



***Suivi génétique du
Lièvre variable
Hiver 2017
Premiers résultats***



23 mars 2017

1 - PROBLEMATIQUE ET ENJEUX

Le lièvre variable est une espèce patrimoniale du Parc national de la Vanoise, emblématique de la haute montagne. Artico-alpin, il peut être sensible aux modifications du climat et entrer en concurrence avec le lièvre européen, sans doute favorisé par le réchauffement climatique. De plus, les populations alpines sont fragmentées et isolées, ce qui fragilise le statut de cette espèce gibier dont les tendances démographiques sont totalement inconnues. Les études conduites par le Parc national des Écrins dans les années 1980 (« Le lièvre variable dans le massif des Écrins », Michel Bouche, Les documents scientifiques du Parc national des Écrins 1989) et par l'ONCFS dans les années 90 et 2000 à Vars (05) n'ont pas donné de résultats permettant de suivre ces populations.

En 2009, l'étude menée par l'Office national de la chasse et de la faune sauvage sur la réserve de Ristolas (05) ouvre de nouveaux horizons : l'analyse génétique des crottes, effectuée en parallèle d'une étude de *distance sampling*¹, a montré qu'il était possible d'individualiser les prélèvements. La méthode de « *capture-recapture* » sur un échantillonnage aléatoire de crottes peut donc permettre d'estimer l'abondance de Lièvre variable sur des sites de référence. Le lièvre variable est un animal non territorial mais solitaire et nocturne, dont les densités peuvent atteindre 2 à 5 animaux aux 100 hectares dans les Alpes. La production quotidienne de crottes est estimée à environ 350-400 (Lindlof, 1981 - Bouche, 1988). La faible détectabilité de l'espèce (due notamment à son comportement, à sa faible abondance et à des difficultés d'accès à l'habitat) la rend difficile à étudier par des méthodes de suivi classiques. L'outil génétique offre donc l'avantage de réaliser des suivis non seulement individualisés mais aussi non invasifs.

Une étude a été engagée en 2013 dans le Parc national des Ecrins pour mettre en oeuvre ce protocole de récolte et d'analyse génétique de crottes. Il doit permettre la reconnaissance individuelle des animaux pour le suivi de l'abondance de populations de lièvre variable. Cette étude apportera également des informations sur la répartition de cette espèce et la sympatrie² avec le lièvre européen, l'utilisation du milieu et les taux de survie des individus.

Depuis, d'autres partenaires se sont (ou vont) également impliqués dans ce protocole (Fédération départementale des chasseurs de la Drôme, de la Savoie, de l'Isère, de la Haute Savoie, des Hautes-Alpes, le Parc national du Mercantour, le Parc naturel régional du Queyras, l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage ...)

2 – OBJECTIFS

En 2017, le Parc national de la Vanoise a mis en œuvre ce protocole de suivi du lièvre variable (via l'analyse génétique de crottes) sur quatre sites d'étude.

Les objectifs de ce protocole sont les suivants :

¹ Le Distance Sampling, est une technique d'estimation des populations d'espèces animales basée sur la mesure des distances de détection des individus ou groupe d'individus.

² La sympatrie désigne l'existence de deux espèces phylogénétiquement proches, vivant sur un même territoire, mais ne s'hybridant pas

- A. Etudier la démographie et le fonctionnement des populations de lièvre variable sur le massif alpin (estimation de l'abondance des lièvres variables, suivi de l'évolution de cette abondance dans des sites de référence, utilisation de l'espace).
- B. Etudier les relations entre lièvres variables et lièvres européens (sympatrie et hybridation). L'étude de ces relations offrira, outre des aspects de connaissance fondamentale, des éléments directement applicables à la gestion de l'espèce *Lepus timidus*.

3 – SITES D'ETUDE

En 2017, quatre sites d'étude ont fait l'objet de ce protocole :

- La réserve naturelle nationale du Plan de Tueda (1116 hectares, altitude min : 1695 m, altitude max : 3138 m)
- La réserve naturelle nationale de la Grande Sassièrre, (666 hectares, altitude min : 1801 m, altitude max : 2929 m)
- Le site d'Aussois au dessus de Modane, (1182 hectares, altitude min : 2209 m, altitude max : 3621 m)
- Le site de Plan du Lac en Haute Maurienne. (1232 hectares, altitude min : 1973 m, altitude max : 2889 m).

4 – PROTOCOLE

4-1 Période

Ce programme fait l'objet de journées de prospection en mode de déplacement hivernal sécuritaire (skis de randonnée ou raquettes à neige) entre janvier et avril.

Afin d'optimiser la réussite des analyses génétiques, le site est parcouru en hiver, quelques jours (1 à 5 jours) après une chute de neige car cela répond à plusieurs avantages :

- augmentation des déplacements des animaux et dilution de la répartition des crottes ;
- visibilité des crottes augmentée pour la collecte sur la neige ;
- datation des crottes possible (postérieure à la dernière chute de neige) ;
- meilleure conservation de l'ADN en hiver et collecte de crottes fraîches (postérieures à la dernière chute de neige) ;
- présence d'adultes reproducteurs seulement, effectifs stables hors prédation et mortalité naturelle.

4-2 Collecte et conditionnement des échantillons prélevés (crottes)

- L'objectif est de collecter, lors des quatre passages répartis sur la saison hivernale, environ 120 échantillons (crottes) par site d'étude.
- 1 à « n » parcours doivent être définis par site d'étude. Ceux-ci doivent couvrir l'intégralité surfacique du site et demandent une bonne visibilité.

- Tous les échantillons (crottes) sont collectés et étiquetés puis conservés individuellement dans un flacon, leur position relevée par GPS. Les échantillons seront par la suite acheminés vers le laboratoire d'analyses³.

Pour information : les tubes dans lesquels sont disposées les crottes contiennent des cristaux de silicagel qui permettent de déshydrater l'échantillon, de fixer l'ADN et de limiter le développement bactérien et fongique. Chaque échantillon doit être déposé dans le tube sans qu'il y ait de contacts avec les mains (les différentes couches de tissus qui constituent la peau secrètent des enzymes qui dégradent l'ADN).

4-3 Observateurs

Le protocole est mis en oeuvre par les agents du Parc national de la Vanoise. Chaque parcours doit être réalisé en binôme si les conditions de sécurité le nécessitent.

5 – PREMIERS RESULTATS

En 2017, sur l'ensemble des quatre sites d'étude, 550 échantillons (crottes) ont été collectés par les équipes du Parc national de la Vanoise. 491 d'entre eux ont été transmis pour analyses génétiques au laboratoire ANTAGENE. Le tableau 1 présente les résultats de cette collecte pour chaque site d'étude.

Tableau 1 : Répartition par site d'étude du nombre d'échantillons transmis au laboratoire et dates de collecte

Site de référence	Date prélèvement	Somme
Aussois	24/01/2017	37
	16/02/2017	18
	17/02/2017	14
	16/03/2017	4
	17/03/2017	16
	28/03/2017	15
	29/03/2017	18
Somme Aussois		122
Plan-du Lac	30/01/2017	28
	16/02/2017	22
	15/03/2017	40
	30/03/2017	23
Somme Plan-du Lac		113
RNN Sassièra	13/02/2017	19
	14/02/2017	20
	15/02/2017	14
	27/03/2017	13
	30/03/2017	14
	06/04/2017	32
	07/04/2017	8
Somme RNN Sassièra		120
RNN Tuéda	24/01/2017	43
	13/02/2017	35
	13/03/2017	14
	14/03/2017	14
	05/04/2017	26
	06/04/2017	4
Somme RNN Tuéda		136
Total		491

³ Laboratoire ANTAGENE à Lyon

5-1 Analyse génétique

Le génotypage⁴ des échantillons a été effectué par le laboratoire ANTAGENE de La Tour de Salvagny (69890).

Les résultats du génotypage des lièvres du Parc national de la Vanoise porte sur 12 marqueurs microsatellites polymorphes qui conduisent à une forte probabilité d'identification individuelle. Sur les 491 échantillons transmis au laboratoire, 430 sont informatifs. Le taux de succès d'amplification, habituellement compris entre 50% et 60% et ici de 88%. Tout cela confère une très grande fiabilité des empreintes et de l'assignation des différents lièvres.

Les 430 échantillons, génotypés avec plus de 8 marqueurs, ont permis :

- D'identifier 111 empreintes génétiques différentes (cf. tableau 2), chaque lièvre possédant une empreinte génétique unique.
- De sexer les individus (cf. tableau 3)
- De constater l'absence d'hybride entre les deux espèces sur cette session de suivi.

Les tableaux 2 et 3 présentent les résultats des analyses statistiques génétiques.

Tableau 2 : Nombre d'individus et espèces détectés

Espèce			
Site	europaeus	timidus	Total
Aussois		24	24
Plan-du Lac		27	27
RNN Sassièrè	1	18	19
RNN Tuéda	5	36	41
Total	6	105	111

Tableau 3 : Sexe des individus détectés

Sexe						
Site	000000	XX	XY	Total		Sexe Ratio
Aussois		1	10	13	24	54,2%
Plan-du Lac			13	14	27	51,9%
m Sassièrè			7	12	19	63,2%
Rn Tuéda			17	24	41	58,5%
Total	1		47	63	111	56,8%

Remarques :

- le sexage d'un des échantillons n'a pas pu être réalisé, celui-ci est codé 00000.
- Le sexe ratio est globalement équilibré (1 :1)

5-2 Analyse Spatiale

Les premières analyses spatiales montrent une grande cohérence dans ces résultats sur la répartition des deux espèces en hiver, les lièvres européens ne se rencontrant qu'aux altitudes les plus basses du parcours.

⁴ Le génotype est une partie donnée de l'information génétique (composition génétique) d'un individu. Le génotype d'un individu est donc la composition allélique de tous les gènes de cet individu.

L'observation la plus élevée de lièvre européen se situe à 1778 m d'altitude.
L'altitude la plus basse atteinte par un lièvre variable est de 1705 m d'altitude.

On constate également que les espaces utilisés par chaque animal se recoupent, ce qui confirme que le lièvre variable n'est pas territorial.

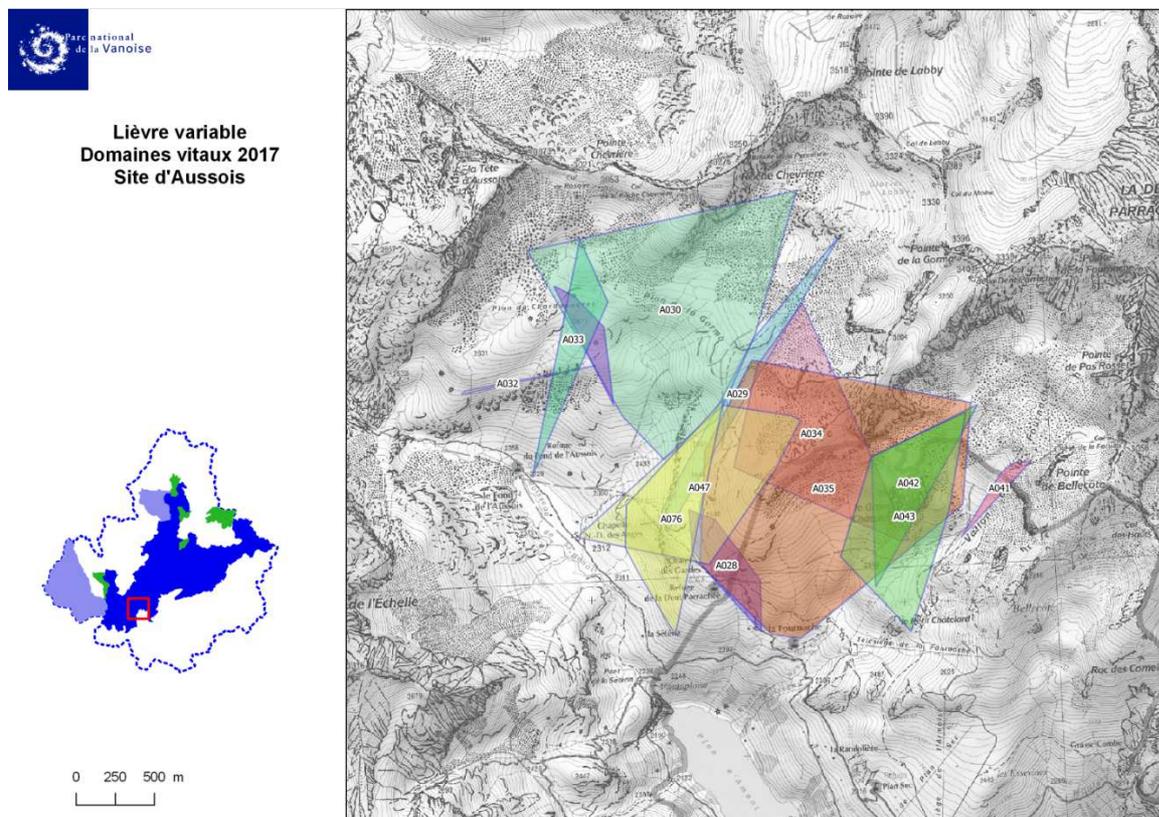
Le dessin des polygones entre tous les pointages de chaque individu, donne une idée de l'espace utilisé par un individu au cours de l'hiver mais également au cours des quelques jours qui suivent une chute de neige. Le tableau 4 présente les principales caractéristiques de ces « domaines vitaux hivernaux ».

Tableau 4 : caractéristiques des domaines vitaux hivernaux

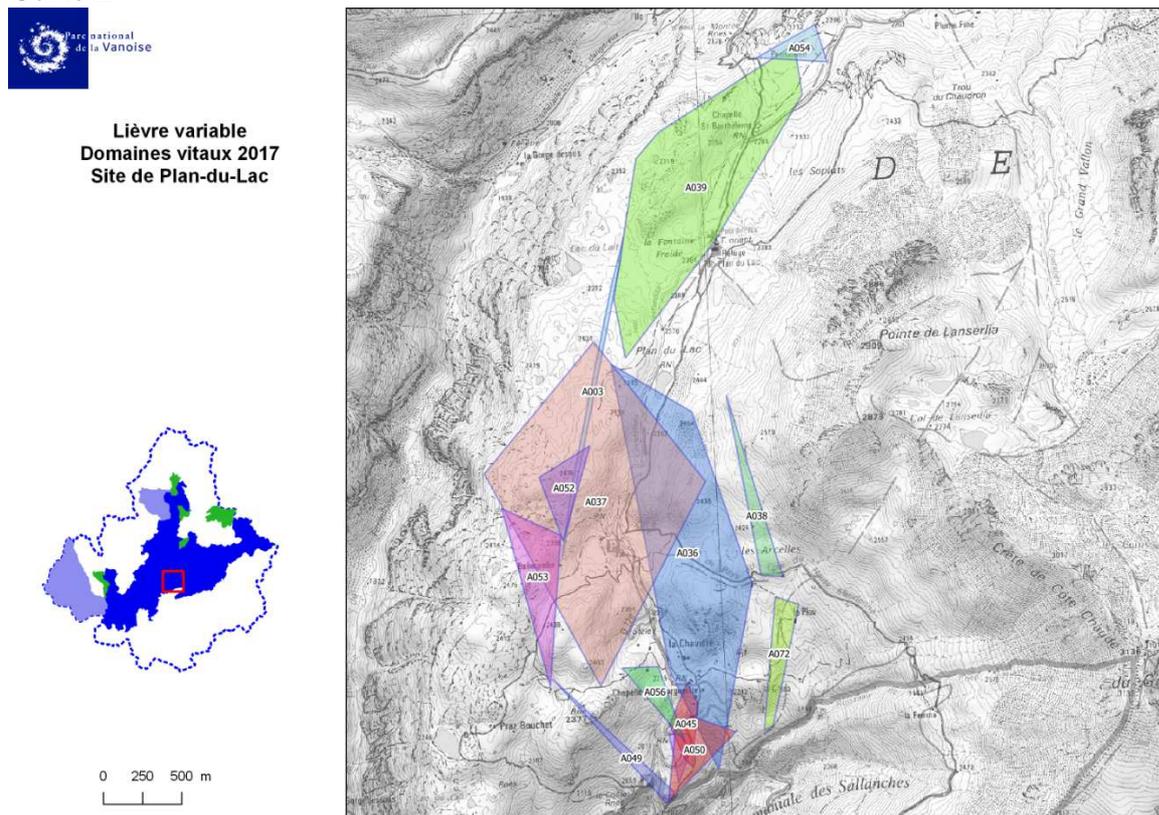
Site	N° Lievre	Sexe	Espèce	Caractéristiques des domaines vitaux			
				Surface (ha)	Diagonale la plus grande (m)	Altitude min (m)	Altitude max (m)
Aussois	A031	XY	timidus	8	858	2 560	2 741
Aussois	A032	XY	timidus	0.7	878	2 553	2 613
Aussois	A028	XX	timidus	15.5	912	2 383	2 621
Aussois	A030	XY	timidus	160.5	1 936	2 478	3 100
Aussois	A033	XX	timidus	19.9	1 560	2 323	2 805
Aussois	A035	XY	timidus	216.7	1 963	2 374	3 148
Aussois	A029	XX	timidus	22.2	2 194	2 512	3 012
Aussois	A042	XX	timidus	28.9	1 342	2 511	2 859
Aussois	A041	XY	timidus	3.4	666	2 622	2 846
Aussois	A076	XX	timidus	41.5	1 551	2 336	2 700
Aussois	A043	XY	timidus	60.2	1 453	2 497	2 840
Aussois	A047	XY	timidus	71.9	1 617	2 316	2 795
Aussois	A034	XY	timidus	77.5	1 668	2 578	3 010
Plan-du Lac	A038	XX	timidus	8	1 222	2 358	2 525
Plan-du Lac	A050	XX	timidus	10.8	625	2 035	2 150
Plan-du Lac	A039	XY	timidus	100.2	2 284	2 220	2 412
Plan-du Lac	A036	XY	timidus	110.6	2 703	2 005	2 452
Plan-du Lac	A037	XY	timidus	156.4	2 114	2 270	2 484
Plan-du Lac	A053	XY	timidus	18.9	1 188	2 303	2 467
Plan-du Lac	A044	XY	timidus	2.6	321	2 074	2 127
Plan-du Lac	A049	XX	timidus	4.6	1 088	2 032	2 375
Plan-du Lac	A003	XY	timidus	4.7	2 114	2 357	2 462
Plan-du Lac	A054	XX	timidus	5.3	452	2 217	2 259
Plan-du Lac	A045	XY	timidus	5.4	537	2 092	2 212
Plan-du Lac	A056	XX	timidus	5.6	616	2 120	2 289
Plan-du Lac	A052	XX	timidus	8.2	637	2 398	2 484
Plan-du Lac	A072	XY	timidus	8.6	837	2 107	2 315
Rn Tuéda	A012	XY	timidus	6	490	2 026	2 127
Rn Tuéda	A005	XX	timidus	0.1	91	2 016	2 020
Rn Tuéda	A018	XY	timidus	0.4	158	2 026	2 060
Rn Tuéda	A024	XY	europaeus	0.5	377	1 710	1 716
Rn Tuéda	A008	XY	timidus	0.7	393	1 904	2 037
Rn Tuéda	A019	XY	timidus	10.8	458	1 705	1 918
Rn Tuéda	A004	XY	timidus	135.4	2 339	1 845	2 334
Rn Tuéda	A020	XY	timidus	15.7	1 243	1 775	2 364
Rn Tuéda	A015	XX	timidus	16.2	3 342	1 921	2 279
Rn Tuéda	A027	XY	timidus	18.5	1 115	1 746	2 019
Rn Tuéda	A057	XX	europaeus	20.9	989	1 700	1 778
Rn Tuéda	A013	XY	timidus	22.7	1 260	2 020	2 139
Rn Tuéda	A001	XY	timidus	3.1	344	1 760	1 815
Rn Tuéda	A016	XY	timidus	3.3	547	2 078	2 134
Rn Tuéda	A021	XY	timidus	4.8	1 086	2 090	2 409
Rn Tuéda	A014	XX	timidus	5.9	523	2 053	2 175
Rn Tuéda	A006	XX	timidus	59.9	1 471	2 020	2 439
Sassière	A061	XY	timidus	121	1 706	2 351	2 772
Sassière	A066	XY	timidus	0.9	305	2 437	2 467
Sassière	A065	XX	timidus	11.3	692	2 457	2 607
Sassière	A064	XY	timidus	15.9	941	2 321	2 555
Sassière	A068	XX	timidus	16.9	651	2 421	2 522
Sassière	A060	XX	timidus	18.4	1 318	2 132	2 514
Sassière	A075	XY	timidus	19.1	2 208	1 982	2 586
Sassière	A069	XY	timidus	19.4	1 453	2 462	2 736
Sassière	A063	XX	timidus	21.7	1 455	2 270	2 331
Sassière	A062	XY	timidus	45.4	987	2 400	2 608
Sassière	A058	XY	timidus	7.7	2 260	2 109	2 537
Sassière	A059	XX	timidus	72.7	2 882	2 284	2 539

Les cartes 1, 2, 3 et 4 illustrent les domaines vitaux hivernaux (ainsi que leurs recouvrements) sur les différents sites d'étude.

Carte 1



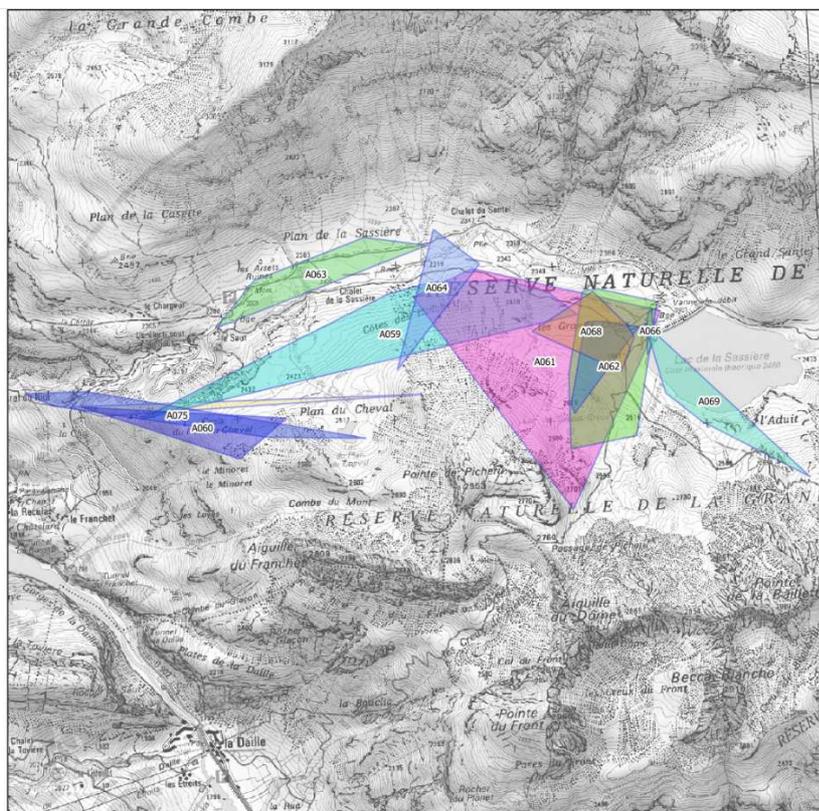
Carte 2



Carte 3



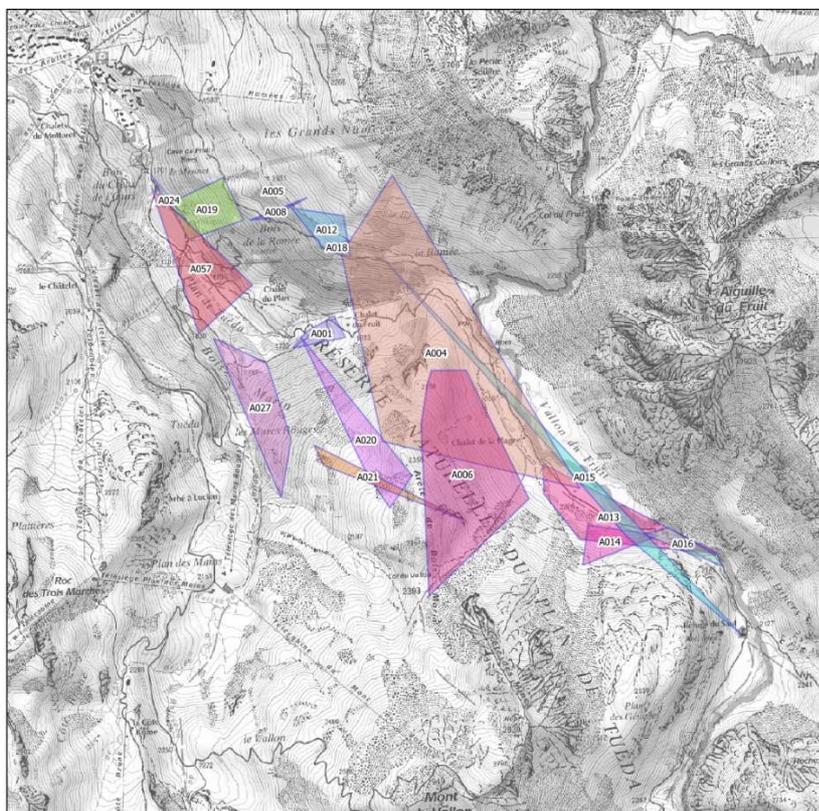
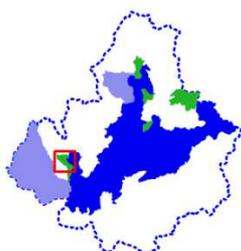
Lièvre variable
Domaines vitaux 2017
Site de la Grande Sassièrè



Carte 4

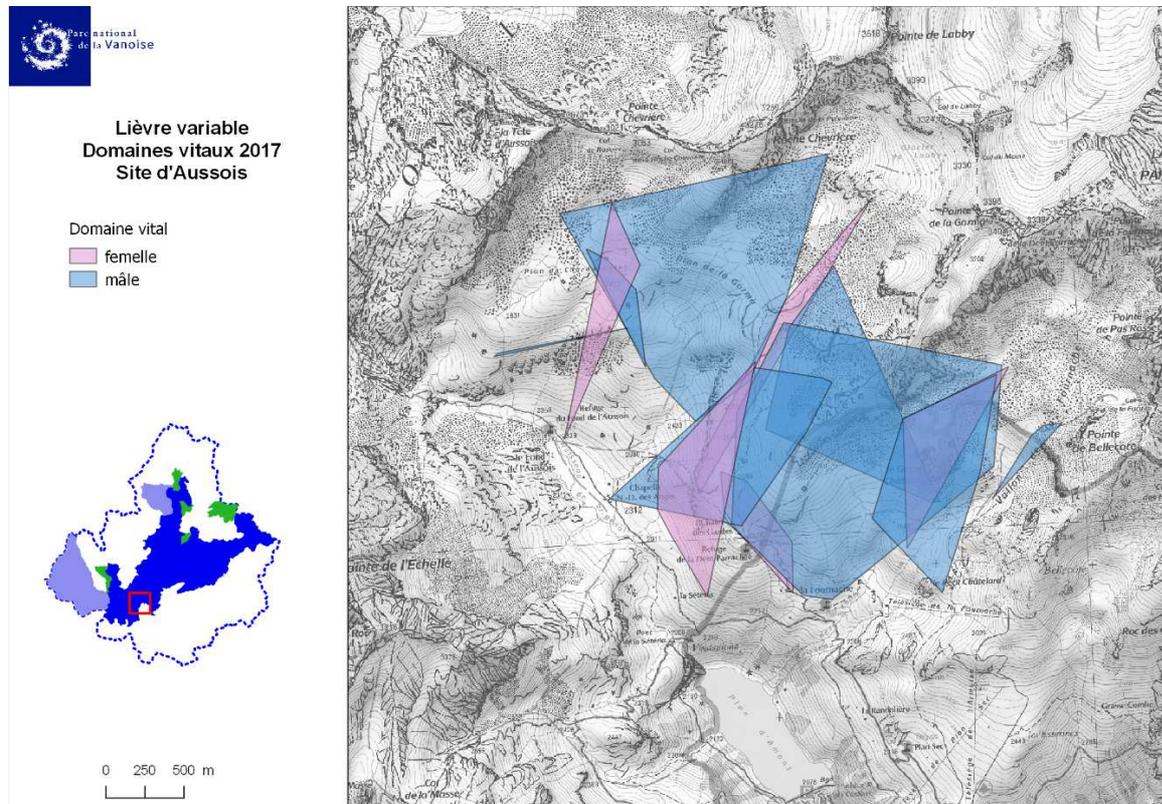


Lièvre variable
Domaines vitaux 2017
Site de Tuéda

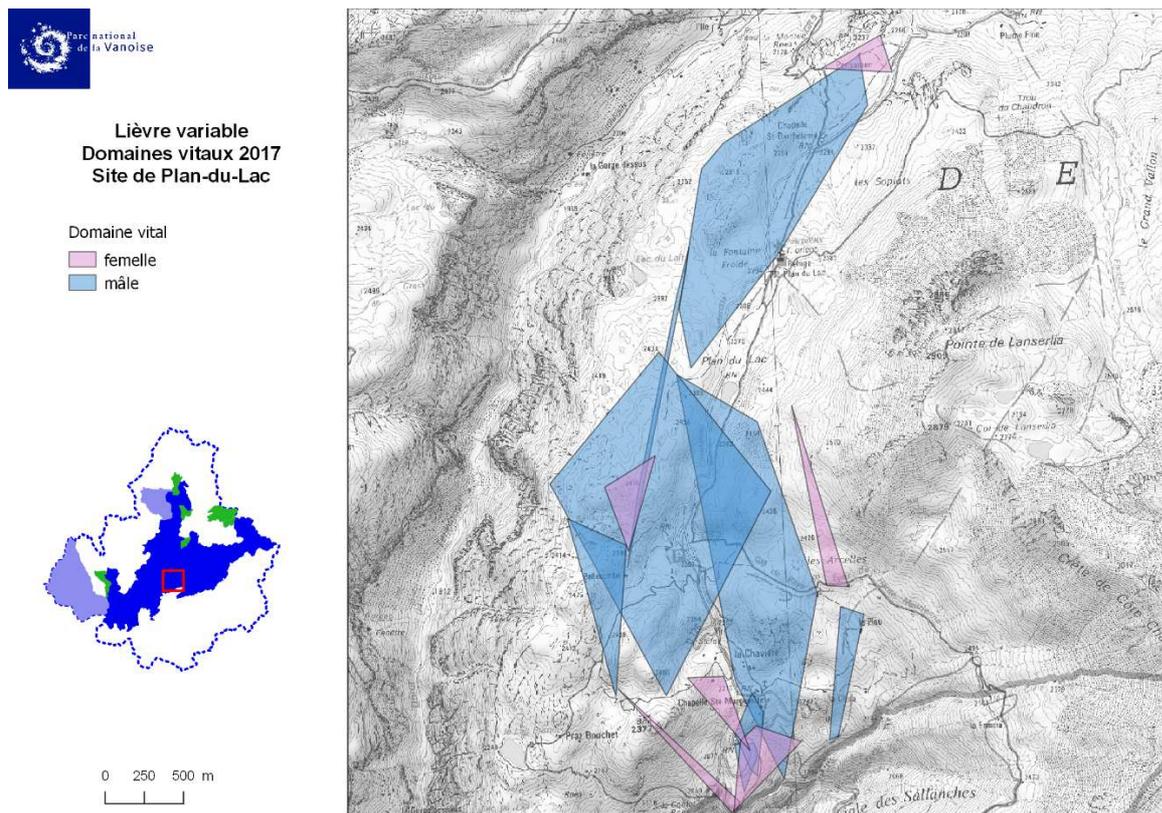


Les cartes 5, 6, 7 et 8 illustrent, par site d'étude, les recouvrements de domaines vitaux hivernaux entre mâles et femelles

Carte 5



Carte 6



Carte 7

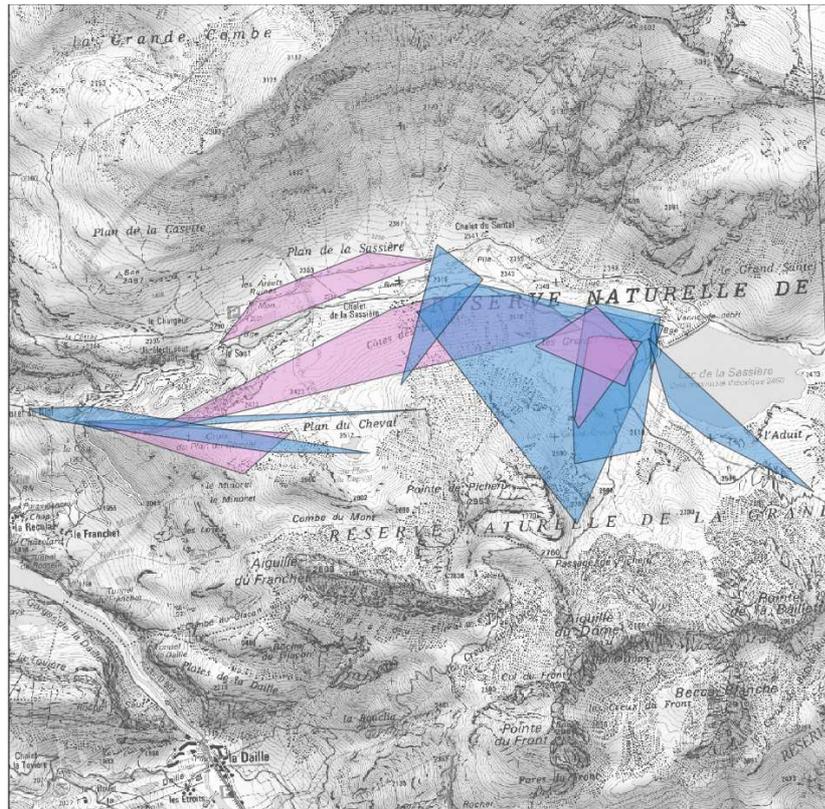


Lièvre variable Domaines vitaux 2017 Site de la Sassière

Domaine vital
 femelle
 mâle



0 250 500 m

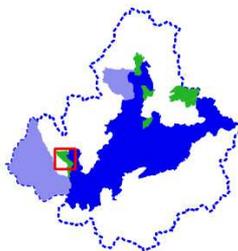


Carte 8

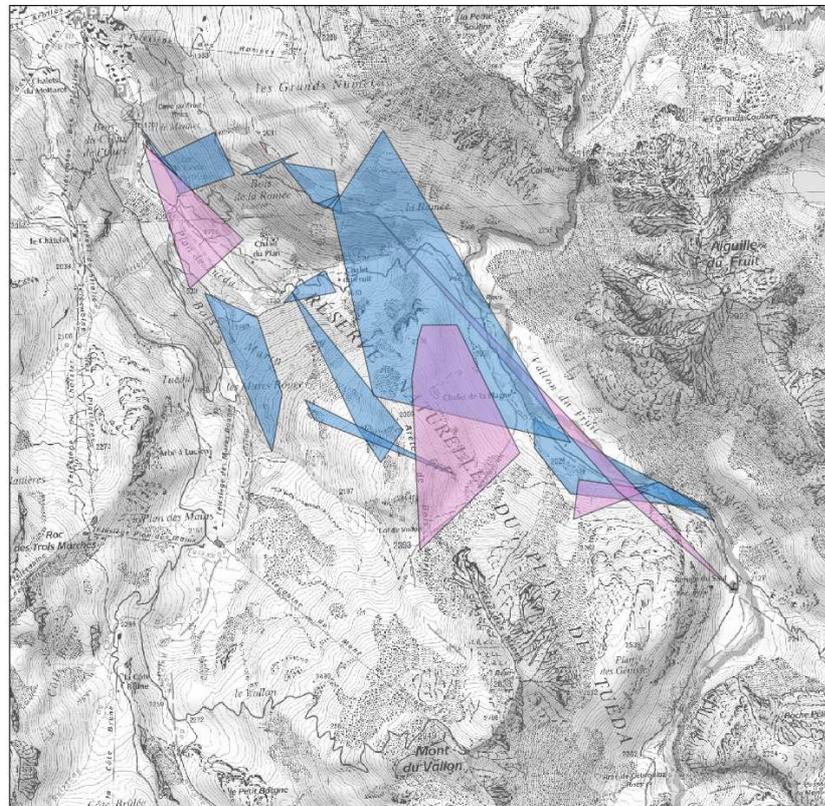


Lièvre variable Domaines vitaux 2017 Site de Tuéda

Domaine vital
 femelle
 mâle



0 250 500 m



L'analyse en capture / marquage / recapture devrait permettre d'estimer l'effectif de lièvres présents sur chacun des sites au cours de l'hiver 2016-2017.

5-3 Abondance

Une analyse bio-statistique des résultats (capture / marquage / recapture) devrait permettre d'estimer l'effectif de lièvres présents sur chacun des sites au cours de l'hiver 2016-2017 et de préciser les paramètres démographiques associés.

6 - BIBLIOGRAPHIE

Bouche, M., Imberdis, L. & Besnard, A. 2017. Monitoring mountain hares (*Lepus timidus*) population by collecting faeces in winter. Developing management tools in the Ecrins national park. P. 73 in : Bro, E. & Guillemain, M. (eds.). 2017. *33rd IUGB Congress & 14th Perdix Symposium abstract book*. ONCFS, Paris. 410 p.

Letty J., Beugin M-P, Kaerle C, Queney G., PotierD., Guitton, J-S.- 2017 Faune sauvage, n°317, Des marqueurs génétiques adaptés au suivi des populations de lièvre d'Europe et de lièvre variable, reconnaître les espèces, détecter les hybrides et recenser les individus

Bouche M. – 1989 - Le lièvre variable dans le massif des Écrins, Les documents scientifiques du Parc national des Écrins.