux groupes présumés ont montré une divergence de fréquence allélique faible mais significative entre eux ($F_{st} = 0,040$; intervalle de confiance à 95% : 0,009 à 0,073, d'après 1000 boot-straps).

La procédure proposée par Cornuet et Luikart (1996) a été utilisée pour tester une baisse récente de la taille de la population. La population française a montré un taux d'hétérozygotie significativement élevé par rapport aux nombres attendus, sous l'hypothèse d'un IAM (*Infinite Allele Model*, $p = 0,004$) ou d'un TPM (*Two-Phase Mutation Model*, $p = 0,004$), mais pas dans l'hypothèse d'un SSM (*Single Step Mutation model*, $p = 0,148$). Ce résultat suggère que la population française de loutres a subi une baisse récente.

DISCUSSION

Structure de l'échantillon

Les différents secteurs géographiques à partir desquels ont été collectés les différents échantillons comprennent toutes les principales zones occupées par les populations de loutres stables et viables en France (à l'exception de la Bretagne). L'échantillon global est cependant assez déséquilibré (la plus grande partie correspondant à la région de la côte atlantique), et les individus analysés n'ont pas été choisis aléatoirement, mais au sein d'un ensemble constitué par les loutres trouvées mortes en nature. Les résultats doivent donc être analysés avec la

prudence statistique nécessaire. Cependant, compte tenu de la situation de l'espèce en France, il n'était bien sûr pas question, tant pour des raisons éthiques, légales que pratiques, d'organiser un échantillonnage aléatoire. Par ailleurs, le choix de tissus pour les analyses s'est avéré sans doute plus approprié pour de vastes surfaces géographiques (*i.e.* potentiellement des populations différentes au sein de grandes régions administratives) que celui d'épreintes, dont l'étude s'avère adaptée pour le dénombrement d'individus localisés, les études de filiation ou la fréquentation de sites particuliers.

Tous les individus analysés dans cette étude ont été découverts suite à des collisions routières (Lemarchand et Boulade, 2015). Une partie d'entre eux, et notamment les subadultes en situation d'émancipation (tout particulièrement les mâles) sont, dans leur dispersion au sein d'un espace qui leur est méconnu, davantage susceptibles d'être blessés ou tués par les voitures, ceci pouvant amener à une analyse génétique déformée. Les conditions saisonnières ont également une influence sur la mortalité routière de l'espèce. Pendant l'automne et en hiver en effet, la mortalité est généralement plus importante, en raison de niveaux d'eau souvent plus élevés lors de ces saisons, aux périodes d'émancipation des jeunes nés au cours de l'été, ainsi qu'à la coïncidence de l'heure de pointe des déplacements automobiles avec la partie crépusculaire de l'activité des loutres. Les routes peuvent également être situées dans les zones d'habitats favorables où les densités de populations sont élevées, comme par exemple dans une partie du Marais Poitevin et des marais atlantiques, ce qui augmente également le risque des collisions.

De même, les études de mortalité concernant la loutre ont souvent rapporté que les décès d'individus résultant des activités humaines (comme la circulation routière) concernaient généralement les mâles, dont les domaines vitaux et les déplacements sont plus importants que chez les femelles. Cela n'a pas été observé dans cette étude, dans laquelle le *sex-ratio* s'est trouvé quasiment à l'équilibre (51% de mâles), ce qui correspond à d'autres observations effectuées en Europe ces dernières années (*sex-ratio* entre 50 et 61% en faveur des mâles).

Dans la mesure où les populations prospères et fonctionnelles présentent généralement un *sex-ratio* à l'équilibre, on peut en déduire que le statut global des populations et les densités de populations influencent davantage ce paramètre qu'un éventuel biais de collecte.

|
|
|
|

Diversité génétique

Bien que seulement 7 loci ont été analysés, plutôt que 10, les résultats sont en accord avec ceux rapportés ailleurs dans la littérature. Le nombre moyen d'allèles par locus ($A = 4,7$) est faible, mais similaire à celui précédemment rapporté pour le Parc national des Cévennes ($A = 4$, Janssens et al. 2008) et pour la côte atlantique ($A = 4,8$). Ce résultat est par ailleurs proche de celui d'autres populations européennes ($A = 4,9$, Mucci et al. 2010).

Les valeurs d'hétérozygotie observées et attendues (respectivement $H_o = 0,64$ et $H_e = 0,62$), sont considérées comme modérées, et en accord avec celles observés dans d'autres populations européennes. La valeur de H_e est similaire à celle trouvée dans les populations de loutres de pays européens proches, comme l'Allemagne ($H_e = 0,65$; Honnen et al. 2010), l'Espagne ($H_e = 0,64$) et le Portugal ($H_e = 0,60$; Mucci et al. 2010), mais légèrement plus élevée que celle rapportée dans d'autres études menées en France : $H_e = 0,52$ dans la population du sud du Massif central (Janssens et al. 2008) et $H_e = 0,59$ dans la population de la côte atlantique (Mucci et al. 2010). Toutefois, la faible valeur rapportée par Janssens et al. (2008) était un résultat probablement spécifique à cette population, résultant d'un événement de colonisation récente par des loutres formant une population nouvellement créée dans les Cévennes, avec une diversité génétique généralement plus faible.

Bien que la valeur globale du coefficient de consanguinité F_{is} n'indique aucune consanguinité significative (voir tableau 1), le déficit hétérozygote observé à deux loci est évocateur de l'existence de la structure génétique des populations de loutres en France.

Structure génétique de la population

Le regroupement bayésien effectué sans tenir compte de l'origine des individus, ainsi que les méthodes de l'analyse factorielle des correspondances utilisées pour déterminer la structure génétique des loutres françaises ont fourni des résultats convergents, ce qui suggère que la structure de la population est très faible. Lors du minimum de la répartition et de la densité de populations de la loutre d'Europe en France, le flux de gènes entre les populations de la côte atlantique et du Massif central a pu être considérablement réduit, voire stoppé (noyaux distincts et séparés), augmentant ainsi leurs différences génétiques régionales. Néanmoins, la distance génétique entre ces sous-populations est très faible comparé à d'autres populations étudiées (voir tableau 3 ci-dessous), avec le brassage génétique suggéré par l'AFC (figure 1). Le chevauchement entre les deux sous populations pourrait expliquer pourquoi le regroupement bayésien n'a pas trouvé de structure particulière de la population sans information préalable sur l'origine des individus. Ceci apparaît en phase avec l'idée qu'il

y avait peut-être un certain degré de connectivité entre elles avant la recolonisation globale (Robitaille et Laurence 2002). En effet, les dernières données historiques disponibles concernant la répartition de l'espèce dans les régions Limousin, Poitou-Charentes et Auvergne indiquent que la déconnexion entre les deux sous-populations a eu lieu plus tardivement, par rapport au reste de la population de France, ce qui peut sans doute expliquer la faible distance génétique (Lemarchand et Bouchardy, 2011).

Pays	N	F_{st}	P value
France (présente étude)	2	0.040	<0.05
Suède (Tison et al. 2015)	2	0.154	0.0002
Royaume-Uni (Hobbs et al. 2011)	4	0.100-0.280	<0.001
Royaume-Uni (Stanton et al. 2014)	4	0.22-0.298	<0.001
Nord-est Allemagne, Danemark & sud Suède (Honnen et al. 2010)	3	0.183-0.311	0000
République Tchèque et Slovaquie (Hajkova et al. 2006)	4	0.057-0.167	<0.0001
Suède et Finlande (Honnen et al. 2015)	6	0.036-0.210	<0.05
Israël (Cohen et al. 2013)	3	0.087-0.123	<0.001

Tableau 3. Comparaison des intervalles de F_{st} obtenues dans différentes études de la structure génétique de la loutre eurasiennne.

Les résultats bayésiens, y compris ceux tenant compte de l'information préalable sur l'origine géographique des individus, sont partiellement en accord avec l'étude paneuropéenne de Mucci et al. (2010), qui ont trouvé au moins trois sous-populations génétiquement distinctes en France. Cependant ces auteurs n'ont pas prélevé d'échantillons dans le Centre de la France, et leurs trois groupes étaient situés le long de la côte atlantique, de la Bretagne au nord-ouest à l'Aquitaine, au sud-ouest. Dans la présente étude, aucun des échantillons n'a été prélevé en Bretagne (nord-ouest) où un groupe distinct est connu. Le groupe décrit ci-dessus dans la zone de la côte atlantique correspond au second groupe présumé décrit par Mucci et al. (2010). Enfin, le troisième groupe décrit par Mucci et al. (2010) correspond géographiquement à l'Aquitaine. Les individus analysés dans la présente étude issus de cette dernière région ne peuvent pas être clairement attribués à la population de la côte atlantique ou à la population du Centre (voir ci-dessus), mais des travaux récents ayant montré des liens génétiques étroits avec des individus issus du sud du Limousin suggèrent la présence d'un autre de groupe de populations dans le grand sud-ouest de la France (Caublot et al. 2013).

Déclin de la population

Les tests de présence d'un goulot génétique d'étranglement à l'aide des modèles IAM et TPM tendent à montrer un déclin récent des populations de loutres en France, le second modèle étant connu pour fournir le meilleur ajustement avec des données issues de microsattellites et leur processus de mutation (Williamson-Natesan 2005). De la même manière, la signature génétique d'un déclin récent a été trouvée dans les populations de la République tchèque et de la Slovaquie (Hajkova et al. 2006), ainsi que dans la population du land de Schleswig-Holstein, une zone récemment recolonisée dans le nord-ouest de l'Allemagne (Honnen et al. 2010). Il est certes connu et largement documenté que les populations de loutres ont fortement diminué au cours des dernières décennies dans la plupart des régions d'Europe, mais encore peu d'études ont apporté une caractérisation génétique de cet événement, à des échelles géographiques différentes.

Il a par ailleurs été suggéré que les loutres européennes avaient souffert d'un déclin naturel des populations, il y a environ 4000 ans, en raison d'événements fondateurs associés aux processus de recolonisation post-glaciaires de l'Europe du Nord (Randi et al. 2003). Par ailleurs, Pertoldi et al. (2001) ont également suggéré que le déclin historique de la population de loutres du Danemark il y a 2 à 3000 ans pourrait avoir résulté de perturbations humaines. L'étude génétique des populations peut donc contribuer à une meilleure compréhension des dynamiques de populations passées, actuelles et sans doute futures.

CONCLUSION

Comme dans tous les autres pays européens, les loutres d'Europe vivant en France ont connu une diminution sévère de leur aire de répartition et de leurs effectifs jusque dans les années 1980, leur statut s'étant progressivement amélioré depuis leur protection légale. Le déclin et le morcellement des populations en noyaux séparés ont abouti à une certaine différenciation génétique entre ces derniers. Cependant, les résultats de cette étude suggèrent que les loutres françaises ne sont pas fortement structurées en sous-populations géographiquement distinctes sur le plan génétique. Les deux groupes présumés, correspondant aux deux dernières populations en France dans le Massif central (incluant l'Auvergne géographique) et le long de la façade atlantique, sont partiellement mélangés et semblent être génétiquement proches ($F_{st} = 0,040$).

Le processus de recolonisation naturelle se poursuit depuis plus de 30 ans, et les loutres issues de la côte, des marais de l'Atlantique d'une part et des régions du Massif central d'autre part ne semblent pas restées totalement isolées. Bien qu'un brassage génétique soit

certainement en cours, comme cela a été suggéré dans des études antérieures suite à la mise en évidence de l'expansion et de la jonction de populations autrefois isolées (Reuther et Krekemeyer 2004; Rosoux et Green 2004, Lemarchand et Bouchardy, 2011), il est probablement encore insuffisant pour homogénéiser génétiquement toutes les populations. Cependant, compte tenu de l'expansion de l'espèce, observée dans de nombreux endroits en France, cette homogénéisation génétique complète est susceptible d'être observée à l'avenir.

Bien que la loutre d'Europe ait récemment élargi son aire de répartition en France à une grande moitié sud-ouest du pays et y connaisse une dynamique favorable, elle reste une espèce menacée à l'échelle du continent, et sa conservation demeure donc une préoccupation, la dynamique naturelle de l'espèce étant globalement faible (Kruuk, 2006). À long terme, les activités humaines (induisant par exemple la dégradation des habitats, leur pollution et leur contamination ou celle des proies de l'espèce) pourraient ralentir cette expansion, ou empêcher des populations de loutres stables et fonctionnelles de loutres de se maintenir (Robitaille et Laurence 2002; Reuther et Krekemeyer 2004; Lemarchand et al 2007, 2010, 2011a,b, 2013, 2014).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANSORGE, H., SCHIPKE, R. & ZINKE, O. 1997. Population structure of the otter, *Lutra lutra*; parameters and model for a Central European region. *J. Mammal Biol.* 62: 143–151.
- AUSTERLITZ, F., JUNG-MILLER, B., GODELLE, B. & GOUYON, P. H. 1997. Evolution of coalescence times, genetic diversity and structure during colonization. *Theor Pop Biol.* 51 : 148-164.
- BELKHIR, K., BORSA, P., CHIKHI, L., RAUFASTE, N. & BONHOMME, F. 2001. GENETIX 4.02, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France; <http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix>.
- BENZECRI, J.P. 1973. *L'analyse des données : L'analyse des correspondances*. Paris, Dunod. 619p.
- BOUCHARDY, C. 1986. *La loutre*. Ed. Sang de la Terre. Paris, 174 p.
- BOUCHARDY, C. & BOULADE, Y. 1999. Rapport de visite des passages à loutre dans les ouvrages hydrauliques sous l'autoroute A89 dans la section 7 Ussel Ouest-Le Sancy, Nohanent. Catiche Productions / Seyssinet-Pariset, Libris.
- CAUBLLOT, G., MICHAUX, J. & PIGNEUR, L.-M. 2013. Etude génétique des populations de loutres d'Europe en Limousin. GMHL, 36p.
- COHEN, T. M., NARKISS, T., DOLEV, A., BEN-ARI, Y., KRONFELD-SCHOR, N., GUTER, A., SALTZ, D., & BAR-GAL, G. K. 2013. Genetic Diversity of the Eurasian Otter (*Lutra lutra*) Population in Israel. *J Hered.* 104(2):192-201
- CORNUET, J. M. & LUIKART, G. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144 : 2001- 2014.
- DALLAS, J. F., BACON, P.J., CARSS, D.N., CONROY, J.W.H., GREEN, R., JEFFERIES, D.J., KRUK, H., MARSHALL, F., PIERTNEY, S.B. & RACEY, P.A. 1999. Genetic diversity in the Eurasian otter, *Lutra lutra*, in Scotland. Evidence from microsatellite polymorphism. *Biol J Linn Soc.* 68 : 73-86.
- DALLAS, J., COXON, K., SYKES, T., CHANIN, P., MARSHALL, F., CARSS, D., BACON, P., PIERTNEY, S. & RACEY, P. 2003. Similar estimates of population genetic composition and sex ratio derived from carcasses and faeces of Eurasian otter *Lutra lutra*. *Mol Ecol.* 12 : 275-282.
- DALLAS, J., MARSHALL, F., PIERTNEY, S., BACON, P. & RACEY, P. 2002. Spatially restricted gene flow and reduced microsatellite polymorphism in the Eurasian otter *Lutra lutra* in Britain. *Conserv Genet.* 3 : 15-29.
- DALLAS, J. F. & PIERTNEY, S.B. 1998. Microsatellite primers for the Eurasian otter. *Mol Ecol.* 7 : 1248-1251.
- DEGIORGIO, M., DEGNAN, J. H. & ROSENBERG, N. A. 2011. Coalescence-time distributions in a serial founder model of human evolutionary history. *Genetics* 189(2) : 579-583.
- FALUSH, D., STEPHENS, M. & PRITCHARD, J. K. 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164 : 1567-1587.
- FALUSH, D., STEPHENS, M. & PRITCHARD, J. K. 2007. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Mol Ecol. Notes*, 7 : 574– 578.
- FRANTZ, A. C., CELLINA, S., KRIER, A., SCHLEY, L., BURKE, T. 2009. Using spatial Bayesian methods to determine the genetic structure of a continuously distributed population: clusters or isolation by distance? *J Appl Ecol.* 46 : 493-505.
- GASCUEL, D. 1985. Contribution à l'étude écologique des estuaires du littoral atlantique français: la faune accompagnatrice de la civelle. Université de Rennes-1, 330p. (Thèse de Doctorat).

- GEBOES, A.-L., ROSOUX, R., LEMARCHAND, C., HANSEN, E. LIBOIS, R. 2016. Genetic diversity and population structure of the Eurasian otter (*Lutra lutra*) in France. *Mammal Res.* DOI 10.1007/s13364-015-0258-5.
- GORMAN, M.L., KRUK, H., JONES, C., MCCLAREN, G. & CONROY, J.W.H. 1998. The demography of European otters *Lutra lutra*. *Symp Zool Soc Lond.* 71 : 107-118.
- GOUDET, J. 2002. FSTAT: a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Version 2.9.3.2. Available at <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
- HAJKOVA, P., PERTOLDI, C., ZEMANOVA, B., ROCHE, K., HAJEK, B., BRYJA, J. & ZIMA, J. 2006. Genetic structure and evidence for recent population decline in Eurasian otter populations in Czech and Slovak Republics : implications for conservation. *J Zool, Lond.* 272 : 1-9.
- HARTL, D. L. 1994. *A primer of population genetics*. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts.
- HAUER, S., ANSORGE, H. & ZINKE, O. 2002. Mortality patterns of otters (*Lutra lutra*) from eastern Germany. *J. Zool., Lond.* 256 : 361-368.
- HEGGBERGET T.M., 1991. Sex and Age distribution in European otters (*Lutra lutra*) killed by human activity. *Habitat* 6 : 123-125.
- HONNEN, A.-C., PETERSEN, B., KABLER, L., ELMEROS, M., ROOS, A., SOMMER, R. & ZACHOS, F. 2010. Genetic structure of Eurasian otter (*Lutra lutra*, Carnivora : Mustelidae) populations from the western Baltic sea region and its implications for the recolonization of north-western Germany. *J Zool Syst Evol Res.* 49(2) : 169-175.
- HUNG, C.-M., LI, S.-H. & LEE, L.-L. 2004. Faecal DNA typing to determine the abundance and spatial organisation of otters (*Lutra lutra*) along two stream systems in Kinmen. *Anim Conserv.* 7 : 301-311.
- IBRAHIM, K. M., NICHOLS, R. A. & HEWITT, G. M. 1996. Spatial patterns of genetic variation generated by different forms of dispersal during range expansion. *Heredity* 77 : 282-291.
- JANSSENS, X., FONTAINE, M., MICHAUX, J., LIBOIS, R., DE KERMABON, J., DEFOURNY, P. & BARET, P. 2008. Genetic pattern of the recent recovery of European otters in southern France. *Ecography* 31 : 176-186.
- KOELEWIJN, H., PEREZ-HARO, M., JANSMAN, H., BOERWINKEL, M., BOVENSCHEN, J., LAMMERTSMA, D., NIEWOLD, F. & KUITERS, A. 2010. The reintroduction of the Eurasian otter (*Lutra lutra*) into the Netherlands: hidden life revealed by noninvasive genetic monitoring. *Conserv Genet.* 11: 601-614.
- KRUK, H. 2006. *Otters : ecology, behaviour and conservation*. New-York : Oxford University Press Inc. 280p.
- KUHN, R. 2009. Plan National d'Actions pour la Loutre d'Europe (*Lutra lutra*), 2010-2015. Société Française pour l'Etude et la Protection des Mammifères/Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement Durable et de la Mer.
- LE CORRE, V. & KREMER, A. 1998. Cumulative effects of founding events during colonisation on genetic diversity and differentiation in an island and stepping-stone model. *J Evol Biol.* 11 : 495-512.
- LEMARCHAND, C., AMBLARD, C., SOUCHON, Y. & BERNY, P. 2007. Organochlorine compounds (pesticides and PCBs) in scats of the European Otter (*Lutra lutra*) from an actual expanding population in Central France. *Water, air and Soil Pollution* 186 : 55-62.
- LEMARCHAND, C. & BOUCHARDY, C. 2011. La loutre d'Europe, histoire d'une sauvegarde. Catiche Productions, 32p., ISBN 978-2-917568-02-6.
- LEMARCHAND, C. & BOULADE, Y. 2015. Collisions routières impliquant la loutre d'Europe (*Lutra lutra*) en Auvergne : synthèse et préconisations d'aménagements de sites routiers.
- LEMARCHAND, C., ROSOUX, R., TALON, C. & BERNY, P. 2014. Flagship species conservation

and introduced species invasion: toxic aspects along Loire River (France). In: "Pesticides - Toxic Aspects", InTech, ISBN 980-953-307-1084-5.

LEMARCHAND, C., ROSOUX, R. & BERNY, P. 2013. Etude écotoxicologique du bassin de la Loire à l'aide de bioindicateurs, dans le contexte des effets prévisibles des changements climatiques. Synthèse des résultats. Mémoire Post-Doctoral de VetAgro Sup, Plan Loire Grandeur Nature, 98p.

LEMARCHAND, C., ROSOUX, R. & BERNY, P. 2011a. Ecotoxicology of the Eurasian Otter (*Lutra lutra*) along Loire River (France) and Predictable Trends due to Global Change. *Proceedings of XIth International Otter Colloquium, IUCN Otter Spec. Group Bull.* 28B : 5- 14.

LEMARCHAND, C., ROSOUX, R. & BERNY, P. 2011b. Semi aquatic top-predators as sentinels of diversity and dynamics of pesticides in aquatic food webs. The case of European otter (*Lutra lutra*) and Osprey (*Pandion haliaetus*) in Loire River catchment, France. In: Stoytcheva, M. (ed.), Pesticides in the Modern World: Risks and benefits. InTech, ISBN 978-953-307-458-0.

LEMARCHAND, C., BOULADE, Y. & GOUILLOUX, N. 2012. Finalisation des prospections et mise à jour de la répartition de la Loutre en région Auvergne. Déclinaison régionale du PNA. DREAL Auvergne – Catiche Productions.

LEMARCHAND, C., BOULADE, Y. 2012. La prise en compte de l'enjeu « espèces menacées » dans le cadre de l'entretien de cours d'eau et des travaux en milieux aquatiques : exemples de la loutre d'Europe et de la mulette perlière. DREAL Auvergne – Catiche Productions.

LEMARCHAND, C., ROSOUX, R. & BERNY, P. 2010. Organochlorine pesticides, PCBs, heavy metals and anticoagulant rodenticides in tissues of Eurasian otters (*Lutra lutra*) from upper Loire river catchment (France). *Chemosphere* 80: 1120-1124.

LIBOIS, R. 1997. Régime et tactique alimentaires de la loutre (*Lutra lutra*) dans le Massif Central. *Vie Milieu* 47(1) : 33-45.

LIBOIS, R. & ROSOUX, R. 1989. Ecologie de la loutre (*Lutra lutra*) dans le Marais Poitevin. I. Etude de la consommation d'Anguilles. *Vie Milieu* 39 (3-4) : 191-197.

LIBOIS, R. & ROSOUX, R. 1991. Ecologie de la loutre (*Lutra lutra*) dans le Marais Poitevin. II. Aperçu général du régime alimentaire. *Mammalia* 55 (1) : 35-47.

LUIKART, G. 1997. Usefulness of molecular markers for detecting population bottlenecks and monitoring genetic change. University of Montana, Missoula, MT (PhD Thesis).

MACDONALD, D.M. & MASON, C. 1992. Status and conservation needs of the otter (*Lutra lutra*) in the Western Palearctic. Rapport de conseil de l'Europe. 65p.

MASON, C. 1995. Habitat quality, water quality and otter distribution. *Hystrix* 7(1-2) : 195- 207.

MORALES, C.F. 2002. Phylogéographie de la loutre d'Europe (*Lutra lutra*) dans la partie occidentale de son aire de répartition. DES Sciences naturelles (zoologie) U.Lg., Liège.

MUCCI N., ARRENDAL J., ANSORGE H., BAILEY M., BODNER M., DELIBES M., FERRANDO A., FOURNIER P., FOURNIER C., GODOY J., HAJKOVA P., HAUER S., HEGGBERGET T., HEIDECHE D., KIRJAVAINEN H., KRUEGER H.-H., KVALOY K., LAFONTAINE L., LANSZKI J., LEMARCHAND C., LIUKKO U.-M., LOESCHCKE V., LUDWIG G., MADSEN A., MERCIER L., OZOLINS J., PAUNOVIC M., PERTOLDI C., PIRIZ A., PRIGIONI C., SANTOS-REIS M., LUIS T., STJERNBERG T., SCHMID H., SUCHENTRUNK F., TEUBNER J., TORNBERG R., ZINKE O. & RANDI E. 2010. Genetic diversity and landscape genetic structure of otter (*Lutra lutra*) populations in Europe. *Conserv Genet.* 11 : 583-599.

NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89 : 583-590.

PERTOLDI, C., HANSEN, M.M., LOESCHCKE, V., MADSEN, A.B., JACOBSEN, L., BAAGOE, H. 2001. Genetic consequences of population decline in the European otter (*Lutra lutra*): an assessment of microsatellite DNA variation in Danish otters from 1883 to 1993. *Proc R Soc B Biol Sci*

- PHILCOX, C.K., AGROGAN A.L, & MACDONALD, D.W. 1999. Patterns of otter *Lutra lutra* road mortality in Britain. *J Appl Ecol.* 36 (5) : 748–761.
- PRITCHARD, J. K. & WEN, W. 2004. Documentation for STRUCTURE software version 2. Dept of Human Genetics, Univ. of Chicago, USA.
- RANDI, E., DAVOLI, F., PIERPAOLI, M., PERTOLDI, C., MADSEN, A. & LOESCHCKE, V. 2003. Genetic structure in otter (*Lutra lutra*) populations in Europe : implications for conservation. *Anim Conserv.* 6 : 93-100.
- RAYMOND, M. & ROUSSET, F. 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution* 49 : 1280-283.
- REUTHER, C. & HILTON-TAYLOR, C. 2004. *Lutra lutra*. In: IUCN 2007. 2007 IUCN Red List of Threatened Species. Website : www.iucnredlist.org
- REUTHER, C. & KREKEMEYER, A. 2004. On the way towards an Otter Habitat Network Europe (OHNE). Method and result of an assessment on the European and German level. *Habitat* 15, 308 p.
- RICE, W.R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43 : 223-225.
- ROBITAILLE, J-F. & LAURENCE S. 2002. Otter, *Lutra lutra*, occurrence in Europe and in France in relation to landscape characteristics. *Anim Conserv* 5 : 337-344.
- ROSOUX, R. & GREEN, J. 2004. La Loutre. Belin Eveil Nature, 96p.
- ROSOUX, R. & LIBOIS, R. 1994. Statut, écologie et devenir des populations de loutre d'Europe (*Lutra lutra*) en France IN Actes Séminaire international: « La loutre au Luxembourg et dans les pays limitrophes ». Luxembourg : Ed. Groupe loutre luxembourgeois, p. 6-12.
- ROSOUX, R., LIBOIS, R. & M. DE BELLEFROID, M.N. 1999. Rapport d'expertise : Programme de conservation de la loutre d'Europe dans la Réserve de Biosphère de Trebon (République tchèque). Strasbourg, Conseil de l'Europe. Convention relative a la conservation de la vie sauvage et du milieu naturel de l'Europe T-PVS.
- ROSOUX, R. & TOURNEBIZE, T. 1995. Analyse des causes de mortalité chez la Loutre d'Europe dans le Centre Ouest atlantique (France). *Cah Ethol.* 15 (2-3-4) : 337-350.
- ROUSSET, F. 2000. Genetic differentiation between individuals. *J Evol Biol.* 13 : 58-62. SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. 2011. Biometry. Fourth edition. W.H. Freeman, New-York, USA.
- VAN OOSTERHOUT, C., HUTCHINSON, W.F., WILLS, D.P.M. & SHIPLEY, P.F. 2004. Microchecker user guide. Dept of Biological Sciences, University of Hull.
- WAHLUND, S. 1928. Composition of populations from the perspective of the theory of heredity. *Hereditas* 11 : 65-105.
- WEIR, B.S. & COCKERHAM, C.C. 1984. Estimating F-Statistics for the analysis of Population Structure. *Evolution* 38 (6) : 1358-1370.
- WILLIAMSON-NATESAN, E.G. 2005. Comparison of methods for detecting bottlenecks from microsatellite loci. *Conserv Genet.* 6 : 551–562.