

Apport de la génétique pour l'étude de la
dynamique des populations de Loutre d'Europe
Lutra lutra (Linnaeus, 1758) en France

Lise-Marie PIGNEUR, Johan MICHAUX, Gaëlle CAUBLLOT,
Pascal FOURNIER, Daniel MARC, Franck SIMONNET & Gwenaël JACOB

DIRECTEUR DE LA PUBLICATION : Bruno David,
Président du Muséum national d'Histoire naturelle

RÉDACTEUR EN CHEF / *EDITOR-IN-CHIEF* : Jean-Philippe Siblet

ASSISTANTE DE RÉDACTION / *ASSISTANT EDITOR* : Sarah Figuet (naturae@mnhn.fr)

MISE EN PAGE / *PAGE LAYOUT* : Sarah Figuet

COMITÉ SCIENTIFIQUE / *SCIENTIFIC BOARD* :

Luc Abbadie (UPMC, Paris)
Luc Barbier (Parc naturel régional des caps et marais d'Opale, Colymbert)
Aurélien Besnard (CEFE, Montpellier)
Vincent Boulet (Expert indépendant flore/végétation, Frugières-le-Pin)
Hervé Brustel (École d'ingénieurs de Purpan, Toulouse)
Audrey Coreau (AFB, Vincennes)
Thierry Dutoit (UMR CNRS IMBE, Avignon)
Éric Feunteun (MNHN, Dinard)
Grégoire Gautier (Parc national des Cévennes, Florac)
Olivier Gilg (Réserves naturelles de France, Dijon)
Frédéric Gosselin (Irtsea, Nogent sur Vernisson)
Patrick Haffner (UMS PatriNat, Paris)
Frédéric Hendoux (MNHN, Paris)
Xavier Houard (OPIE, Guyancourt)
Isabelle Leviol (MNHN, Concarneau)
Francis Meunier (Conservatoire d'espaces naturels – Picardie, Amiens)
Serge Muller (MNHN, Paris)
Francis Olivereau (DREAL Centre, Orléans)
Laurent Poncet (UMS PatriNat, Paris)
Nicolas Poulet (AFB, Vincennes)
Jean-Philippe Sibley (UMS PatriNat, Paris)
Laurent Tillon (ONF, Paris)
Julien Touroult (UMS PatriNat, Paris)

COUVERTURE / *COVER* :

Lutra lutra (Linnaeus, 1758). Crédit photo : J. Michaux.

Naturae est une revue en flux continu publiée par les Publications scientifiques du Muséum, Paris / *Naturae* is a fast track journal published by the Museum Science Press, Paris

Les Publications scientifiques du Muséum publient aussi / *The Museum Science Press also publish*:
Adansonia, *Anthropozoologica*, *European Journal of Taxonomy*, *Geodiversitas*, *Zoosystema*.

Diffusion – Publications scientifiques Muséum national d'Histoire naturelle
CP 41 – 57 rue Cuvier F-75231 Paris cedex 05 (France)
Tél. : 33 (0)1 40 79 48 05 / Fax : 33 (0)1 40 79 38 40
diff.pub@mnhn.fr / <http://sciencepress.mnhn.fr>

© Publications scientifiques du Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, 2018
ISSN (imprimé / *print*) : 1280-9551 / ISSN (électronique / *electronic*) : 1638-9387

PHOTOCOPIES :

Les Publications scientifiques du Muséum adhèrent au Centre Français d'Exploitation du Droit de Copie (CFC), 20 rue des Grands Augustins, 75006 Paris. Le CFC est membre de l'*International Federation of Reproduction Rights Organisations (IFRRO)*. Aux États-Unis d'Amérique, contacter le *Copyright Clearance Center*, 27 Congress Street, Salem, Massachusetts 01970.

PHOTOCOPIES:

The Publications scientifiques du Muséum adhere to the Centre Français d'Exploitation du Droit de Copie (CFC), 20 rue des Grands Augustins, 75006 Paris. The CFC is a member of International Federation of Reproduction Rights Organisations (IFRRO). In USA, contact the Copyright Clearance Center, 27 Congress Street, Salem, Massachusetts 01970.

Apport de la génétique pour l'étude de la dynamique des populations de Loutre d'Europe *Lutra lutra* (Linnaeus, 1758) en France

Lise-Marie PIGNEUR
Johan MICHAUX

Université de Liège, GeCoLAB, Laboratoire de Génétique de la Conservation,
Institut de Botanique (Bât. 22), chemin de la vallée 4, B-4000 Liège (Belgique)
lpigneur@gmail.com
johan.michaux@uliege.be

Gaëlle CAUBLLOT

Groupe mammalogique et herpétologique du Limousin,
Pôle Nature Limousin, ZA du Moulin Cheyroux, F-87700 Aix-sur-Vienne (France)
g.caublot@gmhl.asso.fr

Pascal FOURNIER

Groupe de Recherche et d'Étude pour la Gestion de l'Environnement,
Route de Préchac, F-33730 Villandraut (France)
pfournier@wanadoo.fr

Daniel MARC

Conservatoire d'espaces naturels de Midi-Pyrénées (CEN MP),
75 voie du TOEC, BP 57611, F-31076 Toulouse Cedex 3 (France)
daniel.marc@espaces-naturels.fr

Franck SIMONNET

Groupe Mammalogique Breton, Maison de la Rivière, F- 29450 Sizun (France)
franck.simonnet@gmb.bzh

Gwenaël JACOB

Université de Fribourg, Département de Biologie,
Chemin du Musée 10, CH-1700 Fribourg (Suisse)
gwenael.jacob@unifr.ch

Soumis le 9 avril 2018 | Accepté le 17 juillet 2018 | Publié le 28 novembre 2018

Pigneur L.-M., Michaux J., Caublot G., Fournier P., Marc D., Simonnet F. & Jacob G. 2018. — Apport de la génétique pour l'étude de la dynamique des populations de Loutre d'Europe *Lutra lutra* (Linnaeus, 1758) en France. *Naturae* 2018 (6): 63-71. <http://revue-naturae.fr/2018/6>

RÉSUMÉ

Après un fort et rapide déclin en Europe au cours de la seconde moitié du XX^e siècle, la Loutre d'Europe *Lutra lutra* (Linnaeus, 1758) a survécu dans une série de noyaux de populations isolés d'où elle a entrepris la recolonisation de nombreux territoires. Une série d'études a tenté de mieux comprendre les raisons de l'expansion rapide de cette espèce rare et emblématique. Le développement récent de méthodes moléculaires a permis de développer diverses études de suivi des populations de loutres. Une part croissante des études génétiques sont basées sur la collecte et le génotypage d'indices de présence laissés par les individus, ne nécessitant pas la capture, ni même l'observation de l'espèce. Ces études ont permis d'améliorer nos connaissances concernant la biologie de la Loutre, de l'estimation de la

MOTS-CLÉS

Structure génétique,
suivi individuel,
échantillonnage
non-invasif.

KEYWORDS

Genetic structure,
individual identification,
non invasive sampling.

taille des populations à la dynamique de l'espèce. Cette synthèse fait le point sur les études génétiques réalisées sur la Loutre en Europe. Elle présente également les dernières études réalisées sur la majorité de l'aire de distribution de la Loutre en France. Cette synthèse ne vise pas à faire une étude bibliographique sur l'espèce, mais à mettre en évidence l'apport et les limites actuelles des analyses génétiques pour la compréhension de la biologie de la Loutre à différentes échelles d'espace et de temps. Ainsi, les résultats d'une étude génétique réalisée chez une espèce nord-américaine, la Loutre de rivière *Lontra canadensis* Schreber, 1777, sont aussi inclus dans cette synthèse.

ABSTRACT

Contribution of genetic studies to the understanding of the population dynamics of Eurasian otter (Lutra lutra (Linnaeus, 1758))

The Eurasian otter *Lutra lutra* (Linnaeus, 1758) experienced a dramatic decline in Europe during the 20th century, persisting only in small and spatially isolated populations. Since the 1970s and its legal protection in many regions, the species expanded in range and numbers, which stimulated scientific studies. The simultaneous development of molecular methods allowed scientists to adopt non-invasive sampling techniques for the monitoring of the species. These methods rely on the collection of cues of the species presence and neither requires to capture nor to observe the individuals. These studies improved our knowledge on the biology, population size and population dynamics of the species. The present article summarises the state of the art on otter in Europe based on recent genetic studies conducted throughout the species distribution range in France. We did not aim at an exhaustive review of studies on Eurasian otter, but rather at illustrating to what extent genetic studies contributed to our knowledge on otter biology at different temporal and spatial scales. Thus, innovative studies conducted on River otter *Lontra canadensis* Schreber, 1777 based on molecular methods were also included.

INTRODUCTION

Au cours des siècles précédents, la Loutre d'Europe *Lutra lutra* (Linnaeus, 1758) a été largement persécutée. Vue comme une concurrente en raison de son régime piscivore et piégée pour sa chair ou sa fourrure, elle n'a pas été épargnée. Le coup de grâce a suivi au XX^e siècle avec une intensification de ses destructions, une dramatique disparition de ses habitats, l'arrivée de polluants tels que les PCB (polychlorobiphényles) et la dégradation généralisée de la qualité de l'eau ou encore la raréfaction des proies.

Face à la diminution massive des populations en France, sa chasse fut interdite en 1972 et son statut de protection fut renforcé dès 1976. Malheureusement, à cette époque, la Loutre était déjà devenue très rare et seuls quelques « refuges » subsistaient, notamment dans le Massif central et sur la façade atlantique. La situation apparaissait ainsi critique pour l'espèce. Pourtant, dès la fin des années 1980 et le début des années 1990, la Loutre a peu à peu recolonisé naturellement une série de régions du Grand Sud Ouest de la France. Cette recolonisation est toujours en cours. La Loutre gagne ainsi du terrain jour après jour et se réinstalle actuellement à grande échelle sur près de la moitié du territoire français. Cependant, de nombreuses questions demeurent encore concernant l'ampleur de ce retour et l'origine des populations recolonisatrices (Defontaine 1999).

Grâce au développement des nouvelles technologies de biologie moléculaire et à l'utilisation d'approches dites « non invasives », basées sur l'étude des animaux à partir de leurs fèces ou toute autre matière biologique collectées sur le terrain (ex.

poils, urine, mucus, etc.), il a été possible d'étudier un large échantillonnage de loutres distribué sur la majorité de son aire de distribution française actuelle. Grâce à cette approche, il a été possible de mieux comprendre la biologie de la Loutre et les secrets de sa recolonisation progressive du territoire français après une diminution drastique de ses populations. Ainsi, le suivi de la Loutre par des méthodes génétiques « non-invasives » a permis de s'affranchir de certaines contraintes pratiques et technologiques des méthodes conventionnelles (télémétrie, identification individuelle). Cependant, l'application de procédures strictes lors des phases de collecte des échantillons, d'extraction d'ADN et d'identification individuelle sont indispensables pour pleinement exploiter les potentialités offertes par les méthodes « non-invasives ».

Cette synthèse présente les résultats récents issus d'analyses génétiques de populations de loutres en France, illustre l'apport de ces analyses dans la connaissance de la biologie de l'espèce et en quoi elles complètent les analyses conventionnelles, et fait le point sur les limites des méthodes moléculaires.

L'ADN AU SERVICE DES BIOLOGISTES POUR MIEUX CONNAÎTRE LA LOUTRE

Les collisions routières sont une cause fréquente de mortalité chez la Loutre, représentant jusqu'à 87 % des cas connus de mortalité dans une population (Koelewijn *et al.* 2010). Du fait de leur accessibilité et disponibilité, les carcasses ont été la première source d'ADN pour les études génétiques chez cette espèce, rapidement suivie par l'analyse d'échantillons

TABLEAU 1. — Taux de succès de génotypage de Loutre d'Europe à partir de différentes sources d'ADN. Chaque cellule ne contient qu'un seul noyau et plusieurs milliers de mitochondries. Il est donc plus aisé de déterminer l'haplotype mitochondrial que le génotype nucléaire à partir d'ADN dégradé.

Matériel	Marqueurs	Succès génotypage	Référence
Épreintes	Microsatellites	41,2 % (61/148)	Jacob (2012)
Épreintes	Microsatellites	58,3 %	Réseau Loutre LPO Rhône-Alpes & Jacob (2012)
Épreintes	Microsatellites	43,0 %	Vergara <i>et al.</i> (2014)
Épreintes	Mitochondrial	97,7 %	Vergara <i>et al.</i> (2014)
Muscle/peau	Microsatellites	100 % (5/5)	Jacob (2012)
Gelées anales	Microsatellites	71 %	Mowry <i>et al.</i> (2011)
Épreintes	Microsatellites	41,2 %	Prigioni <i>et al.</i> (2006)
Épreintes	Microsatellites	20 % (84/426)	Dallas <i>et al.</i> (2003)
Divers	Microsatellites	35,1 %	Lerone <i>et al.</i> (2014)

non-invasifs (Dallas *et al.* 2003). En effet, le développement des méthodes de biologie moléculaire a permis d'utiliser différents matériels comme source d'ADN. Ainsi, en plus d'échantillons de tissus et d'épreintes, les gelées anales déposées lors du marquage des territoires ou des poils arrachés par des branches ou des fils barbelés peuvent être utilisés pour mener des études génétiques. Tandis que les carcasses sont une source d'ADN de bonne qualité, les échantillons non-invasifs ne permettent d'extraire que de faibles quantités d'ADN, généralement dégradé. La qualité de la source d'ADN utilisée a un fort impact sur la proportion d'échantillons génotypés avec succès et sur la fiabilité des génotypes obtenus (Tableau 1). Cependant, malgré les difficultés techniques, la collecte d'échantillons non-invasifs reste majoritairement utilisée dans les études sur la Loutre car elle ne requiert pas de contact direct avec l'espèce et perturbe moins le comportement des individus. L'utilisation de ce type de matériel demande une grande rigueur, tant au niveau des protocoles de collecte et de conservation des échantillons (Hajkova *et al.* 2006) que de l'amplification des marqueurs génétiques (Lampa *et al.* 2007). Une telle rigueur est essentielle afin de s'assurer de la bonne exploitation des données obtenues et de la fiabilité des résultats (voir Annexe 1).

UNE LONGUE HISTOIRE ÉVOLUTIVE DE LA LOUTRE EN EUROPE

Les analyses phylogénétiques suggèrent que la tribu des *Lutrinae*, actuellement représenté par 13 espèces, regroupe trois lignées évolutives distinctes qui auraient divergé au cours du Miocène (–14 à –11 Ma) à partir d'un ancêtre commun vivant dans le sud de l'Asie (Koepfli & Wayne 1998). La première lignée n'est représentée que par une seule espèce, la Loutre géante d'Amazonie *Pteronura brasiliensis* (Gmelin, 1788). La deuxième lignée regroupe les quatre espèces du genre *Lontra* Gray, 1843, lesquelles auraient emprunté le détroit de Béring dès la fin du Pliocène pour coloniser le

continent américain (Prassack 2016). La troisième lignée, à l'origine des huit espèces de loutres de l'Ancien Monde, dont la Loutre d'Europe *Lutra lutra*, aurait colonisé les continents asiatique, européen et africain durant le Pléistocène (–2,6 Ma à –12 000 ans).

Lors du dernier maximum glaciaire (–22 000 à –16 000 ans), l'Europe du Nord (Scandinavie et nord des îles Britanniques) a été couverte par une importante calotte glaciaire, tandis que le quart nord-est de la péninsule européenne était recouvert de permafrost et de végétation de type toundroïde à steppique. Ce type d'environnement a empêché la Loutre de survivre dans la majorité des régions européennes, à l'exception des péninsules méditerranéennes, au climat plus tempéré. Au terme de la période glaciaire, il y a 3000 ans, la Loutre a pu commencer à étendre progressivement son aire de répartition jusqu'à coloniser la majeure partie de l'Europe. Le même haplotype mitochondrial est retrouvé à une fréquence très élevée dans toutes les populations étudiées (Ferrando *et al.* 2004; Pérez-Haro *et al.* 2005; Mucci *et al.* 2010). Cette observation suggère que les populations européennes partageraient une origine commune, et donc, que l'espèce aurait survécu dans un refuge unique situé vraisemblablement dans le sud de la péninsule italienne ou dans l'est de l'Europe.

La présence d'haplotypes rares et spécifiques est cependant observée chez les populations du Danemark (Mucci *et al.* 1999), de Suède (Honnén *et al.* 2011), d'Allemagne (Cassens *et al.* 2000), de la péninsule Ibérique (Ferrando *et al.* 2004; Pérez-Haro *et al.* 2005), de Finlande (Honnén *et al.* 2015), d'Italie (Ketmaier & Bernardini 2005), d'Irlande (Finnegan & Néill 2010), des îles Britanniques (Stanton *et al.* 2009), d'Israël (Cohen *et al.* 2013) et de France (Jacob 2012). Ces haplotypes mitochondriaux, résultats de l'accumulation de mutations au fil des générations, sont restés confinés dans la région où ils sont apparus du fait de la faible capacité de dispersion des femelles (l'ADN mitochondrial est transmis par la mère; voir Annexe 1).

Dans le cadre du suivi génétique de la Loutre dans la région Rhône-Alpes (Jacob 2012), nous avons détecté l'haplotype *Lut 1* commun à toutes les populations de loutres d'Europe et décrit un nouvel haplotype *Lut 16* (numéro d'ordre GenBank MH078056) qui pourrait être spécifique aux populations de l'est du Massif central. Un troisième haplotype *Lut 3*, a été observé dans la population de Haute-Savoie. Cet haplotype, identifié comme provenant d'une souche captive d'origine hybride probable (lignée-*b* de l'Otter Trust), a été retrouvé dans l'est de l'Angleterre (Stanton *et al.* 2009), dans le nord de l'Allemagne (Cassens *et al.* 2000) et dans différentes populations captives en Europe (Pérez-Haro *et al.* 2005; Mucci *et al.* 2010). La présence de cet haplotype suggère que la population de Haute-Savoie aurait bénéficié d'un renforcement démographique à partir d'individus issus de captivité. Les deux individus identifiés sur l'Arve montraient des signes de différenciation génétique et portaient certains allèles que l'on ne retrouvait dans aucune autre population de Rhône-Alpes. Cependant, le faible nombre d'individus disponibles ne nous a pas permis de conduire des analyses plus complètes.

UNE RÉGRESSION IMPORTANTE DEPUIS PLUSIEURS MILLIERS D'ANNÉES SUIVIE D'UNE RECOLONISATION RÉCENTE

L'expansion démographique de l'Homme en Europe coïncide avec le déclin de la Loutre, probablement suite à une traque intensive pour sa fourrure et d'une compétition pour les ressources en poisson (Pertoldi *et al.* 2001). Ainsi, depuis plusieurs millénaires, la Loutre a persisté à des densités plus faibles dans les régions les plus anthropisées, ce qui a fortement contraint le brassage génétique entre populations.

Depuis la fin du XIX^e, la persécution de la Loutre s'est intensifiée, pour conduire à une fragmentation extrême de ses populations sur le territoire français, l'espèce survivant principalement dans quelques refuges situés en Bretagne, dans le Massif central, sur la façade atlantique et peut-être la région pyrénéenne. Cependant, depuis une vingtaine d'années, l'espèce a peu à peu recolonisé naturellement une série de régions du Grand Sud Ouest de la France. Les processus de recolonisation et les relations entre les populations refuges restent néanmoins encore sujets à débat.

Les études génétiques réalisées par Mucci *et al.* (2010) et Geboes *et al.* (2016) sur la base de marqueurs microsatellites (11 et 7 respectivement) ont suggéré une sous-structuration des populations (de deux à trois clusters génétiques). Mucci *et al.* (2010) ont par ailleurs mis en évidence des échanges d'individus suivis de reproduction (flux génétiques) entre populations refuges. Cependant, ces études ont été effectuées à une échelle spatiale restreinte (principalement sur la façade atlantique française), ne permettant pas de donner une image générale de la structure génétique de la Loutre sur l'ensemble du territoire français.

C'est dans ce contexte qu'une nouvelle étude génétique (comm. pers.) a été développée dans le cadre du « Plan national d'Action en faveur de la Loutre d'Europe » afin de mieux cerner la structure génétique de la Loutre sur l'ensemble de l'aire de distribution française de l'espèce mais aussi l'état de « santé génétique » des populations refuges et d'identifier d'éventuels flux génétiques existant entre celles-ci. L'objectif de ce travail a été également de mieux comprendre le processus de recolonisation actuellement en cours. Cette étude a été basée sur l'utilisation de 14 marqueurs génétiques hypervariables et une approche non invasive, c'est-à-dire à partir d'épreintes et de tissus provenant d'animaux trouvés morts (comm. pers.).

UNE SURVIE RÉCENTE DANS PLUSIEURS REFUGES RÉGIONAUX, SUIVIE D'UNE RECOLONISATION MARQUÉE

La première phase de l'étude a concerné plus de 200 individus provenant principalement de l'ouest du pays, de la Bretagne aux Pyrénées, en passant par le Limousin, la façade atlantique et le Massif central (comm. pers.), auxquels s'ajoutent 43 individus provenant de la région Rhône-Alpes et trois individus provenant d'Andorre (G. Jacob, données non publiées). Les analyses de structuration génétique (programme STRUCTURE, Pritchard *et al.* 2000) ont révélé l'existence de six groupes génétiques distincts, confirmant que des populations de loutres ont persisté

dans les Pyrénées, le long de la façade atlantique, en Bretagne, en Limousin, sur le bassin versant de la Garonne et dans la région Rhône-Alpes.

Les résultats obtenus à l'échelle de l'ouest de la France ont également mis en évidence qu'une part non négligeable d'animaux présentaient un patron génétique « chimérique » associant des caractéristiques de lignées génétiques différentes. De tels résultats tendent à démontrer la dynamique importante de l'espèce dans cette région et sa faculté d'échanges génétiques entre populations auparavant séparées. Ce résultat est d'autant plus surprenant que les déplacements d'individus sont contraints par les larges zones d'habitats non favorables à l'espèce, dont les milieux fortement anthropisés, ou par les forts dénivelés entre bassins versants (Janssens *et al.* 2007; Cohen *et al.* 2013). L'isolement géographique des populations situées aux limites de l'aire de répartition de l'espèce (Bretagne, Pyrénées et région Rhône-Alpes; Fig. 1) est probablement à l'origine des degrés élevés de différenciation génétique observés dans ces trois populations.

Ces études sont toujours en cours et permettront d'étudier de manière fine le processus de colonisation de la Loutre sur l'ensemble du pays.

Le brassage génétique entre populations n'est pourtant pas toujours évident chez la Loutre. En effet, des facteurs intrinsèques à l'espèce peuvent également être impliqués pour favoriser ou au contraire limiter les relations entre populations différentes. L'espérance de vie est en effet faible chez la Loutre, les femelles vivant en moyenne 3,2 ans contre 3,0 ans pour les mâles (Kruuk 2006). Chaque année, environ un tiers des femelles d'une population disparaît, ce qui libère autant de territoires. Une partie des femelles nées dans la population participe au roulement de la population, ce qui limite la capacité d'expansion de l'espèce. L'étude des déplacements par télémétrie et les analyses génétiques chez la Loutre a montré que les jeunes femelles tendent à s'établir à proximité du territoire sur lequel elles sont nées. Ce phénomène induit un fort apparentement entre individus sur des distances de 20-50 km (Dallas *et al.* 2002; Lanszki *et al.* 2008; Quaglietta *et al.* 2013) et des flux génétiques faibles entre populations séparées par des distances de 100-150 km (Dallas *et al.* 2002) même en l'absence de barrières à la dispersion.

Au contraire, le territoire d'un mâle chevauche plusieurs territoires de femelles (Kruuk 2006). Alors que la plupart des femelles contribuent à la reproduction, quelques mâles peuvent dominer une surface d'environ 200 km² et monopoliser les femelles sur ce secteur durant plusieurs mois (Koelewijn *et al.* 2010). Ainsi, les jeunes nés sur un secteur tendent à être apparentés, ce qui contribue à la réduction de diversité génétique au fil des générations (Ferrando *et al.* 2008). Les jeunes mâles sont rapidement chassés du territoire sur lequel ils sont nés et explorent des habitats parfois très éloignés, ce qui induit une plus forte mortalité, en particulier par collisions avec le trafic routier (Koelewijn *et al.* 2010). Un rapide renouvellement des individus est alors observé, comme mis en évidence lors du suivi génétique sur trois ans d'une population de Gironde (Pigneur, non publié). Ce phénomène a aussi été observé lors du suivi de l'espèce sur la rivière Ardèche. Ainsi, seuls huit mâles ont été détectés en 2009 dans le périmètre de la Réserve naturelle nationale des Gorges de l'Ardèche (RNNGA). Des

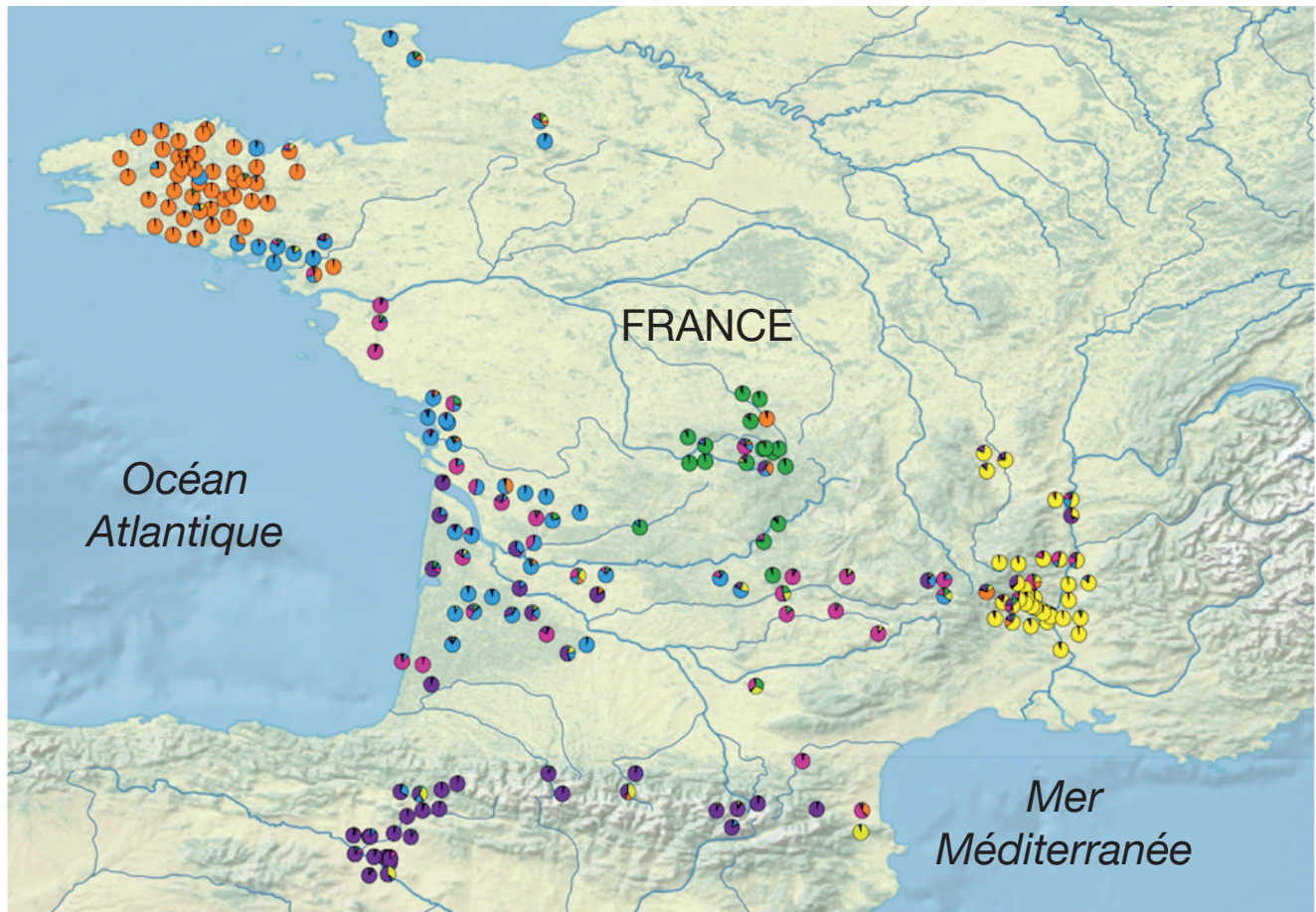


FIG. 1. — Représentation géographique des six groupes génétiques de Loutre d'Europe mis en évidence. Une couleur différente est assignée à chaque groupe génétique : **bleu**, groupe génétique de la façade atlantique ; **jaune**, groupe génétique dit de Rhône-Alpes ; **orange**, groupe génétique dit breton ; **rose**, groupe génétique dit du Massif central ; **vert**, groupe génétique dit du Limousin ; **violet**, groupe génétique dit des Pyrénées. Les diagrammes représentent pour chaque individu les probabilités d'appartenance à chacun des six groupes génétiques définis.

prospections menées en 2010 sur l'Ardèche et ses affluents 30-50 km en amont de la RNNGA ont permis d'identifier quatre nouveaux mâles et une femelle. Enfin, en 2011, trois nouveaux mâles et deux nouvelles femelles étaient détectés dans la RNNGA (Jacob & Réseau Loutre LPO Rhône-Alpes 2012). Bien qu'anecdotique, ces observations suggèrent un renouvellement rapide de la population et une expansion spatiale plus rapide chez les mâles que chez les femelles, ce qui se traduit par un sex-ratio fortement biaisé en faveur des mâles lors de la phase de colonisation.

Nous ne connaissons pas le sexe des premiers individus détectés dans les Gorges de l'Ardèche, mais il est fort probable qu'il s'agisse de jeunes mâles explorant de nouveaux territoires. Aucune femelle n'a été détectée lors des prospections menées dans le périmètre de la RNNGA en 2009 et sur d'autres rivières ardéchoises en 2010. Ce n'est qu'en 2011, soit plus de 10 ans après que la présence de l'espèce ait été confirmée dans la RNNGA (Bendélé 2000), que des femelles ont été détectées sur ce secteur. L'observation d'indices ou d'individus est donc un piètre indicateur de l'installation d'une population stable chez la Loutre et seule l'observation de loutres mâles et femelles, ou de loutrons dans une même zone peuvent attester de son installation pérenne.

UNE ESTIMATION DES DENSITÉS DE POPULATIONS SOUVENT COMPLEXE

La présence de la Loutre est le plus souvent détectée par la présence d'indices et, plus rarement, par des observations directes, généralement furtives. Les estimations de densités d'individus reportées dans la littérature ne concernent généralement que des secteurs dans lesquels des populations de loutres étaient établies depuis de nombreuses années. Cependant, sous réserve d'un bon échantillonnage et de l'utilisation de marqueurs suffisamment variables, les outils génétiques permettent actuellement d'estimer la densité d'individus dans des secteurs colonisés récemment, et dans lesquels la dynamique locale n'est pas ou peu étudiée. Or, c'est justement dans ces secteurs que l'on s'attend à observer une forte proportion d'individus erratiques. Il n'est donc pas surprenant que les densités estimées par des analyses génétiques soient supérieures à celles reportées dans la littérature à partir de méthodes conventionnelles (Hung *et al.* 2004 ; Kalz *et al.* 2006 ; Prigioni *et al.* 2006 ; Hajkova *et al.* 2008 ; Jacob & Réseau Loutre LPO Rhône-Alpes 2012 ; Vergara *et al.* 2014).

DES DÉPLACEMENTS INDIVIDUELS IMPORTANTS

La rareté des marques distinctives sur le pelage chez la Loutre complique singulièrement l'identification individuelle. Des méthodes plus ou moins intrusives ont été mises au point pour pallier à cette difficulté. Ainsi, Jenkins (1980) a mis en évidence le déplacement sur 68 km d'un jeune mâle préalablement marqué au zinc radioactif en relevant la localisation d'épreintes présentant un taux de radiation anormalement élevé.

La plupart des rares données disponibles sur la taille des domaines vitaux et des déplacements individuels ont plutôt été basées sur des approches de télémétrie. Certaines de celles-ci ont nécessité l'implantation chirurgicale d'émetteurs radio (Kruuk 2006), révélant par exemple les déplacements de cinq mâles sur des distances de 11 à 25 km (Quaglietta *et al.* 2013). La mise au point de méthodes de télémétrie moins invasives utilisant des émetteurs VHS ou GPS montés sur des harnais ont été testés avec succès (Quaglietta *et al.* 2012), mais aucune donnée de déplacement utilisant cette technologie n'a, à notre connaissance, été publiée à ce jour.

Alternativement, les méthodes de capture-recapture génétiques ont montré que les mâles tendent à se déplacer plus que les femelles (Koelewijn *et al.* 2010; Quaglietta *et al.* 2013), en partie du fait que les jeunes mâles sont chassés par les mâles dominants tandis que les femelles sont tolérées. À titre d'exemple, une étude génétique effectuée dans la région du Limousin (Pigneur *et al.* 2014) a démontré des mouvements d'individus sur plus de 20 km en l'espace d'à peine 24 à 48h. Une autre étude génétique conduite dans les Gorges de l'Ardèche a mis en évidence le déplacement en quelques jours d'un mâle sur plus de 15 km et d'une femelle sur plus de 12 km (Jacob & Réseau Loutre LPO Rhône-Alpes 2012).

LES LIMITES DE LA GÉNÉTIQUE POUR L'ÉTUDE D'ESPÈCES ÉLUSIVES COMME LA LOUTRE

Cette synthèse montre de façon convaincante que la connaissance de la biologie de la Loutre a bénéficié de l'utilisation de techniques moléculaires. Ce dernier paragraphe vise à souligner les biais méthodologiques à prendre en compte lors de l'interprétation des résultats et les contraintes techniques qui restent à résoudre afin de pouvoir pleinement exploiter les possibilités apportées par les techniques moléculaires.

Une étude récente (Lampa *et al.* 2015) a montré que les plus fortes densités d'indices de présence étaient observées sur les sites les plus exposés, amas de terre ou de limon activement édifiés, rochers, racines ou mottes d'herbes. Les gelées anales étaient le plus souvent observées sur les sites exposés, les épreintes étant majoritairement retrouvées en plus faible nombre et dans les sites les moins exposés. C'est en génotypant les indices de présence collectés que les auteurs ont montré que les mâles déposaient plus fréquemment des gelées anales et moins fréquemment des épreintes que les femelles (le nombre d'indices déposés ne différaient pas entre les sexes). Du fait de ces différences de comportement de marquage, la probabilité de détection est plus élevée pour les mâles que pour les femelles. Les auteurs recommandent

de visiter tous les types de sites de marquage afin de limiter les biais d'échantillonnage. Cette étude a été conduite dans un type particulier d'habitat (zones marécageuses et étangs piscicoles) et les conclusions doivent encore être validées dans des milieux différents (fleuves ou rivières), rencontrés majoritairement en France.

Certains problèmes techniques limitent aussi la généralisation des suivis génétiques et en premier lieu par le taux de succès relativement faible de génotypage (dépassant rarement 40 %) et par le risque d'erreur de génotypage.

Une fois les échantillons génotypés, il faut s'assurer que la probabilité que deux individus dans la population partageant le même génotype soit suffisamment faible pour que l'on puisse identifier de façon fiable chaque individu d'après son génotype (Taberlet & Luikart 1999; Lerone *et al.* 2014). Le dénombrement des génotypes uniques permet alors de quantifier le nombre minimum d'individus présents sur un site durant la période étudiée (= nombre de génotypes uniques).

Le succès relativement faible de génotypage et le taux d'erreur de génotypage rendent quelquefois difficile la possibilité d'identifier les individus d'après leur génotype. Cela augmente le risque de surestimer le nombre d'individus présents, comme cela a pu être vérifié lors d'une étude préliminaire sur le fleuve Loire (comm. pers.). Ces contraintes méthodologiques limitent l'applicabilité de méthodes basées sur la génétique pour estimer la densité de populations de loutres (Lampa *et al.* 2013).

L'échantillonnage représente aussi un point important. Il n'est pas possible d'estimer précisément l'âge d'une épreinte sur le terrain et, par conséquent, il n'est pas possible de déterminer la chronologie, et donc la direction suivie par un individu lors de la dispersion et sa vitesse de déplacement. Le nettoyage quotidien des sites de marquage permet de dater la dépose des épreintes et permet de résoudre ce problème. Mais cette pratique est généralement considérée comme une source de dérangement susceptible de perturber les populations et de les vulnérabiliser. Lampa *et al.* (2015) ne discutent pas d'effets négatifs associés au nettoyage des sites de marquage et suggèrent que les individus réagissent en augmentant la fréquence de marquage sur les sites nettoyés. Ce phénomène augmente la probabilité de détecter les individus déjà détectés, un phénomène susceptible de biaiser les estimations de paramètres démographiques.

De nouvelles méthodes pour la conservation des échantillons et l'extraction d'ADN sont régulièrement développées et permettront, à terme, d'améliorer encore la fiabilité des analyses génétiques basées sur des échantillons non-invasifs. De nouvelles approches basées sur les technologies de séquençage à haut débit sont également en phase de mise au point. Elles permettront d'augmenter fortement le rendement des approches d'identification individuelle, par le séquençage de milliers de copies de chaque allèle microsatellite par exemple.

Remerciements

Cette étude a été rendue possible grâce aux prospections réalisées par les structures participant au Réseau Loutre Rhône-Alpes, piloté par la LPO mais aussi grâce au « Plan national d'Action en faveur de la Loutre d'Europe » porté de 2010 à 2015 par la Société française pour l'Étude et la Protection des

Mammifères (SFEPM). Nous remercions particulièrement les associations GMN, GMB, GMHL, LPO, Cistude-Nature, Charente-Nature, le CEN Midi-Pyrénées, le Groupe de Recherche et d'Étude pour la Gestion de l'Environnement (GREGE), le Parc national des Pyrénées, le Muséum de Toulouse (MHNT), la Fédération Aude Claire et le gouvernement de Navarre via le GANASA (Gestión Ambiental de Navarra), ainsi que les organismes gouvernementaux : le ministère MTES via les DREAL, l'ONEMA et l'ONCFS (entre autres Délégation Interrégionale Nord Ouest et Cellule Technique Sud Ouest) pour leur aide inestimable dans la collecte de matériel biologique. Les analyses génétiques réalisées dans la région Rhône-Alpes, ont été financées par la Fondation nature & Découvertes, la Compagnie nationale du Rhône, le Syndicat de Gestion des Gorges de l'Ardèche, la Réserve naturelle des ramières du Val de Drôme et l'Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée. L'analyse des échantillons andorrans a été financée par le Gouvernement de la Principauté d'Andorre. Les analyses effectuées dans les autres régions de France ont été financées par un subside du Fonds national Belge de la recherche Scientifique (FnrS) et du CEN Midi-Pyrénées, par les régions, départements et agences de l'eau, ainsi que sur des fonds propres au laboratoire de génétique de la conservation de l'Université de Liège.

Nous remercions Véronique Lebreton, Lionel Lafontaine et Lionel Jacob pour leur travail de relecture d'une première version du manuscrit et les contributions de deux relecteurs, Patrick Haffner et Francis Meunier qui ont permis d'améliorer le texte.

RÉFÉRENCES

- BENDELÉ R. 2000. — *Répartition de la loutre (Lutra lutra L.) dans le bassin versant Rhône-Méditerranée du département de l'Ardèche*. Centre Ornithologique Rhône-Alpes, CNR, Lyon, 76 p.
- CASSENS I., TIEDEMANN R., SUCHENTRUNK F. & HARTL G. B. 2000. — Mitochondrial DNA variation in the European otter (*Lutra lutra*) and the use of spatial autocorrelation analysis in conservation. *Journal of Heredity* 91: 31-35.
- 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. *Journal of Heredity* 104: 192-201. <https://doi.org/10.1093/jhered/ess094>
- DALLAS J. F. & PIERTNEY S. B. 1998. — Microsatellite primers for the Eurasian otter. *Molecular Ecology* 7: 1248.
- DALLAS J. F., MARSHALL F., PIERTNEY S. B., BACON P. J. & RACEY P. A. 2002. — Spatially restricted gene flow and reduced microsatellite polymorphism in the Eurasian otter *Lutra lutra* in Britain. *Conservation Genetics* 3: 15-29. <https://doi.org/10.1023/A:1014259218632>
- DALLAS J. F., COXON K. E., SYKES T., CHANIN P. R. F., MARSHALL F., CARSS D. N., BACON P. J., PIERTNEY S. B. & RACEY P. A. 2003. — Similar estimates of population genetic composition and sex ratio derived from carcasses and faeces of Eurasian otter *Lutra lutra*. *Molecular Ecology* 12: 275-282. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01712.x>
- DEFONTAINES P. 1999. — Répartition de la loutre – *Lutra lutra* L. – dans le sud-est du Massif central. *Le Bièvre* 16: 13-26.
- FERNANDES C. A., GINJA C., PEREIRA I., TENREIRO R., BRUDFORD M. W. & SANTOS-REIS M. 2008. — Species-specific mitochondrial DNA markers for identification of non-invasive samples from sympatric carnivores in the Iberian Peninsula. *Conservation Genetics* 9: 681-690. <https://doi.org/10.1007/s10592-007-9364-5>
- FERRANDO A., PONS M., MARM J. & DOMINGO-ROURA X. 2004. — Eurasian Otters, *Lutra lutra*, have a dominant mtDNA haplotype from the Iberian peninsula to Scandinavia. *Journal of Heredity* 95: 430-435. <https://doi.org/10.1093/jhered/esh066>
- FERRANDO A., LECIS R., DOMINGO-ROURA X. & PONS M. 2008. — Genetic diversity and individual identification of reintroduced otters (*Lutra lutra*) in north-eastern Spain by DNA genotyping of spraints. *Conservation Genetics* 9: 129-139. <https://doi.org/10.1007/s10592-007-9315-1>
- FINNEGAN L. A. & NEILL L. Ó. 2010. — Mitochondrial diversity of the Irish otter, *Lutra lutra*, population. *Conservation Genetics* 11: 1573-1577. <https://doi.org/10.1007/s10592-009-9955-4>
- 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. *Mammalian Research* 61: 121-129. <https://doi.org/10.1007/s2F513364-015-0258-5>
- HAIKOVA P., ZEMANOVA B., ROCHE K. & HAJEK B. 2008. — An evaluation of field and noninvasive genetic methods for estimating Eurasian otter population size. *Conservation Genetics* 10: 1670-1681. <https://doi.org/10.1007/s10592-008-9745-4>
- HAIKOVA P., ZEMANOVA B., BRYJA J., HAJEK B., ROCHE K., TKADLEC E. & ZIMA J. 2006. — Factors affecting success of PCR amplification of microsatellite loci from otter faeces. *Molecular Ecology Notes* 6: 559-562. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01269.x>
- HANSEN M. M. & JACOBSEN L. 1999. — Identification of mustelid species: otter (*Lutra lutra*), American mink (*Mustela vison*) and polecat (*Mustela putorius*), by analysis of DNA from faecal samples. *Journal of Zoology* 247: 177-181. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1999.tb00981.x>
- HONNEN A.-C., ROOS A., STJERNBERG T. & ZACHOS F. E. 2015. — Genetic analysis of Eurasian otters (*Lutra lutra*) reveals high admixture in Finland and pronounced differentiation in Sweden. *Mammalian Biology* 80: 47-53. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2014.09.005>
- HONNEN A.-C., PETERSEN B., KASSLER L., ELMEROS M., ROOS A., SOMMER R. S. & ZACHOS F. E. 2011. — 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. *Journal of Zoological Systematics and Evolution Research* 49: 169-175. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0469.2010.00582.x>
- HUANG C.-C., HSU Y.-C., LEE L.-L. & LI S.-H. 2005. — Isolation and characterization of tetramicrosatellite DNA markers in the Eurasian otter (*Lutra lutra*). *Molecular Ecology Notes* 5: 314-316. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.00912.x>
- 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. *Animal Conservation* 7: 301-311. <https://doi.org/10.1017/S1367943004001453>
- JACOB G. 2012. — *Étude génétique de la population de Loutre en région Rhône-Alpes*. LPO Rhône-Alpes, Lyon, 10 p.
- JACOB G. & RÉSEAU LOUTRE LPO RHÔNE-ALPES. 2012. — *Dynamique de la loutre dans les Gorges de l'Ardèche 2009-2011*. 35e Colloque francophone de Mammalogie, Arles (France).
- JANSSENS X., FONTAINE M. C., MICHAUX J. R., LIBOIS R., DE KERMABON J., DEFURNY P. & BARET P. V. 2007. — Genetic pattern of the recent recovery of European otters in southern France. *Ecography* 31: 176-186. <https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2008.4936.x>
- JENKINS D. 1980. — Ecology of otters in northern Scotland: I. Otter (*Lutra lutra*) breeding and dispersion in mid-Deeside, Aberdeenshire in 1974-79. *The Journal of Animal Ecology* 49: 713-735. <https://doi.org/10.2307/4223>
- KALZ B., JEWGENOW K. & FICKEL J. 2006. — Structure of an otter (*Lutra lutra*) population in Germany – results of DNA and hormone analyses from faecal samples. *Mammalian Biology* 71: 321-335. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2006.02.010>

- KETMAIER V. & BERNARDINI C. 2005. — Structure of the mitochondrial control region of the Eurasian otter (*Lutra lutra*; Carnivora, Mustelidae): Patterns of genetic heterogeneity and implications for conservation of the species in Italy. *Journal of Heredity* 96: 318-328. <https://doi.org/10.1093/jhered/esi037>
- KOELEWIJN H. P., PÉREZ-HARO M., JANSMAN H. A. H., BOERWINKEL M. C., BOVENSCHEN J., LAMMERTSMA D. R., NIEWOLD F. J. J. & KUITERS A. T. 2010. — The reintroduction of the Eurasian otter (*Lutra lutra*) into the Netherlands: hidden life revealed by non-invasive genetic monitoring. *Conservation genetics* 11: 601-614. <https://doi.org/10.1007/s10592-010-0051-6>
- KOEPLI K. P. & WAYNE R. K. 1998. — Phylogenetic relationship of otters (Carnivora: Mustelidae) based on mitochondrial cytochrome b sequences. *Journal of Zoology* 246: 401-416. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1998.tb00172.x>
- KRUUK H. 2006. — *Otters: ecology, behaviour and conservation*. Oxford University Press, Oxford, 265 p. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198565871.001.0001>
- LAMPA S., GRUBER B., HENLE K. & HOEHN M. 2007. — An optimisation approach to increase DNA amplification success of otter faeces. *Conservation genetics* 9: 201-210. <https://doi.org/10.1007/s10592-007-9328-9>
- LAMPA S., HENLE K., KLENKE R., HOEHN M. & GRUBER B. 2013. — How to overcome genotyping errors in non-invasive genetic mark-recapture population size estimation-A review of available methods illustrated by a case study. *Journal of Wildlife Management* 77: 1490-1511. <https://doi.org/10.1002/jwmg.604>
- LAMPA S., MIHOUB J.-B., GRUBER B., KLENKE R. & HENLE K. 2015. — Non-invasive genetic mark-recapture as a means to study population sizes and marking behaviour of the elusive Eurasian Otter (*Lutra lutra*). *PLoS ONE* 10:e0125684. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125684>
- LANSZKI J., HIDAS A., SZENTES K., RÉVAY T., LEHOCZKY I. & WEISS S. 2008. — Relative spraint density and genetic structure of Otter (*Lutra lutra*) along the Drava river in Hungary. *Mammalian Biology* 73: 40-47. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2007.08.005>
- LERONE L., MENGONI C., CARPNETO G., RANDI E. & LOY A. 2014. — Procedures to genotype problematic non-invasive otter (*Lutra lutra*) samples. *Acta Theriologica* 59: 511-520. <https://doi.org/10.1007/s13364-014-0195-8>
- MOWRY R. A., GOMPER M. E., BERINGER J. & EGGERT L. S. 2011. — River otter population size estimation using noninvasive latrine surveys. *Journal of Wildlife Management* 75: 1625-1636. <https://doi.org/10.1002/jwmg.193>
- MUCCI N., PERTOLDI C., MADSEN A. B., LOESCHKE V. & RANDI E. 1999. — Extremely low mitochondrial DNA control-region sequence variation in the otter *Lutra lutra* population of Denmark. *Hereditas* 130: 331-336. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1999.00331.x>
- MUCCI N., ARRENDAL J., ANSORGE H., BAILEY M., BODNER M., DELIBES M., FERRANDO A., FOURNIER P., FOURNIER C., GODOY J. A., HAJKOVA P., HAUSER S., HEGGBERGET T. M., HEIDECHE D., KIRJAVAINEN H., KRUEGER H.-H., KVALOY K., LAFONTAINE L., LANSZKI J., LEMARCHAND C., LIUKKO U.-M., LOESCHKE V., LUDWIG G., MADSEN A. B., MERCIER L., OZOLINS J., PAUNOVIC M., PERTOLDI C., PIRIZ P., PRIGIONI C., SANTOS-REIS M., LUIS T. S. 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. *Conservation genetics* 11: 583-599. <https://doi.org/10.1007/s10592-010-0054-3>
- NAVIDI W., ARNHEIM N. & WATERMAN M. 1992. — A multiplex approach for accurate genotyping of very small DNA samples using PCR: statistical considerations. *American Journal of Human Genetics* 50: 347-359.
- O'NEILL D., TURNER P. D., O'MEARA D. B., CHADWICK E. A., COFFEY L. & O'REILLY C. 2013. — Development of novel real-time TaqMan®PCR assays for the species and sex identification of otter (*Lutra lutra*) and their application to noninvasive genetic monitoring. *Molecular Ecology Resources* 13: 877-883. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12141>
- PÉREZ-HARO M., VINAS J., MANAS F., BATET A., RUIZ-OLMO J. & PLA C. 2005. — Genetic variability in the complete mitochondrial control region of the Eurasian otter (*Lutra lutra*) in the Iberian Peninsula. *Biological Journal of The Linnean Society* 86: 397-403. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2005.00536.x>
- PERTOLDI C., HANSEN M. M., LOESCHKE 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. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 268: 1775-1781. <https://doi.org/10.1098/rspb.2001.1762>
- PIGNEUR L.-M., CAUBLOT G., FOURNIER-CHAMBRILLON C., FOURNIER P. & MICHAUX J. R. 2014. — Sur les traces de la Loutre dans le Limousin. *L'écho du PNA-Bulletin de liaison du Plan National d'Actions en faveur de la Loutre d'Europe* 7: 5-7.
- PRASSACK K. A. 2016. — *Lontra weiri*, sp. nov., a Pliocene river otter (Mammalia, Carnivora, Mustelidae, Lutrinae) from the Hagerman Fossil Beds (Hagerman Fossil Beds National Monument), Idaho, U.S.A. *Journal of Vertebrate Paleontology* 36:e1149075. <https://doi.org/10.1080/02724634.2016.1149075>
- PRIGIONI C., REMONTI L., BALESTRIERI A., SGROSSO S., PRIORE G., MUCCI N. & RANDI E. 2006. — Estimation of european otter (*Lutra lutra*) population size by fecal DNA typing in southern Italy. *Journal of Mammalogy* 87: 855-858. <https://doi.org/10.1644/05-MAMM-A-294R1.1>
- PRITCHARD J. K., STEPHENS M. & DONNELLY P. 2000. — Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- QUAGLIETTA L., MARTINS B. H., DE JONGH A., MIRA A. & BOITANI L. 2012. — A low-cost GPS GSM/GPRS telemetry system: performance in stationary field tests and preliminary data on wild Otters (*Lutra lutra*). *PloS one* 7:e29235-10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029235>
- QUAGLIETTA L., FONSECA V. C., HAJKOVA P., MIRA A. & BOITANI L. 2013. — Fine-scale population genetic structure and short-range sex-biased dispersal in a solitary carnivore, *Lutra lutra*. *Journal of Mammalogy* 94: 561-571. <https://doi.org/10.1644/12-MAMM-A-171.1>
- RÉSEAU LOUTRE LPO RHÔNE-ALPES & JACOB G. 2012. — *Premiers résultats du suivi génétique de la Loutre en Rhône-Alpes*. 35e Colloque francophone de mammalogie, Arles (France)
- STANTON D. W. G., HOBBS G. I., CHADWICK E. A., SLATER F. M. & BRUDFORD M. W. 2009. — Mitochondrial genetic diversity and structure of the European otter (*Lutra lutra*) in Britain. *Conservation genetics* 10: 733-737. <https://doi.org/10.1007/s10592-008-9633-y>
- TABERLET P. & LUIKART G. 1999. — Non-invasive genetic sampling and individual identification. *Biological Journal of The Linnean Society* 68: 41-55. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1999.tb01157.x>
- VERGARA M., RUIZ-GONZALEZ A., LOPEZ DE LUZURIAGA J. & GOMEZ-MOLINER B. J. 2014. — Individual identification and distribution assessment of otters (*Lutra lutra*) through non-invasive genetic sampling: Recovery of an endangered species in the Basque Country (Northern Spain). *Mammalian Biology* 79: 259-267. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2014.04.003>

Soumis le 9 avril 2018;
 accepté le 17 juillet 2018;
 publié le 28 novembre 2018.

ANNEXE

ANNEXE 1. — L'ADN comme carte de visite.

Lors de la fécondation, les informations génétiques de l'ovule et du spermatozoïde sont combinées au sein d'un œuf contenant un jeu de chromosomes issu de chaque parent et empaquetés dans le noyau cellulaire (ADN nucléaire). Chaque individu hérite d'un allèle maternel (transmis par l'ovule) et d'un allèle paternel (transmis par le spermatozoïde) de chaque gène nucléaire. Un individu est dit homozygote si l'allèle hérité de la mère et du père sont les mêmes, et hétérozygote s'ils sont différents.

Un marqueur microsatellite est un fragment d'ADN caractérisé par un fort taux de mutation, ce qui se traduit par une forte diversité d'allèles dans la population et donc une forte probabilité pour que les individus portent des allèles différents. L'amplification de plusieurs marqueurs microsatellites spécifiques à la Loutre permet ainsi d'identifier les individus (Dallas & Pierny 1998; Huang *et al.* 2005). L'amplification d'un fragment d'ADN situé sur le chromosome Y (propre aux mâles) permet de plus de déterminer le sexe des individus (Dallas *et al.* 2003).

Par ailleurs, les mitochondries, transmises par l'ovule, contiennent aussi de l'ADN (ADN mitochondrial). L'ADN

mitochondrial est transmis par la mère et est haploïde (un seul allèle à chacun des loci). Les mutations (substitution d'un nucléotide dans la séquence du fragment étudié) s'accumulent au fil des générations. Le séquençage d'un fragment d'ADN mitochondrial permet ainsi d'étudier la divergence entre populations de Loutres (Cassens *et al.* 2000) ou de différencier la Loutre des autres mustélidés (Hansen & Jacobsen 1999; Fernandes *et al.* 2008).

Les échantillons non-invasifs (épreintes, gelées anales, etc.) ne permettent d'extraire que de faibles quantités d'ADN, généralement dégradé. Dans ces conditions, on ne peut négliger le risque qu'un seul des deux allèles ne soit détecté, ce qui peut entraîner une erreur lors de la détermination du génotype d'individus hétérozygotes. La présence dans les épreintes d'ADN bactérien et des proies consommées peut compliquer l'interprétation des électrophorogrammes. La détection d'artefact, faussement interprété comme un allèle, peut aussi entraîner une erreur de génotypage. L'application de protocoles stricts d'analyses ont été proposés afin de réduire le risque d'erreur de génotypage (Navidi *et al.* 1992; Taberlet & Luikart 1999; O'Neill *et al.* 2013).