

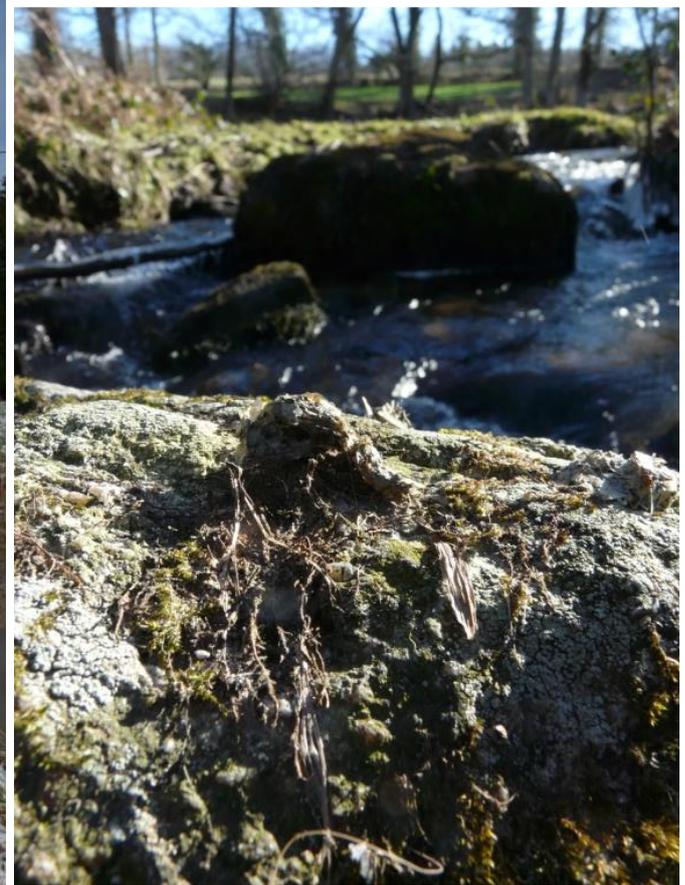
Groupe
Mammalogique et
Herpétologique du
Limousin

Etude génétique de la Loutre d'Europe *Lutra lutra* : Résultats de trois années de suivis

Limousin 2012-2015

Etude génétique de la Loutre d'Europe : résultats de trois années de suivi • Limousin

Mars 2016



Etude réalisée grâce aux financements de :



G.M.H.L.

Association agréée et représentative au titre du code de l'environnement.- Siret : 42463710600016 - **Siège administratif** : Maison de la Nature - 11 rue Jauvion - 87 000 LIMOGES – **Téléphone** : 05 55 32 43 73 – **Email** : gmhl@gmhl.asso.fr

Couverture : GMHL sauf mention contraire

Rédaction : Gaëlle CAUBLLOT – Johan MICHAUX – Lise-Marie PIGNEUR

G.M.H.L.

Association agréée et représentative au titre du code de l'environnement.- Siret : 42463710600016 - **Siège administratif** : Maison de la Nature - 11 rue Jauvion - 87 000 LIMOGES – **Téléphone** : 05 55 32 43 73 – **Email** : gmhl@gmhl.asso.fr

SOMMAIRE

Sommaire	1
Introduction.....	2
I. Matériel et Méthodes	4
A. Extraction de la base de données du GMHL	4
B. Echantillonnage et analyse.....	4
II. Résultats	7
A. Collecte des épreintes	7
B. Extraction et amplification de l'ADN à partir des épreintes collectées	7
C. Remarques sur les conditions météorologiques.....	8
III. Structure génétique des populations de loutres au niveau de la région Limousin et en France	10
A. Identification individuelle, identification du sexe et liens de parenté entre individus.....	10
B. Structure génétique des populations de loutres au niveau de la région Limousin.....	19
Conclusion	22
Bibliographie.....	23
Annexes	25

> Remerciements

Le GMHL souhaite remercier les financeurs pour leur confiance ainsi que l'ensemble des bénévoles ayant participé à ce projet.

INTRODUCTION

Chassée, piégée, victime de la rectification et de la pollution des cours d'eau, la Loutre *d'Europe* *Lutra lutra* a presque disparu du territoire français dans les années 1980. Depuis qu'elle est appliquée, la protection intégrale de l'espèce a permis aux populations de reconquérir peu à peu leur ancienne aire de répartition. Le Limousin a constitué un réservoir de populations au plus fort du déclin. Ces populations préservées de Creuse et de Corrèze ont depuis entamé leur progression et réinvesti l'aval des bassins versants de la Vienne et de la Dordogne, avec plus ou moins de succès.

Afin d'optimiser cette reconquête, un Plan National d'Actions en faveur de la Loutre d'Europe a été mis en place en France en 2010, par la Société Française d'Etude et de Protection des Mammifères (SFEPM). Ce plan, décliné en Limousin en 2011 par le GMHL, comporte une trentaine de fiches ayant pour but l'étude, la communication et la protection de cette espèce.

Parmi ces fiches, certaines d'entre elles se concentrent particulièrement sur l'étude des déplacements de la loutre au sein de ses corridors, l'utilisation de l'espace et sa capacité de franchissement des barrages hydrauliques¹. La problématique de la perméabilité des obstacles (barrages, zones urbanisées) est importante dans le contexte de reconquête actuel. En effet, très peu d'informations permettent d'attester de la bonne circulation des individus entre l'amont et l'aval de ces obstacles et la littérature indique que les barrages hydroélectriques ralentissent la dispersion des loutres (MacDonald et Mason 1994, Dohogne et Leblanc 2005).

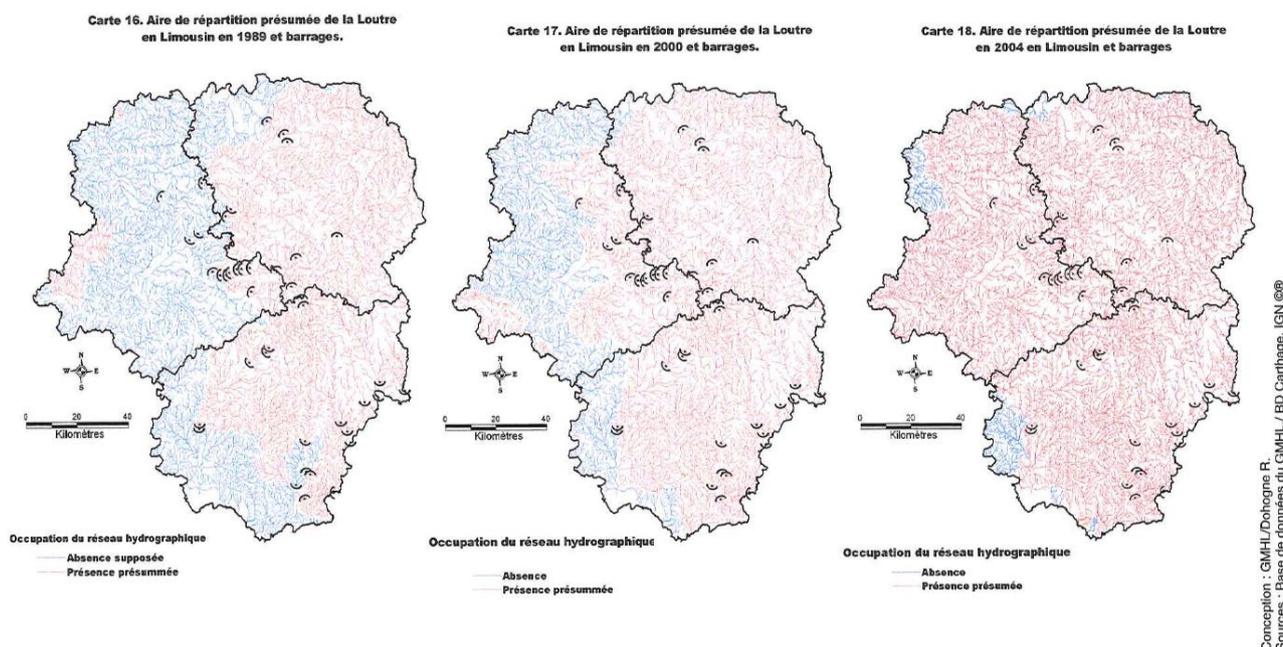


Figure 1 : Evolution de la répartition de la loutre et évaluation de l'impact des barrages – GMHL 2005

¹ Fiches action :

n°4 : Appliquer les analyses génétiques à l'étude des populations de loutres en Limousin.

n°6 : Déterminer le potentiel d'accueil de la Loutre d'Europe par secteur géographique en Limousin.

n°14: Mettre en place et conserver des corridors écologiques pour la Loutre d'Europe en Limousin.

n°16 : Faciliter le franchissement de barrages en Limousin.

Les avancées réalisées dans le domaine de la génétique permettent à présent d'identifier des individus à partir de leurs déjections (appelées épreintes). Cette méthode, peu invasive, permet de connaître rapidement et aisément les aires vitales des individus au sein des bassins versants, leurs capacités de déplacement ainsi que leurs liens de parenté. Ces informations sont très intéressantes pour juger de la pertinence des trames bleues définies au niveau régional et local (Schéma régional de cohérence écologique et Trame verte et Bleue de Limoges Métropole, par exemple.)

Les problématiques ont été les suivantes :

- Les barrages et en particulier celui de l'Aigle engendrent-ils un obstacle infranchissable pour la loutre ? Si oui, quelles en sont les raisons et comment peut-on tenter de limiter cette gêne ?
- Comment s'effectue la recolonisation dans le sud de la Haute-Vienne, carrefour entre les populations d'Atlantique et du Massif central ?
- Est-il possible d'estimer les effectifs de loutres dans certaines zones ? La comparaison des résultats peut-elle nous indiquer si certains secteurs ont un potentiel d'accueil supérieur ? Si oui, quelles pourraient en être les raisons ?

Le présent rapport présente les moyens ainsi que les résultats de l'étude génétique menée entre 2012 et 2015 dans 5 zones en Limousin.

I. MATERIEL ET METHODES

A. Extraction de la base de données du GMHL

Le Groupe Mammalogique et Herpétologique du Limousin possède une base de données recensant plus de 2 300 observations de Loutre d'Europe *Lutra lutra* collectées entre 1984 et 2015.

Une extraction des données de cette base est effectuée en amont de tout inventaire de terrain mené par le GMHL. Celle-ci permet de réaliser un état des lieux des connaissances de l'association sur les sites d'étude en mettant en lumière les zones propices à l'échantillonnage des épreintes.

B. Echantillonnage et analyse

a. Sites d'étude et calendrier de terrain

5 grandes zones ont été échantillonnées dans le cadre de cette étude (fig. 2) :

- 1 : le bassin de la Dordogne entre Argentat et Bort-les-Orgues (19)
- 2 : les environs du Lac de Vassivière (87/23)
- 3 : le territoire de Limoges-Métropole (87)
- 4 : le bassin de la Grande Creuse entre Guéret et Crozant (23)
- 5 : Le Parc Naturel Régional Périgord-Limousin côté limousin (87)

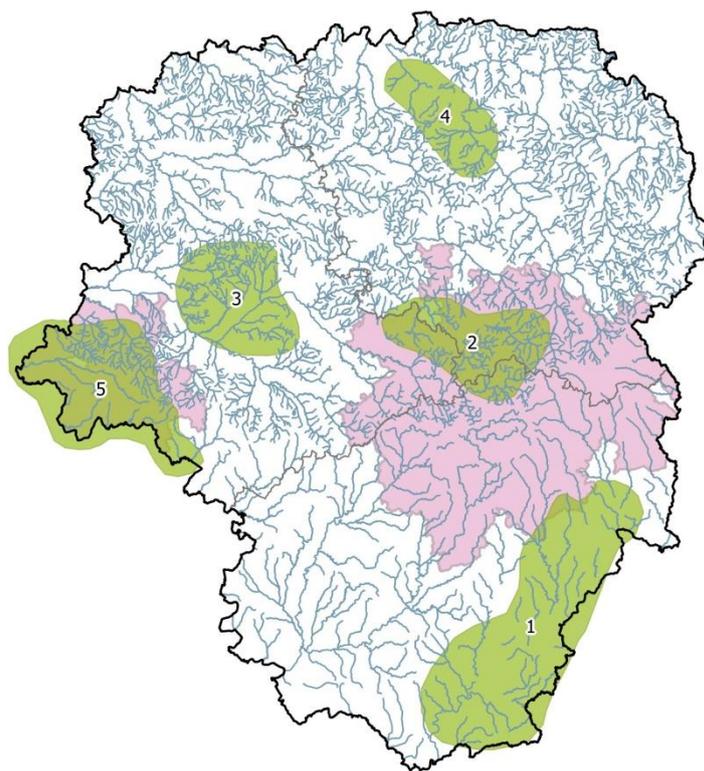


Figure 2 : Localisation des 5 grandes zones d'échantillonnage (en vert), les polygones roses figurent les parcs naturels régionaux – GMHL 2016

Tableau 1 : sites, dénomination et années où les prélèvements ont été menés

Zone	Nom	2012-2013	2014	2015
1	Vallée de la Dordogne	•		•
2	Lac de Vassivière	•		•
3	Limoges Métropole	•	•	•
4	Grande Creuse	•		
5	PNR PL			•

72 journées de terrain ont été menées par la salariée ainsi que des bénévoles entre novembre 2013 et mars 2015 afin de collecter les épreintes (tab. 1).

Tableau 2 : zone, dates de collecte et personnel récoltant – GMHL 2016

Zone	Période	Personnel
1	19/11/12 - 30/11/12	Gaëlle CAUBLOT
	16/02/15 – 21/02/15	
2	05/03/13 – 10/03/13	Gaëlle CAUBLOT – Daniel COIGNOUX – Julien VITTIER - Cristian ESCULIER – Mathilde MAS
	19/01/15 – 25/01/15	
3	26/02/13 – 01/03/13	Gaëlle CAUBLOT – Benoît CHALAIS – Jessy ARNAUD – Magali LIETS – Julie SOWA-DOYEN – Christophe MONTEIL – Amélie PUTHON – Catherine BAILLOT – Virginie, Julien et Séverine MEZAN-MUXART – Amandine LAPLAGNE
	02/04/13 – 06/04/13	
	20/01/14- 25/01/14	
	24/02/14 – 01/03/14	
	09/02/15 – 14/02/15	
16/03/15 – 19/03/15		
4	10/03/13 – 16/03/13	Gaëlle CAUBLOT – Julien VITTIER
5	02/02/15 – 07/02/15	Gaëlle CAUBLOT – Cédric DEVILLEGER – Julien VITTIER

b. Récolte des échantillons

La Loutre marque en général systématiquement les mêmes éléments du paysage (rochers hors d'eau, touffes d'herbes sur les berges, troncs couchés, banquettes de ponts...). Les points de collecte choisis sont distants de 5 à 10 km, le long du cours d'eau. Au minimum, 10 points de prélèvements sont contrôlés chaque jour par zone (20 pour la zone 1 qui se découpe en 2 aires : amont et aval).

L'ADN est extrait d'épreintes fraîches et s'abîme rapidement, il est donc nécessaire de collecter en hiver et en début de matinée, afin de limiter la dégradation de la molécule. Une loutre revient marquer son territoire tous les 2 à 6 jours. Un passage systématique a donc été effectué pendant des périodes de 6 jours consécutifs afin de pouvoir collecter des épreintes fraîches sur l'ensemble des points de collecte repérés.

Figure 3 : Une épreinte fraîche de la nuit déposée sur une touffe d'herbe – Pont de Senoueix (23)



Les échantillons ont ensuite été placés dans des tubes de 20 ml et couverts d'éthanol à 90% non dénaturé avant d'être déposés dans une glacière. En fin de matinée, les échantillons ont été stockés au congélateur à -20°C et conservés au froid jusqu'à l'envoi. Une fois tous les échantillons collectés, ils ont été envoyés par paquet réfrigéré au laboratoire pour y être analysés.

c. Analyse des échantillons

L'analyse génétique des épreintes et l'interprétation des résultats obtenus ont été réalisées par les laboratoires de l'UMR *Centre de la Biologie pour la Gestion des Populations*, Université de Montpellier/ *Génétique de la Conservation*, Université de Liège/ *Unité de Recherche en Biologie Environnementale et Evolutive*, Université de Namur (Dr. Johan MICHAUX et Dr. Lise-Marie PIGNEUR). Les documents remis par le laboratoire (versions intégrales en annexes II, III et IV) sont repris et compilés dans ce rapport pour la partie Limousin. En effet, les laboratoires ont reçu environ 200 échantillons provenant également de Midi-Pyrénées, d'Aquitaine, d'Auvergne et de Bretagne afin d'étudier les populations de loutres à l'échelle nationale.

Les analyses ont été développées suivant les travaux de Dallas *et al.* (2002), Dallas et Piertney (1998) et Janssens *et al.* (2008), sur base de 15 marqueurs microsatellites (14 marqueurs autosomaux² et 1 marqueur lié au chromosome Y) récemment utilisés avec succès dans une série d'autres études sur des problématiques similaires.

Figure 4 : Une épreinte fraîche de la nuit déposée sur Un tas de sable formé par la loutre dans le PNR Périgord-Limousin



² Autosome : chromosome non sexuel

II. RESULTATS

A. Collecte des épreintes

101 épreintes ont pu être récoltées au total (fig. 4). Le tableau et les cartes présentant la localisation exacte de tous les échantillons sont disponibles en annexe IA.

Ainsi, pour chaque zone, les résultats sont :

- 1 • bassin de la Dordogne entre Argentat et Bort-les-Orgues : **20 épreintes**
- 2 • environs du Lac de Vassivière (87/23) : **25 épreintes**
- 3 • environs de Limoges (87) : **37 épreintes**
- 4 • bassin de la Grande Creuse entre Guéret et Crozant (23) : **6 épreintes**
- 5 • Parc Naturel Périgord-Limousin côté limousin (87) : **13 épreintes**

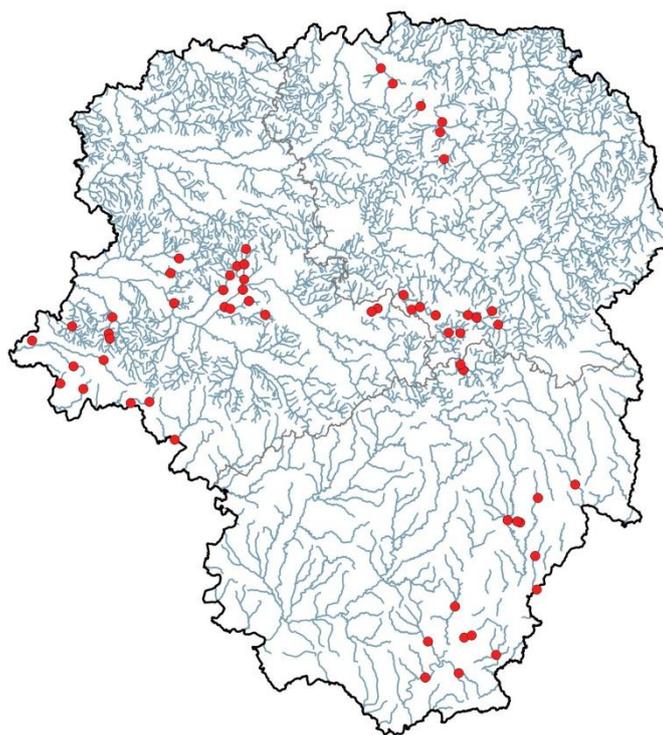


Figure 5 : Distribution géographique des points de collectes des épreintes utilisées dans le cadre de cette étude – GMHL 2016

Seules les épreintes fraîches de la nuit ont été récoltées, conformément au protocole. Les épreintes anciennes ont été systématiquement grattées du support lors du premier passage afin de n'avoir que du matériel frais. Certains points de prélèvements ont permis de récolter plusieurs épreintes tandis que d'autres n'ont jamais permis de prélever de matériel frais, malgré les 6 jours de passage consécutifs.

B. Extraction et amplification de l'ADN à partir des épreintes collectées

Seules **59 épreintes** ont pu être exploitées et ont permis d'extraire une quantité d'ADN de bonne qualité, suffisante pour effectuer les analyses génétiques (soit 58 % des épreintes récoltées). Les 42 autres échantillons n'ont permis aucune amplification ou ont donné trop d'incertitudes dans les résultats de génotypage. Le détail des analyses est disponible dans les rapports du laboratoire (annexes II, III et IV).

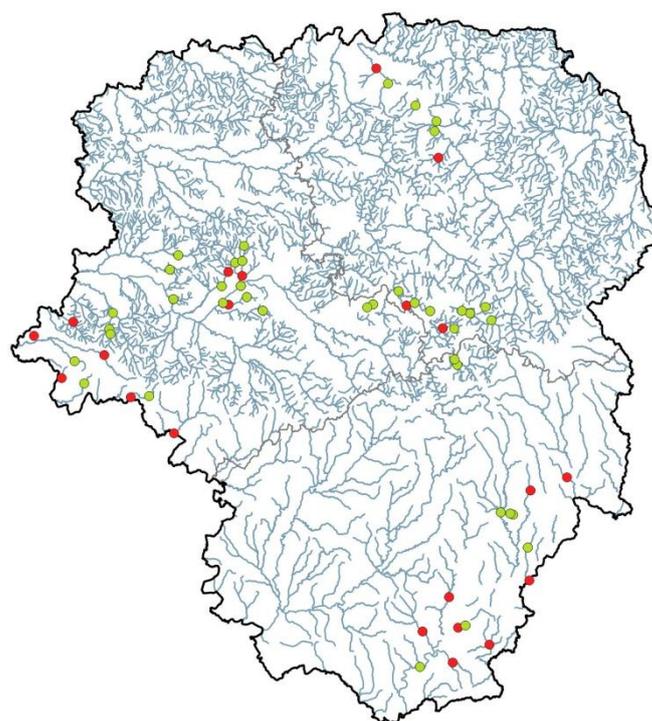


Figure 6 : Distribution géographique des points de collectes des épreintes exploitables (en rouge) et non exploitables (en vert) – GMHL 2016

A la lecture du tableau et de l'annexe 1B, il est intéressant de remarquer que certaines zones (ex. zone 2) ont présenté des succès d'amplification meilleurs que d'autres (ex. zone 1). Ceci pourrait être lié à la collecte plus ancienne des échantillons (novembre 2012 pour un envoi au printemps suivant) ayant conduit à une plus grande dégradation de l'ADN. Ce résultat pourrait également s'expliquer par des conditions climatiques différentes lors de la collecte de matériel. **Une température plus froide amène en effet à de meilleurs résultats.** Lorsque la température est plus élevée, en condition d'humidité maximale comme cela est le cas le long des rivières, une grande partie de l'ADN peut se dégrader en quelques heures, rendant extrêmement difficile les analyses génétiques ultérieures.

Tableau 3 : Proportion globale d'épreintes exploitables pour chaque zone

Zone	Nombre d'épreintes total	Nombre d'épreintes ayant pu être analysées	Proportion d'épreintes exploitables
1	20	8	40%
2	25	18	72%
3	37	22	59%
4	6	4	67%
5	13	7	54%
Limousin	101	59	58%

Cet échantillonnage a permis d'obtenir des résultats intéressants en ce qui concerne les relations entre les populations du Limousin et les autres populations du Sud- Ouest de la France ainsi qu'en ce qui concerne l'état de santé général de ces populations. **Par contre, il n'a pas permis d'obtenir une estimation précise des densités de cette population ni de bien évaluer l'impact des barrages en tant que barrières physiques pour les loutres (voir paragraphes suivants).**

C. Remarques sur les conditions météorologiques

Les conditions météorologiques ont un impact sur la qualité des prélèvements ainsi que sur la probabilité de détection des épreintes. Les précipitations peuvent effacer certaines épreintes déposées hors des ponts et induire une augmentation du niveau des cours d'eau, noyant les bancs de sables ou les pierres sur lesquels les loutres marquent. Enfin, les niveaux de certains cours d'eau ont brusquement augmenté en cours d'étude (cas du *Doustre* à la confluence avec la Dordogne) sans doute suite aux lâchers d'eau des barrages en amont. Les points de prélèvements suivis sont donc devenus obsolètes car il a été impossible de les suivre pendant 6 jours et de nouveaux points ont dû être trouvés mais n'ont pas pu bénéficier du même nombre de jours de suivis.

Figure 7: Les pierres à l'abri des ponts sont fréquemment utilisées par les loutres comme points de marquage – ici, un point de prélèvement positif sur la Maulde (rocher moussu au second plan)



Tableau 4 : zone, dates de collecte, conditions climatiques et proportions d'épreintes analysables

Zone	Période	Conditions climatiques	% analysable
1	19/11/12 - 30/11/12	Nuits froides à fraîches, journées douces – faibles précipitations	25%
	16/02/15 – 21/02/15	Nuits très froides, journées douces à fraîches – faibles précipitations (neige)	62,5%
2	05/03/13 – 10/03/13	Nuits froides, journées fraîches à douces – faibles précipitations (pluie)	58,3%
	19/01/15 – 25/01/15	Nuits très froides à froides, journées froides – précipitations régulières (neige et grésil)	84,6%
3	26/02/13 – 01/03/13	Nuits très froides à froides, journées froides – faibles précipitations (neige)	33,3%
	02/04/13 – 07/04/13	Nuits froides, journées fraîches à douces – précipitations régulières (pluie)	40%
	20/01/14- 25/01/14	Nuits froides, journées fraîches – précipitations abondantes (pluie)	87,5%
	24/02/14 – 01/03/14	Nuits froides, journées fraîches à douces – précipitations abondantes (pluie)	42,8%
	09/02/15 – 14/02/15	Nuits froides, journées froides à fraîches – précipitations abondantes en fin de session (pluie)	66,6%
	16/03/15 – 21/03/15	Nuits froides, journées fraîches à douces – précipitation en fin de session (pluie)	80%
4	10/03/13 – 16/03/13	Nuits très froides à froides, journées froides à fraîches – précipitations régulières (pluie et neige)	66,6%
5	02/02/15 – 07/02/15	Nuits froides, journées froides – faibles précipitations (neige)	53,8%

Les résultats montrent des pourcentages de réussite d'extraction similaires à ce que l'on peut trouver dans la littérature pour l'étude génétique des épreintes : 64% in Hung *et al.* (2004), 20% in Dallas *et al.* (2003), 48,1% in Prigioni *et al.* (2006) et 46% in Koelewijn *et al.* (2010).

Les périodes de nuits très froides suivies de jours froids montrent de meilleurs résultats ce qui confirme le fait que les récoltes doivent être menées préférentiellement pendant les semaines les plus froides de l'année, la température ayant un impact sur la dégradation de l'ADN (Hájková *et al.* 2006).

Figure 8 : Les abords du Lac de Vassivière (23) en 2015 : le site de récolte se situe sur le rocher le plus avancé dans l'eau, visible à droite de l'image. La neige et le froid ont sans doute contribué à un ADN mieux préservé (84,6% d'épreintes exploitables).



III. STRUCTURE GENETIQUE DES POPULATIONS DE LOUTRES AU NIVEAU DE LA REGION LIMOUSIN ET EN FRANCE

A l'échelle de la région limousine, les études développées en 2013 et 2014 avaient montré un léger signal de dépression de consanguinité ainsi qu'une homogénéité génétique importante au sein des populations de loutres de la région Limousin. Cependant, certaines analyses tendaient à montrer que les individus de Corrèze pourraient se démarquer de ceux de Haute-Vienne et de la Creuse. Il convenait toutefois de confirmer ces résultats sur base d'un échantillonnage plus important

Les résultats issus des analyses de 2015 (29 échantillons) ont été ajoutés à ceux de 2013 (20 échantillons) et 2014 (10 échantillons), ce qui a permis d'obtenir des résultats intéressants en ce qui concerne les populations du Limousin et leurs relations avec les autres populations de loutre de France ainsi que l'état de santé général de ces populations. Par contre, **il n'a pas été possible d'établir une estimation précise des densités de populations**, cette approche demandant l'analyse d'un plus grand nombre d'échantillons collectés à plusieurs moments de l'année, afin de développer des approches méthodologiques de type « capture-marquage-recapture ».

A. Identification individuelle, identification du sexe et liens de parenté entre individus

Le regroupement des génotypes obtenus dans les échantillons du Limousin a montré que les épreintes étudiées semblent **pour la plupart provenir d'individus différents**. Toutefois, certains génotypes étant incomplets, on ne peut exclure à 100% la présence éventuelle de doublons. L'analyse a néanmoins permis de mettre en évidence **une proximité génétique** suffisante entre certains échantillons pour qu'ils puissent appartenir au même individu.

Pour les autres échantillons, il est plus difficile d'établir ces relations précisément en raison des nombreuses données manquantes dans le jeu de données en lien avec la qualité de l'ADN qui n'est parfois pas suffisante pour obtenir des génotypes complets. **Pour la même raison, bien qu'une proximité génétique entre échantillons des 3 années de collecte soit observée dans plusieurs cas, on ne peut affirmer avec certitude que certaines de ces épreintes proviennent du même individu.**

a. Gorges de la Dordogne



**Zone 1
Gorges de la
Dordogne**

- individus
- ARG2
 - ARG7
 - BOR2
 - BOR4
 - BOR7
 - BOR8
 - BOR8b

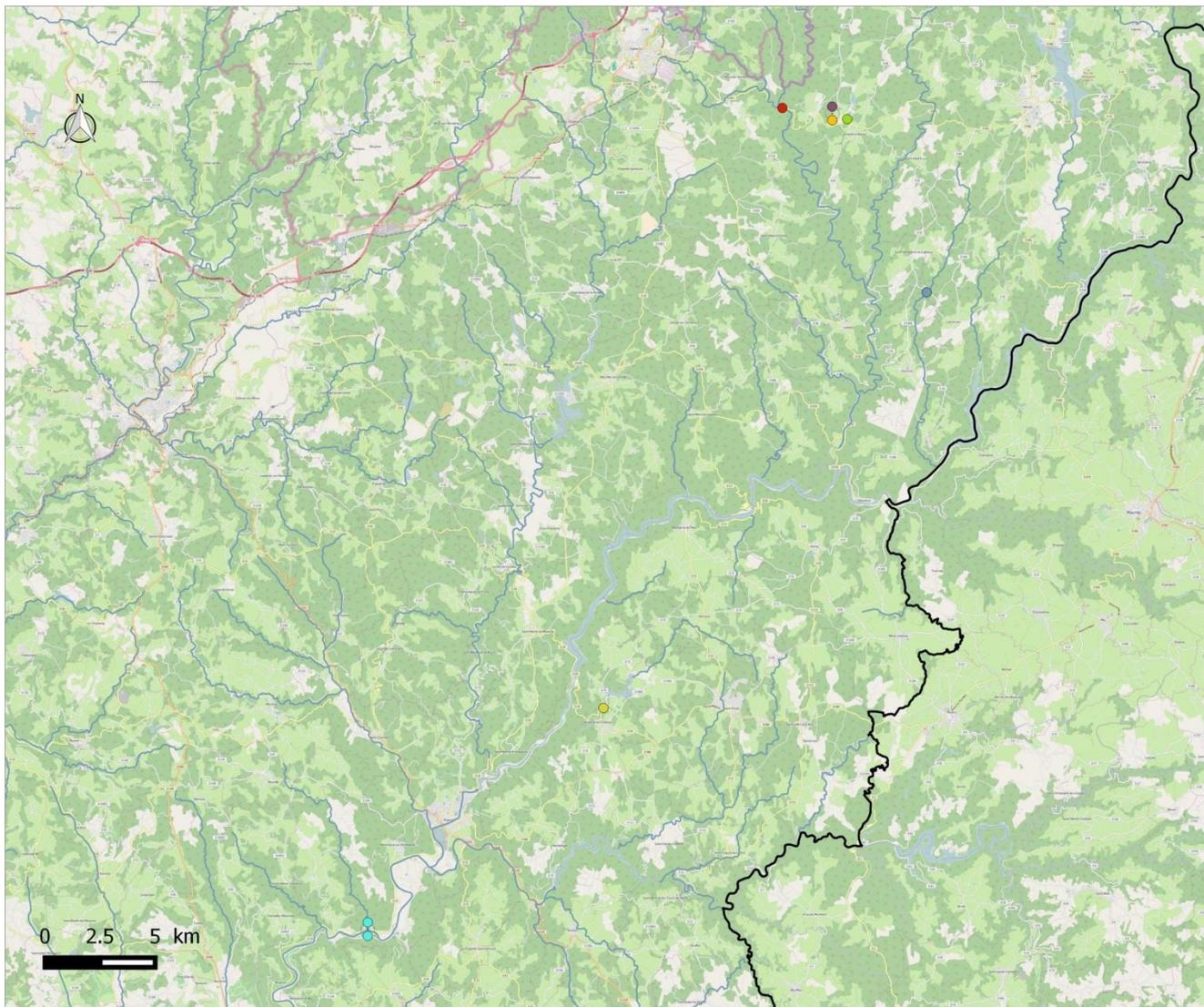


Figure 9 : Localisation des individus identifiés dans le secteur des gorges de la Dordogne – GMHL 2016

Les échantillons **ARG2** (2013) et **ARG2a** (2013) correspondent au même individu et ont été collectés à un jour d'intervalle sur le même site (Ruisseau de Combejean, commune de Monceaux-sur-Dordogne).

Les autres épreintes analysées semblent appartenir à des individus différents : **BOR8**, **BOR8b** et **BOR7** ont été trouvées à des endroits très proches en 2015 (étangs de Lamazière-Basse). La présence de plusieurs individus simultanément dans une même zone peut s'expliquer par le fait que les points de marquage sont situés sur des plans d'eau et qu'il n'est pas rare que plusieurs animaux se tolèrent temporairement dans les zones où la nourriture est abondante, comme c'est souvent le cas dans les étangs ou les lacs (Etienne 2005).

Une quatrième loutre distincte (**BOR4**) est présente sur la Luzège à trois kilomètres à vol d'oiseau de ce groupe de loutres. Ces animaux peuvent effectuer des déplacements de plusieurs kilomètres sur la terre ferme (Kuhn 2011).

L'étude réalisée par Romuald Dohogne et Frédéric Leblanc (GMHL 2005) avait indiqué que « les limites de répartition de la loutre en 1989, pourtant évaluées sans connaître l'emplacement exact des barrages, correspondent très bien avec l'emplacement de plusieurs de ces aménagements. On observe pourtant que la Loutre était déjà présente en aval de plusieurs barrages, ce qui suggère qu'elle pouvait déjà surmonter ces obstacles ». Ainsi, les barrages semblent avoir eu un impact significatif sur l'avancée des loutres en Limousin. Si l'espèce est présente de part et d'autre de toutes les infrastructures hydroélectriques à l'heure actuelle, nous souhaitons savoir comment les animaux utilisaient l'espace aux abords des barrages : un même individu fréquente-t-il l'amont et l'aval ? Les individus sont-ils séparés par le barrage ? Les individus présents de part et d'autre sont-ils apparentés ou au contraire génétiquement très éloignés ?

Le barrage semblant le plus problématique est celui de l'Aigle à Soursac (19) qui présente une hauteur de près de 80 m dans une vallée très encaissée. Les voies d'accès terrestres pour la loutre sont réduites car elle est contrainte de passer sur la route sur près de deux kilomètres, des falaises rendant le passage très compliqué – si ce n'est impossible – de chaque côté du barrage. Ainsi, les loutres passent vraisemblablement par voie terrestre en amont des affluents.

Le faible nombre d'épreintes découvertes en amont et en aval direct du barrage de l'Aigle ne permettent pas de savoir si les individus présents de part et d'autre de l'obstacle sont apparentés ou non et, de fait, si les échanges sont aisés entre l'amont et l'aval de la structure. L'étude n'a pas permis de répondre à la question. Toutefois les résultats en des analyses détaillées (cf figure 16) montrent que la population des gorges de la Dordogne montre une **homogénéité génétique** forte, ce qui pourrait être imputé à des mouvements d'individus plus difficiles dans le secteur d'Argentat.

b. Lac de Vassivière et environs



**Zone 2
Lac de
Vassivière**

individus

- VAS1
 - VAS11
 - VAS1-15
 - VAS13
 - VAS14
 - VAS2
 - VAS20
 - VAS20?
 - VAS4
 - VAS6
 - VAS6?
 - VAS6-15
 - VAS6b-15
 - VAS8
- département
— cours d'eau

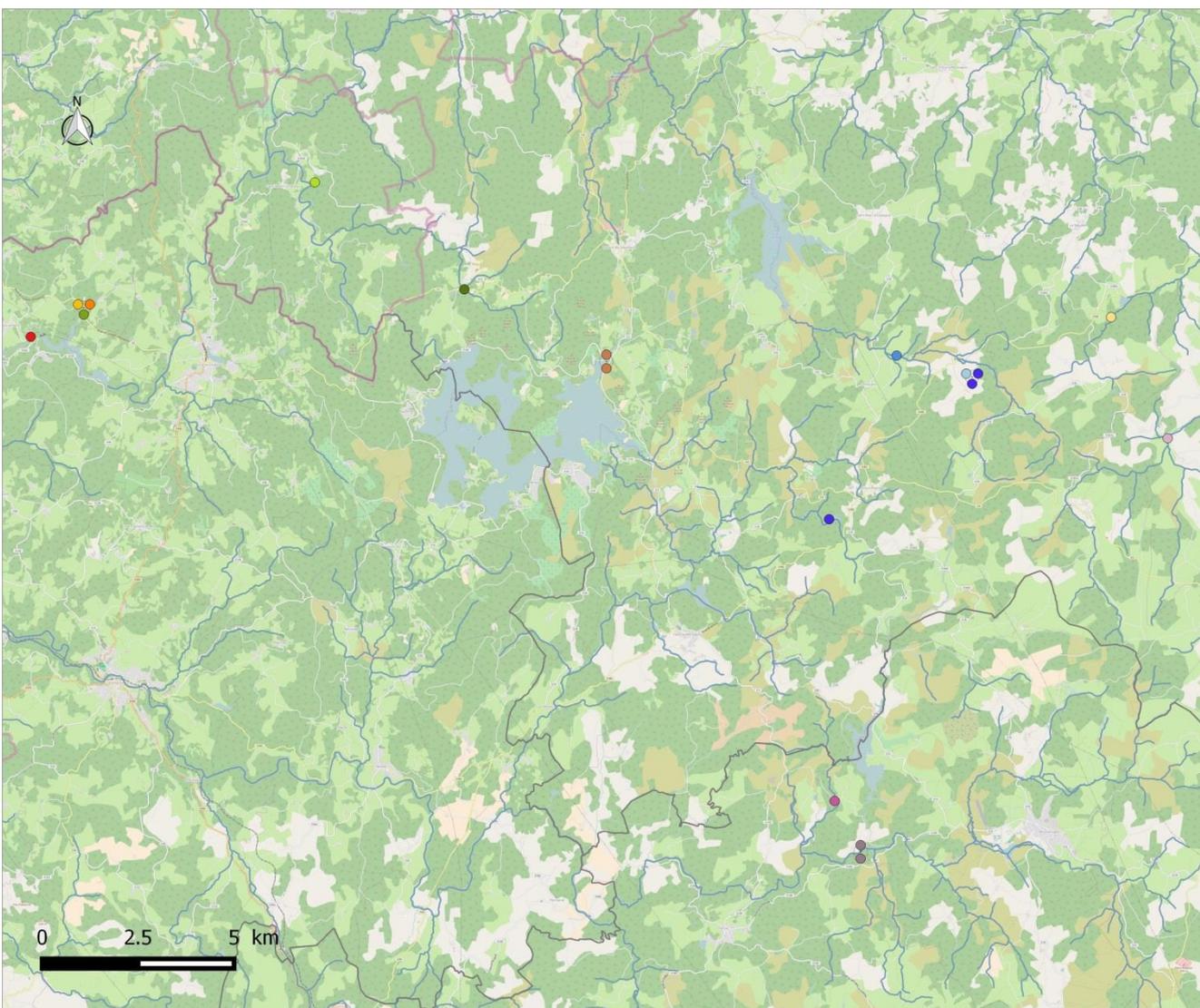


Figure 10 : Localisation des individus identifiés dans le secteur de Vassivière – GMHL 2016

Les échantillons **VAS21** (noté **VAS20?** sur la figure 10) et **VAS20** collectés respectivement à Peyrelevade et Faux-La-Montagne sont situés à environ cinq kilomètres l'un de l'autre en suivant le cours d'eau. Ils ont été ramassés au cours de la même journée – le 12 mars 2015 - et appartiennent possiblement au même individu. Ceci indique qu'une loutre peut effectuer des déplacements rapides sur une grande distance.

Les échantillons **VAS1** (2013) et **VAS12** (2013) - noté **VAS1** dans la figure 10 - correspondent au même individu, mais ont été collectés à deux endroits différents de la commune de Gentioux-Pigerolles (soit environ sept kilomètres à vol d'oiseau, 13 km en passant par les cours d'eau et la terre ferme) : *Etang des Chabannes* pour **VAS1** (2013) et *Etang de Tra-la-Sagne* pour **VAS12/VAS1** (2013). Le même constat s'observe entre les échantillons **VAS5a** 2013 (noté **Vas6 ?**) et **VAS6** 2013. Ceux-ci pourraient correspondre au même individu et ont été collectés sur le même ruisseau (Ruisseau de Masgrangeas) mais pas sur les mêmes communes (Royère de Vassivière pour **VAS 5a/VAS6 ?** (2013) et St-Julien-le-Petit pour **Vas 6** 2013). La distance entre ces deux zones est de 14 km à vol d'oiseau mais de près de **38 km** en suivant le cours de la Maulde, confirmant que les loutres pourraient effectuer des distances importantes et rapidement (collectes des épreintes en l'espace de

deux jours : 09/03 et 10/03 2013), en longeant la même rivière. Le degré d'homologie entre les génotypes des deux épreintes étant très moyen (52%), ce résultat doit cependant être interprété avec beaucoup de précaution car les deux épreintes pourraient avoir été effectuées par des individus **différents mais apparentés**. Des études ont en effet montré que les individus présents dans le même secteur tendent à être apparentés (Hung *et al.* 2004, Lanszki *et al.* 2008).

Il semble qu'au moins 13 individus aient été recensés sur 12 sites dans le secteur de Vassivière entre 2012 et 2015. Les épreintes collectées au même endroit (pour deux sites) à deux ans d'intervalle semblent provenir d'individus différents. La difficulté à obtenir des échantillons complets est probablement en partie responsable de cette constatation, toutefois, dans l'éventualité où les individus sont effectivement différents, cela signifierait que le renouvellement est important dans ce secteur ou que le site serve de point de marquage pour des individus errants ou non-résidents (appelés « floaters » in Hung *et al.* 2004).

Les loutres semblent occuper des territoires de grande taille dans le secteur de Vassivière. Une étude complémentaire, en utilisant le marquage par isotope stable des épreintes, par exemple, pourrait être intéressante et peut-être plus simple à mettre en œuvre pour évaluer l'occupation des sites par la loutre (Bodey *et al.* 2011). La taille des territoires semble plus importante que ce à quoi nous nous attendions pour le secteur où la loutre n'a jamais disparu. Ceci pourrait être dû à la faible productivité des cours d'eau induite par les **obstacles** (barrages) ainsi que par l'**acidification** générée par l'enrésinement (MacDonald et Mason 1989, 2009).

c. Limoges Métropole

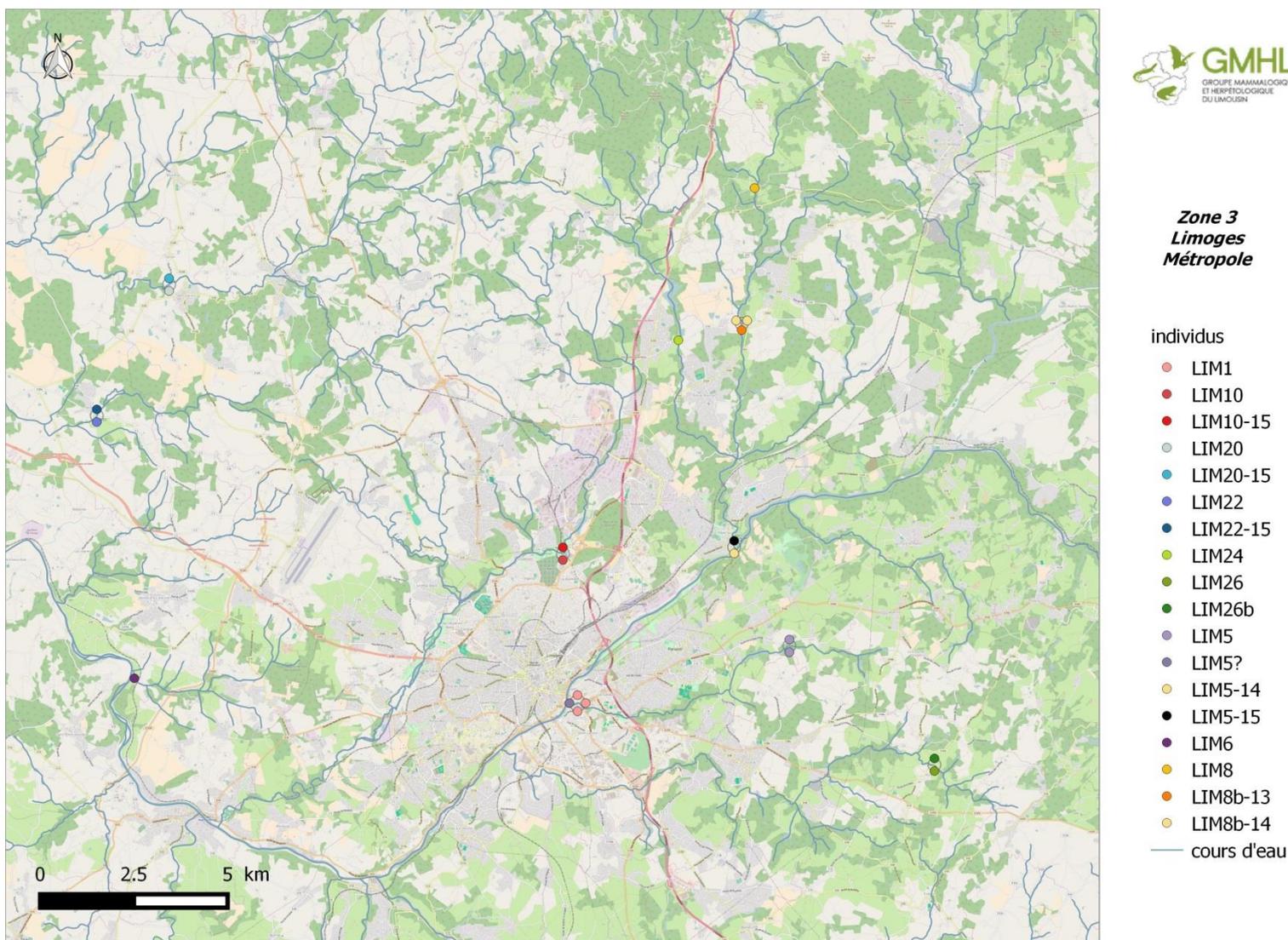


Figure 11 : Localisation des individus identifiés dans le secteur de Limoges Métropole – GMHL 2016

Les échantillons **LIM5-14** (25-2-14) et **LIM8b** (20-1-14) avec 80% d'identité sur 10 loci (données manquantes pour 4 loci) pourraient appartenir au même individu. Les deux sites de marquage sont distants d'une dizaine de kilomètres via le cours d'eau (ruisseau du Palais et la Cane). Cet individu fréquenterait et exploiterait ces cours d'eau malgré l'urbanisation importante de certains tronçons. Le point LIM5-14 est à la confluence avec la Vienne qui s'écoule au travers de Limoges et sert probablement de corridor majeur au déplacement des loutres présentes dans la métropole de Limoges et leur permet de relier les multiples affluents.

Un autre exemple - quoique devant être interprété avec précaution étant donné le pourcentage d'homologie moyen (65%) entre les génotypes obtenus - concerne les échantillons **LIM4** noté **LIM5?** sur la carte (à Limoges) et **LIM5** (à Panazol) qui pourraient appartenir au même individu. Si tel est le cas, cet individu utilise au moins 10 km de cours d'eau (épreintes collectées respectivement le 02/03/2013 et le 20/03/2013).

Les autres épreintes semblent toutes appartenir à des individus différents. Ainsi, si tel est le cas, au moins neuf individus seraient potentiellement présents à Limoges et ses environs au cours d'une

année donnée et **au moins 17 individus différents** ont été recensés lors de l'étude 2012-2015. Les territoires s'étendent vraisemblablement à minima sur **une dizaine de kilomètres** de linéaire de cours d'eau autour de Limoges.

La figure 16 montre que les individus analysés dans les environs de Limoges présentent une **structure génétique assez variée**. En effet, le type limousin est bien présent mais les types du Massif central, de l'Atlantique et même de Bretagne y sont observés à plusieurs reprises. Les échanges avec les populations de l'est et de l'ouest semblent se faire rétablir suite à la régression des populations des années 80.

d. Gorges de la Grande Creuse



Zone 4 Gorges de la Grande Creuse

- individus
- CRE3
 - CRE4
 - CRE5
 - CRE8
- département

Figure 12 : Localisation des individus identifiés dans le secteur de la Grande Creuse – GMHL 2016

Seules six épreintes ont été collectées dans la zone de la Grande Creuse. Quatre d'entre elles sont pu être exploitées et semblent appartenir à des individus différents.

Les barrages localisés sur la Grande Creuse ne posent pas de problème au vu de leur configuration : relativement bas, facilement contournables par la terre sans franchir de routes passantes.

Figure 13 : Le barrage de Champsanglard (23) est sans doute aisément franchissable par la Loutre, les abords étant accessibles aux déplacements terrestres et la fréquentation de la route étant réduite



e. Parc Naturel Régional Périgord-Limousin coté limousin



**Zone 5
PNR Périgord
Limousin**

- individus
- SUD1
 - SUD12
 - SUD1b
 - SUD2
 - SUD2?
 - SUD3
 - SUD8
 - cours d'eau

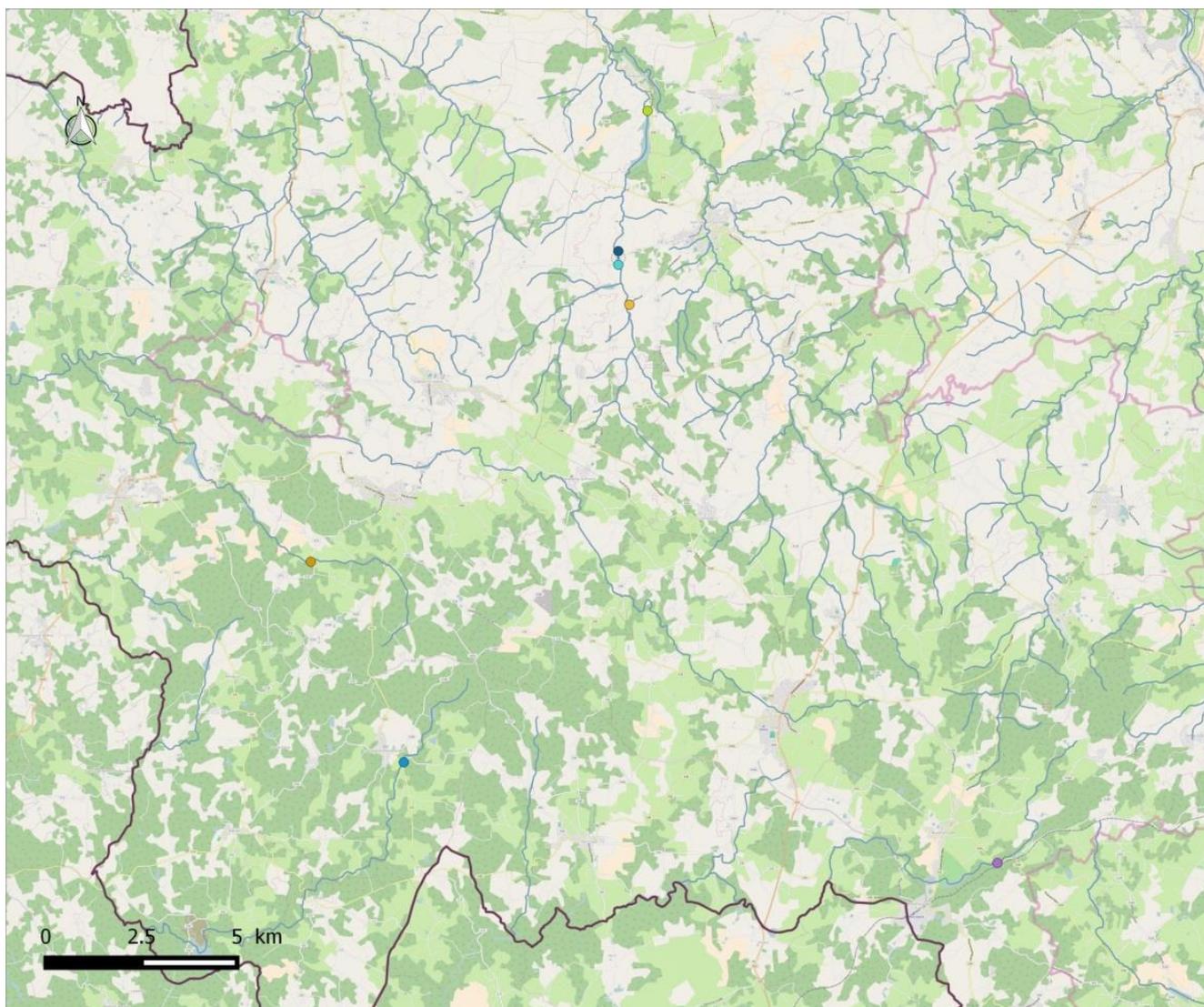


Figure 14 : Localisation des individus identifiés dans le sud du PNR Périgord-Limousin – GMHL 2016

Les échantillons **SUD11** noté **SUD2?** et **SUD2** collectés à 10 km de distance (Saint-Laurent-sur-Gorre et Cussac) et à un jour d'intervalle (2 et 3 février 2015) apparaissent similaires (cf figure 14). S'ils appartaient bien à un même individu, ces résultats confirmeraient la **mobilité importante de la loutre sur un court espace de temps**, ce qui avait été déjà proposé au cours de la précédente étude (2013).

Les individus échantillonnés dans cette zone montrent un patron génétique assez varié bien que le type limousin soit majoritaire. Ainsi, les individus montrent des assemblages génétiques semblables en partie aux populations de **l'Atlantique** et du **Massif central** (cf figure 16). Les échanges entre ces populations semblent se faire progressivement, la majorité des individus échantillonnés ayant encore une forte proportion de type limousin.

f. Sexage des individus

L'amplification du marqueur Lut-SRY, spécifique au chromosome sexuel Y, a montré que, parmi les échantillons étudiés, **au moins 13 sont des mâles** (GMHL7 2015, LIM20 17-02-15, LIME 16-03-15, SUD12 05-02-15, SUD2 02-02-15, SUD8 07-02-15, VAS A 2015, LIM1 2014, LIM5 25-2-14, LIM6 2014, LIM8b 20-1-2014, LIM10 2014, LIM22 2014). Les analyses indiquent que trois individus sont probablement des mâles même si cela n'a pas pu être confirmé avec certitude (LIM8b 22-01-14, LIM24 25-2-14 et 27-2-14). Il est habituel, pour la Loutre d'Europe, d'obtenir une plus grande proportion de mâles dans les échantillonnages non invasifs basés sur des épreintes.

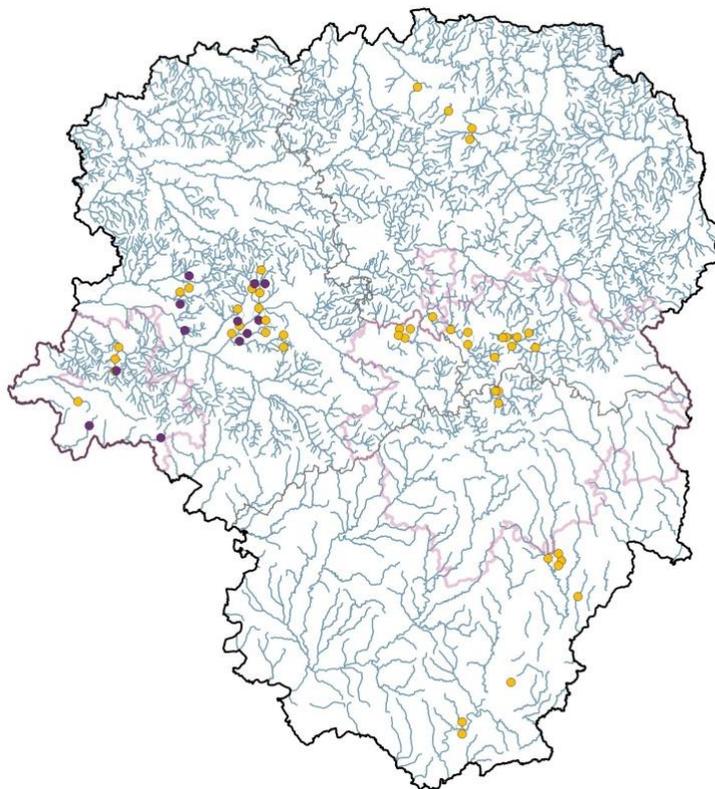


Figure 15 : Localisation des individus en fonction de leur sexe (mâles : violet, femelles ou non identifiés : jaune) – GMHL 2016

B. Structure génétique des populations de loutres au niveau de la région Limousin

Les analyses **confirment l'homogénéité génétique au sein des populations de loutres de la région Limousin**. En effet, presque tous ces animaux sont repris dans le même groupe génétique. Néanmoins, certains individus semblent présenter un patron génétique d'une autre région ou bien un patron « mixé » (cf figure 16), suggérant des échanges entre populations, ce qui est confirmé par les faibles valeurs de FST entre le cluster du Limousin et les clusters atlantique (FST = 0,1408) et du Massif Central (FST = 0,0982) notamment.

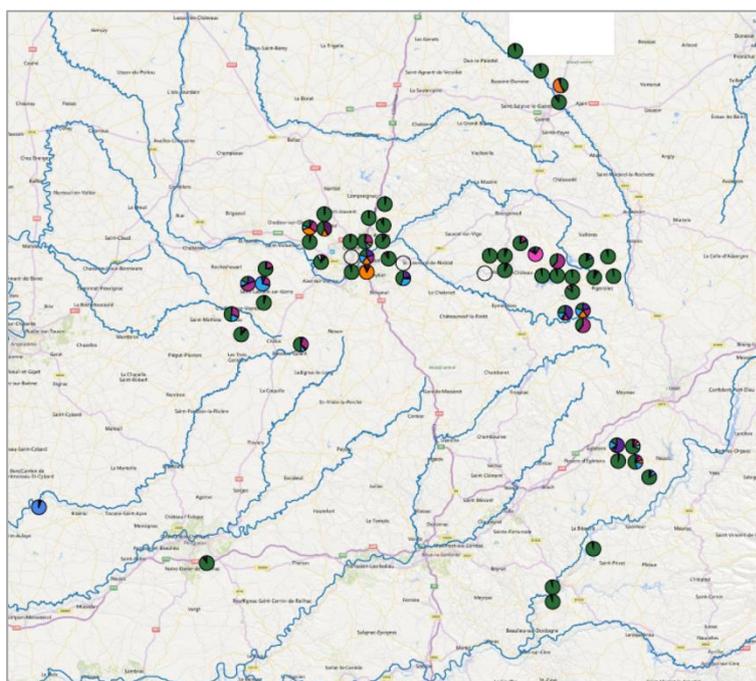


Figure 16 : Résultats de l'analyse de clustering pour la région Limousin – Michaux et Pigneur 2016

Pour rappel, l'indice FST (indice de fixation) donne des valeurs comprises entre 0 et 1. Plus la valeur est proche de 0, plus le flux de gènes entre les populations est intense et plus la valeur augmente, plus les populations se distinguent (on dit alors qu'elles sont fixées pour différents allèles). Les valeurs relativement faibles observées ici, en particulier avec le Sud-Ouest du Massif Central, suggèrent bien des **flux de gènes assez importants entre ces groupes distincts**.

a. Diversité génétique de la population du Limousin

La diversité génétique observée dans la région Limousin, représentée ici par la richesse allélique ($A_r = 3.01 [1.49-4.42]$) semble **assez proche des valeurs des autres populations du Sud-Ouest**. La valeur de l'indice de consanguinité FIS ($-0.0683 [-0.1784-0.1324]$) est peu élevée et ne traduit **pas de problème de consanguinité**.

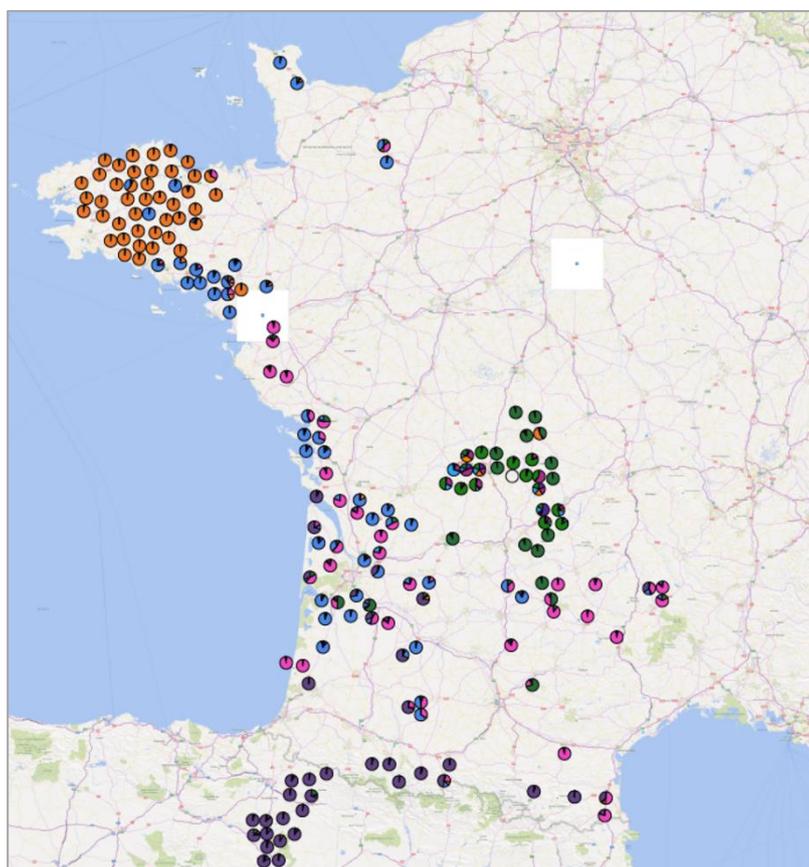
Ce résultat démontre l'intérêt d'avoir étudié un nombre plus important d'échantillons pour la région Limousin, puisque les précédentes études (basée sur 20 et 10 échantillons respectivement) tendaient à montrer un signal de consanguinité plus élevé. Les résultats de cette nouvelle étude donnent ainsi une image plus précise de la santé génétique de cette population et tend à démontrer que celle-ci est **saine**, avec un **faible risque de dépression de consanguinité**.

b. Relations génétiques entre les populations du Limousin et celles du Sud-Ouest de la France

L'analyse générale de clustering³ a permis de mettre en évidence 5 groupes génétiques au sein de l'échantillonnage analysé.

L'assignation des différents échantillons étudiés au sein de ces cinq groupes génétiques est représentée à la figure 17. Cette analyse montre une structuration géographique importante de ces groupes génétiques, ceux-ci représentant cinq régions particulières : le Limousin, la façade Atlantique, le Sud-Ouest du Massif Central, la région des Pyrénées et la Bretagne.

Figure 17 : Résultats de l'analyse de clustering pour la France et la Navarre – Michaux et Pigneur 2016



³ Clustering : ensemble d'allèles présentant des similarités

Lorsque ces informations sont replacées sur une carte géographique, cette structuration géographique apparaît encore plus clairement, démontrant une fois encore la spécificité de la région Limousin (cluster vert) (cf figure 17). Néanmoins, il est intéressant de remarquer que certains individus du groupe génétique « vert » sont présents dans d'autres régions comme le Sud-Ouest du Massif Central et même jusqu'au niveau de la façade Atlantique. **Ce résultat confirme des mouvements de loutres à longue distance et des contacts de plus en plus marqués entre les différentes populations du Sud-Ouest de la France.** Ce phénomène pourrait être lié à un phénomène de recolonisation des rivières françaises à partir de différentes régions refuges dont celle du Limousin. Ce lien avec le Sud-Ouest du Massif Central (Aveyron) est confirmé par l'analyse discriminante en composantes principales (DAPC) (cf annexe 5) qui suggère un fort recouvrement entre les loutres de ces deux régions (également avec la population de la façade atlantique).

CONCLUSION

En conclusion, la mutualisation des données acquises entre 2013 et 2015 a permis d'analyser au total 60 échantillons de fèces présentant une qualité d'ADN suffisante pour développer une étude génétique. Les résultats obtenus ont permis d'apporter de nouvelles informations concernant les relations entre la population de loutres de la région Limousin et celles des autres régions de France.

Une série de contacts entre les grands groupes génétiques observés a ainsi pu être mise en évidence, malgré la confirmation d'une entité génétique bien spécifique pour la région du Limousin. Celle-ci correspond probablement à une région refuge particulière où l'espèce a survécu durant les persécutions qu'elle a subies au cours du 20^{ième} siècle.

Cette étude a également permis d'évaluer de manière plus précise la structure génétique de la population de la région Limousin. Les résultats démontrent l'absence d'une structure génétique au niveau géographique, suggérant des **mouvements importants d'animaux au niveau de cette région et l'absence de barrière physique infranchissable pour l'espèce.** La découverte de patrons génétiques similaires pour plusieurs épreintes collectées sur des sites différents tend à confirmer cette hypothèse puisque les loutres semblent se déplacer sur de **grandes distances** (10 km et même plus de 20km) en un laps de temps très court (une ou deux journées). Ces derniers résultats sont toutefois à prendre avec une certaine précaution puisque certains génotypes sont incomplets en raison de la dégradation de l'ADN provenant des fèces.

Afin d'évaluer la dispersion des individus et de connaître plus finement la densité et la dynamique de la population de loutres dans le Limousin, il sera nécessaire de recourir à des échantillonnages génétiques supplémentaires ou à la mise en place d'une étude des déplacements par marquage des épreintes avec des isotopes stables. Les résultats observés ici tendent à montrer que les obstacles supposés tels que les barrages (même importants comme celui de l'Aigle) ou les grandes agglomérations ne constituent pas une gêne aux déplacements de l'espèce. L'utilisation déduite des espaces occupés tendrait à montrer que les territoires des loutres sont dépendants de la ressource en proies comme cela est souvent mentionné dans la littérature. **Une étude comparative entre la taille des territoires en différents habitats du Limousin (zones enrésinées des plateaux, zones bocagères de basse altitude...) et la richesse trophique des cours d'eau serait très intéressante à mener afin de juger de l'impact de certaines pratiques sylvicoles ou agricoles.**

BIBLIOGRAPHIE

- Barataud *et al.* 1996. Inventaires des mammifères sur le plateau de Millevaches (Limousin, France). *Groupe de recherches sur le terrain VZZ*, 99 pages.
- Bellanger C. 2004. La Loutre d'Europe *Lutra lutra* en Basse Corrèze. Les facteurs influençant sa répartition. *Rapport de stage de BTS Gestion et Protection de la Nature*, 47 pages.
- Bodeyy *et al.* Invasions and stable isotope analysis – informing ecology and management. Pages 148-151 n: Veitch, C. R.; Clout, M. N. and Towns, D. R. (eds.). 2011. Island invasives: eradication and management. IUCN, Gland, Switzerland.
- Bouchardy C. et Boulade Y., 1999. Etude sur le potentiel de recolonisation par la loutre du bassin versant de la Haute-Dordogne. *Catiche Production*, 71 pages.
- Chanin P., 2003. Ecology of European otter. *English Nature*, 64 pages.
- Chanin P., 2003. Monitoring the otter. *English Nature*, 43 pages.
- Constant J. 2003. Répartition et colonisation des cours d'eau par le Loutre d'Europe *Lutra lutra* dans le PNR Périgord-Limousin. *Rapport de stage de BTS Gestion et Protection de la Nature*, 41 pages.
- Dallas J.F. *et al.* 2003. Similar estimates of population genetic composition and sex ratio derived from carcasses and faeces of Eurasian otter *Lutra lutra*. *Molecular ecology*, 12 (1): 275–282.
- Gallant *et al.* 2008. Evaluating bridge survey ability to detect river otter *Lontra canadensis* presence: a comparative study. *Wildlife Biology*, 14:1
- GMHL 2001. Mammifères, reptiles et amphibiens du Limousin. Groupe Mammalogique et Herpétologique du Limousin, 215p.
- Guischer V., 2003. Analyse des facteurs favorables et défavorables à la recolonisation de la Loutre d'Europe *Lutra lutra* en Haute-Vienne. *Rapport de stage DESS Espace rural et environnement*, 50 pages.
- Gruber *et al.* 2008. A new method for estimating visitation rates of cryptic animals via repeated surveys of indirect signs. *Journal of Applied Ecology*, 45 : 728–735.
- Hájková *et al.* 2006. Factors affecting success of PCR amplification of microsatellite loci from otter faeces. *Molecular Ecology Notes*, 6 (2) : 559–562.
- Hung C.M., Li S. H. et Lee L.L. 2004. Faecal DNA typing to determine the abundance and spatial organization of otters (*Lutra lutra*) along two stream systems in Kinmen. *Animal Conservation*, 7 (3) : 301-311.
- Janssens X. *et al.* 2007. Genetic pattern of the recent recovery of European otters in southern France. *Ecography*, 31(2) : 176–186.
- Jenkins D. et Burrows G.O. 1980. Ecology of Otters in Northern Scotland. III. The use of faeces as indicators of Otter (*Lutra lutra*) density and distribution. *Journal of Animal Ecology*, 49 (3): 755-774.
- Koelewijn H. P. et al. 2010. The reintroduction of the Eurasian otter (*Lutra lutra*) into the Netherlands: hidden life revealed by noninvasive genetic monitoring. *Conservation Genetics*, 11 (2): 601-614.

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*, 111p.

Lanszki J. *et al.* 2008. Relative spraint density and genetic structure of otter (*Lutra lutra*) along the Drava River in Hungary. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde*, 73 (1) : 40-47.

Latch E.K. *et al.* 2008. Deciphering ecological barriers to north american River Otter (*Lontra canadensis*) gene flow in the Louisiana landscape. *Journal of Heredity* 99(3): 265-274.

Leblanc F. et Dohogne R., 2005. La Loutre en Limousin. *Rapport d'étude du GMHL*, 79 pages.

MacDonald S. M. et Mason C. F. 2009. Acidification and otter (*Lutra lutra*) distribution on a British river. *Mammalia*, 51(1) : 81-88.

MacDonald S. M. et Mason C. F. 1994. Status and conservation needs of the otter (*Lutra lutra*) in the western Palaearctic. *Council of Europe Press, Nature and Environment* n°67, 45 p.

MacDonald S. M. et Mason C. F. 1989. Acidification and other (*Lutra lutra*) distribution in Scotland. *Water, Air, and Soil Pollution*, 43 (3) : 365-374.

Prigioni C., Remonti L. et Balestrieri A. 2006. Otter *Lutra lutra* movements assessed by genotyped spraints in southern Italy. *Hystrix It. J. Mamm (n.s.)*, 17 (1): 91-96.

Thuair N., 2004. Répartition de la Loutre d'Europe *Lutra lutra* en Corrèze. *Rapport de stage MST Aménagement et Environnement*, 83 pages.