

Utilisation des méthodes génétiques non invasives pour l'amélioration de la connaissance des populations de Loutre d'Europe (*Lutra lutra*) sur les bassins versants de la Lieue de Grève (Côtes d'Armor)

Cette étude a été portée par David Menanteau (conservateur de la Réserve naturelle régionale des "Landes, prairies et étangs de Plounérin" - Lannion-Trégor Communauté) avec l'appui de Franck Simonnet (Groupe Mammalogique Breton) sur financement du « Fonds Vert – France Nation Verte » a.

Les échantillons ont été collectés grâce à un effort de prospection important impliquant de nombreux stagiaires, services civiques et salariés. Merci pour les contributions de : Elouan Bercquer, Maëlle Coussens, Valentine Fugère, Maxime Henry, Samuel Jouon, Maureen Lapalme, Nathan Le Dolley, Ninon Le Scour, Morgane Le Tallec, Elias Michat, Pierre Nicolas, Antoine Para, Enzo Ruiz et Romain Worme.

L'analyse génétique des échantillons a été réalisée par le laboratoire de Génétique de la Conservation de l'Université de Liège (Anaïs Beaumariage, Johan Michaux). Les résultats présentés se fondent en large part sur leur expertise et les rapports d'analyse intermédiaire qu'ils ont produits.

Introduction

Depuis les derniers bastions bretons (Mont d'Arrée, Montagnes noires et Brière), la Loutre d'Europe (*Lutra lutra*) a progressivement recolonisé l'ensemble de la région à partir des années 1980. Les premières observations sur les bassins versants de la Lieue de Grève (Côtes d'Armor) ont lieu dès 1985, à l'Étang du Moulin Neuf (Plounérin). Dans les années 2000, les observations régulières d'individus, et même de plusieurs cas de reproduction, permettent de considérer cet espace comme occupé de manière permanente. Une étude de 2010 (Groupe Mammalogique Breton, *La Loutre d'Europe sur les bassins versants de la Lieue de Grève*) vient préciser l'aire d'occupation et la complétude de la recolonisation de ce territoire, avec 95% de sites positifs pour les 3 cours d'eaux principaux (Yar, Kerdu, Roscoat). Il avait été estimé la taille de la population du bassin versant, en insistant sur leur valeur approximative et de la nécessité de considérer ce chiffre comme un ordre de grandeur : *« Compte-tenu de la qualité des habitats, il paraît raisonnable d'avancer un nombre d'individus sur la zone d'étude compris entre 5 et 9, ces chiffres comprenant les individus adultes sédentarisés et les individus adultes ou sub-adultes erratiques non cantonnés. »*



Labellisée en 2016 en Réserve naturelle régionale, les "Landes, prairies et étangs de Plounérin" constituent le lieu d'observation privilégié de la Loutre d'Europe sur ce bassin versant, plus précisément à l'Étang du Moulin Neuf. Dans son premier plan de gestion (2016-2024), il est noté que la réserve *« présente un intérêt majeur pour la reproduction de la loutre à l'échelle du bassin versant dont il augmente notablement la capacité d'accueil. Ce site joue de plus probablement un rôle de source pour l'émigration d'individus vers d'autres bassins versants. »*

Dans le cadre du plan de gestion de la Réserve, le gestionnaire, Lannion-Trégor Communauté, et le Groupe Mammalogique Breton ont testé différentes modalités de suivi de l'espèce (suivi participatif, pièges photographiques, présence/absence sur un réseau de points de marquage).

Dans le prolongement de ces travaux, il est apparu intéressant de tester les outils qu'offrent aujourd'hui les analyses génétiques pour mieux appréhender la présence de la Loutre d'Europe sur ce bassin versant, de mieux comprendre son utilisation de l'espace, d'appréhender son régime alimentaire et de caractériser son degré d'appartenance génétique aux autres populations françaises. Il s'agit par ailleurs d'appréhender l'efficacité de cette méthode encore peu utilisée.

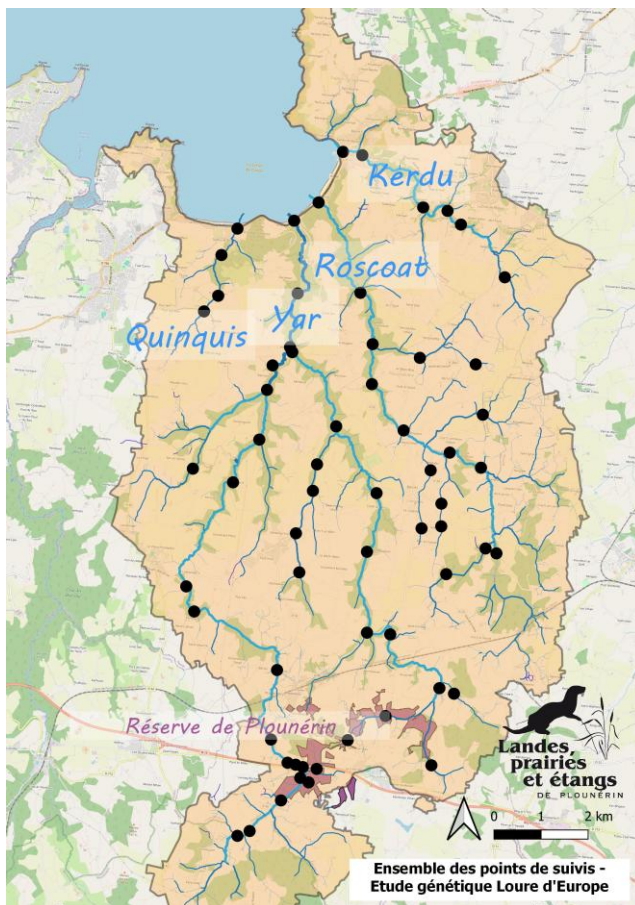
Matériel et méthode

Les bassins versants de la Lieue de Grève

Ce travail s'inscrit dans les actions prévues au plan de gestion de la Réserve naturelle de Plounérin. Néanmoins, considérant que le domaine vital des loutres dépasse le périmètre strict de classement, il a été décidé de mener cette étude sur une échelle plus large, celle des bassins versants de la Lieue de Grève (Yar, Roscoat, Kerdu).

Les bassins versants du Yar, du Roscoat et du Kerdu présentent des espaces de taille réduite (respectivement 61, 33 et 14 km² en surface et 72, 53 et 31 km de cours d'eau). Ils sont drainés par des cours d'eau salmonicoles principalement lotiques. Les peuplements piscicoles sont plutôt en bon état : la Truite fario, la Truite de mer, le Chabot, la Lamproie de Planer, la Loche franche et l'Anguille ayant été recensés. Les cours d'eau sont assez encaissés et principalement bordés de boisements. Les zones de sources sont moins encaissées et bordées de prairies et de boisements humides.

La Réserve naturelle régionale des "Landes, prairies et étangs de Plounérin" regroupe sur 160 hectares une mosaïque de milieux humides oligotrophes. Elle est située sur la partie supérieure du bassin versant du Yar et recoupée par ce cours d'eau au niveau de l'Étang du Moulin Neuf. Le reste de la Réserve se situe principalement en contexte de zones humides de sources de nombreux petits affluents de ce cours d'eau. Ces zones humides de tête de bassins versants sont recoupés par un chevelu dense de petits cours d'eau pérenne ou temporaire. Des aménagements humains ont créé quelques étangs de plusieurs hectares sur la zone classée.



Choix des stations et méthode d'échantillonnage

Les épreintes ont été choisies comme matériel biologique à partir duquel seraient réalisées les analyses génétiques. Pour ce faire, elles devaient être strictement identifiées comme appartenant à la Loutre d'Europe, et être fraîches de moins de 72 h. Cet état de fraîcheur a pu être apprécié visuellement par l'observateur ou par le fait qu'elle n'était pas présente le jour précédent.

Dans le cadre des suivis menés par la Réserve, un réseau de 63 points de marquage potentiel ont été identifiés sur l'ensemble des cours d'eau de la Lieue de Grève (Yar, Roscoat, Kerdu et un petit cours d'eau côtier le Quinquis). Il s'agit de sites présentant des caractères favorisant la recherche d'épreintes : la proximité d'un cours d'eau ou d'une pièce d'eau, des emplacements de marquage « naturel/évident » (pierres ressortant de l'eau, arbres morts de grandes tailles, passage à loutres...), et la facilité d'accès pour l'observateur. Ils sont répartis spatialement sur l'ensemble des bassins versants, de manière suffisamment éloignée pour couvrir l'ensemble de la zone d'étude. Les suivis réalisés entre 2021 et 2024 (2 fois par an) ont permis d'identifier les points présentant les plus grandes fréquences de marquages. Le bassin versant du Quinquis n'est qu'exceptionnellement occupé par la Loutre, il a été exclu de la présente étude.

Trois périodes de collecte d'épreintes ont été menées :

- du 15 mars 2024 au 29 avril 2024, avec pour objectif de récolter sur un temps réduit des épreintes d'une large part du territoire d'étude, bien réparties spatialement ;
- du 20 septembre 2024 au 18 décembre 2024, avec les mêmes objectifs que pour la première session ;
- du 11 février au 08 juillet 2025 avec pour objectif de se concentrer plus fortement sur les individus présents autour de l'Étang du Moulin Neuf. Les premiers résultats ne donnant qu'un très faible nombre de ré-identifications d'individus, il a été choisi de se concentrer sur cette zone. Il s'agit du cœur du site, pour lequel le gestionnaire porte la plus grande responsabilité.



Chaque session d'échantillonnage s'est clôt lorsque les objectifs assignés à la session ont été atteints. La session suivante commence après la réception des résultats des analyses génétiques réalisées par l'université de Liège.

Analyse génétique

L'ADN des échantillons a été extrait en utilisant le kit QIAamp DNA Fast Stool de Qiagen, conformément au protocole fourni par le fabricant.

Pour l'identification individuelle, un panel de 15 marqueurs microsatellites a été utilisé. Ces microsatellites, amplifiés et marqués avec des fluorochromes, ont été génotypés à l'aide d'un séquenceur multicapillaire automatique (3730xl Genetic Analyser, Applied Biosystems). Les résultats de génotypage ont été analysés sous forme d'électrophérogrammes, permettant de déterminer la taille des allèles en paires de bases. Cette taille varie en fonction du nombre de répétitions contenues dans chaque allèle. Chaque marqueur a été analysé en triplicat pour assurer la précision des résultats et les génotypes ont été comparés à une base de données d'échantillons antérieurs. Parallèlement, le sexe des individus a également été déterminé.

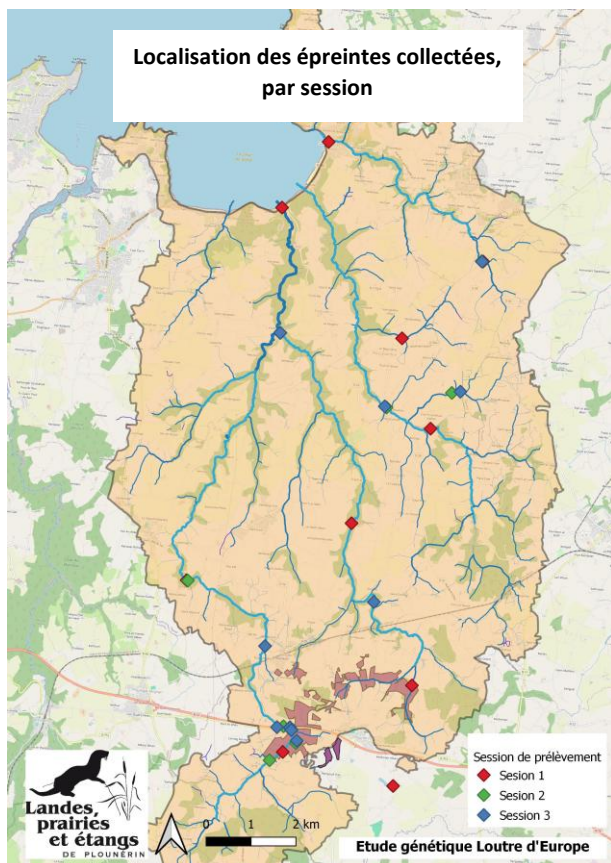
Une étape préliminaire avec GenAlex (Peakall et Smouse 2012) a permis de détecter d'éventuels génotypes identiques. L'origine des loutres a ensuite été évaluée en comparant les échantillons à la base de données du laboratoire regroupant les principales lignées de loutres françaises, à l'aide du logiciel STRUCTURE (Pritchard et al, 2000). La version 2.3.4 de ce logiciel a été utilisée pour étudier la structure de la population, en déterminant le nombre de populations (K) et en attribuant statistiquement chaque individu à un cluster basé sur son génotype (méthode de clustering bayésien). Plusieurs analyses indépendantes ont été menées pour tester différents K, allant de 1 à 10 populations, avec un burn-in de 100 000 itérations suivi de 2 000 000 itérations (MCMC). Chaque analyse a été répétée 10 fois pour évaluer la robustesse des résultats. Le meilleur K a été déterminé selon les méthodes d'Evanno et Pritchard (Evanno, Regnaut, et Goudet 2005; Pritchard, Wen, et Falush 2010).

L'analyse de la diversité et de la différenciation génétique a été réalisée avec diveRsity, un package compatible avec RStudio (Version 2021.09.0) et le logiciel Genetix (Version 4.05) (Belkhir et al, n.d.). Cela a permis d'estimer plusieurs paramètres génétiques à l'aide de la méthode du Bootstrap. Il convient de noter que ces indices fournissent des indications de tendances interprétables et non des valeurs absolues (Allendorf et al. 2022; Jost et al. 2018; Keenan et al. 2013).

Résultats et discussions

Collectage et taux de réussite

L'ensemble des bassins versant ont fait l'objet de collectage et les échantillons sont globalement bien répartis. Un plus gros effort d'échantillonnage a été effectué autour de l'Étang du Moulin Neuf (30% des prélèvements - 12 épreintes sur 40). La part des épreintes ayant données un génotypage à l'espèce est plus fort pour celles provenant de l'Étang du Moulin Neuf que pour celles du reste du bassin versant (54 % - 12/22).



Session	Nombre d'échantillons	Nombre d'échantillons avec identif. individu	Taux de réussite
1	14	8	57%
2	13	6	46%
3	13	8	61%
Total	40	22	55%

Le taux de réussite est fort comparé à d'autres études (Pigneur L.-P., Michaux J. & 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. et Thomas B. & Rousellot S. - Utilisation des méthodes génétiques non invasives pour l'estimation de la taille

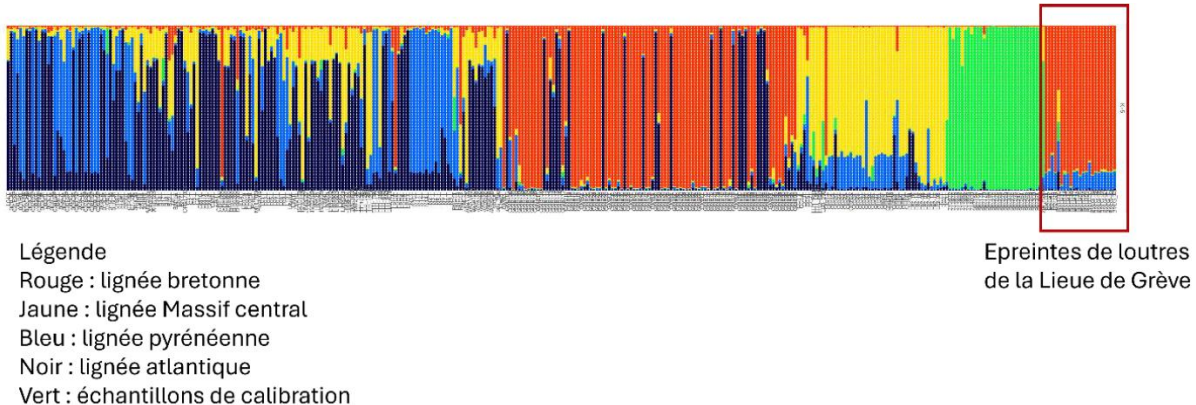
des populations de Loutre d'Europe (*Lutra lutra*) sur le bassin versant de l'Orne (Normandie) - Bulletin de liaison du Plan National d'Actions en faveur de la Loutre d'Europe) : ces travaux indiquent que le taux de réussite ne dépasse que rarement 40% ; un taux de 30% étant même jugé « bon ».

Les différentes conditions de collectage d'épreintes ont été notées (météorologie au moment du prélèvement et la nuit le précédent, physiologie de l'épreinte, lieu de dépôt de l'épreinte, collecteur) mais il n'a pas été possible de trouver de facteurs expliquant la réussite ou l'échec du phénotypage.

En troisième session, un effort « renforcé » a été porté à n'envoyer que des épreintes très fraîches (déposées au cours de la nuit précédant le collectage) : 9 épreintes sur 13 proviennent avec certitude de la nuit. Le taux de réussite de phénotypage atteint alors 61% pour l'ensemble des épreintes envoyées et même de 78% en ne comptant que celles provenant avec certitude de la nuit.

Lignée génétique

L'analyse de l'origine génétique des loutres suggère une appartenance à la lignée bretonne. La lignée bretonne est l'une des lignées identifiées par l'université de Liège, comme décrit par Pigneur *et al.* (2018).



Diversité génétique

L'indice de consanguinité calculé sur l'ensemble des échantillons collectés est estimé à 0,11771 (intervalle de confiance : -0,07001 à 0,21944), ce qui suggère un risque de consanguinité relativement faible au sein de la population. Cette valeur est cohérente avec celles observées par le passé en Bretagne (0.0946 [0.0421 to 0.1523], (Pigneur *et al.*, 2019)).

L'hétérozygotie attendue atteint 0,35 ($\pm 0,19$). L'hétérozygotie observée est estimée à 0,31 ($\pm 0,21$). Enfin, le nombre moyen d'allèles par locus est de 2,14.

Ces résultats doivent néanmoins être interprétés avec prudence compte tenu de la taille limitée de l'échantillon. L'élargissement du jeu de données, via l'intégration de nouvelles épreintes de loutres collectées dans la région, permettrait de préciser ces tendances, de détecter une éventuelle structuration génétique au sein de la population bretonne et d'améliorer la précision des estimations de diversité génétique.

Sexage

Sur les 22 individus phénotypes, le marqueur spécifique des mâles a été amplifié pour 11 échantillons.

Pour les autres échantillons, l'absence de détection du marqueur de sexe pourrait suggérer qu'il s'agit de femelles. Toutefois, il est également possible que ce marqueur n'ait pas été amplifié. Il n'est donc pas possible de conclure avec certitude à la présence de femelles sur la seule base de cette absence de signal, celle-ci pouvant résulter d'une dégradation de l'ADN ou d'une quantité insuffisante de matériel génétique.

Les épreintes associées à un male correspondent à 5 individus différents.

Régime alimentaire

5 épreintes ont été portées à analyse pour connaître le régime alimentaire des loutres autour de l'Étang du Moulin Neuf.

1 épreinte n'a pu être exploitée pour le régime alimentaire. Ce résultat s'explique par une qualité de l'ADN très dégradée n'ayant pas permis d'obtenir des résultats concluants.

Épreinte BVLG2 Individu 2 Collectée le 15/03/2024	Épreinte BVLG29 Individu 7 Collectée le 16/12/2024	Épreinte BVLG37 Individu non déterminée Collectée le 12/05/2025	Épreinte BVLG44 Individu 7 Collectée le 01/07/2025
- Grenouille agile (<i>Rana dalmatina</i>) - Grenouille rousse (<i>Rana temporaria</i>) - Salamandre tachetée (<i>Salamandra salamandra</i>) - Triton palmé (<i>Lissotriton helveticus</i>)		- Salamandre tachetée (<i>Salamandra salamandra</i>) - Triton palmé (<i>Lissotriton helveticus</i>)	- Crapaud épineux (<i>Bufo spinosus</i>) - Grenouille agile (<i>Rana dalmatina</i>) - Grenouille rousse (<i>Rana temporaria</i>) - Grenouille verte (<i>Pelophylax esculentus</i>) - Salamandre tachetée (<i>Salamandra salamandra</i>)
- Anguille d'Europe (<i>Anguilla anguilla</i>) - Gardon (<i>Rutilus rutilus</i>) - Rotengle (<i>Scardinius erythrophthalmus</i>)	- Anguille d'Europe (<i>Anguilla anguilla</i>) - Brème commune (<i>Abramis brama</i>) - Gardon (<i>Rutilus rutilus</i>) - Rotengle (<i>Scardinius erythrophthalmus</i>) - Perche (<i>Perca fluviatilis</i>)	- Anguille d'Europe (<i>Anguilla anguilla</i>) - Chabot (<i>Cottus sp.</i>) - Vairon (<i>Phoxinus phoxinus</i>) - Loche franche (<i>Barbatula barbatula</i>) - Truite commune (<i>Salmo trutta</i>)	- Brochet (<i>Esox lucius</i>) - Gardon (<i>Rutilus rutilus</i>) - Perche (<i>Perca fluviatilis</i>) - Truite commune (<i>Salmo trutta</i>)

En France une synthèse a été publiée (Libois, 1995) sur le régime alimentaire de la Loutre. Il ressort de ces travaux que les poissons atteignent 60 à 90 % de proie. Les espèces consommées correspondent globalement à celles effectivement disponibles dans le contexte local. Cela semble également le cas ici. Toutes les espèces consommées retrouvées dans les analyses sont connues sur l'Étang du Moulin Neuf. Les poissons d'étang sont bien représentés dans les proies consommées. La présence de l'Anguille européenne dans 3 prélèvements sur 4 est cohérente avec la connaissance du cortège des poissons présents dans cette masse d'eau. La saisonnalité s'observe dans les proies consommées. La large part d'amphibiens dans le relevé de mars est typique des comportements alimentaires de la Loutre qui profitent souvent des périodes de frai (ils sont concentrés et repérables au chant) pour en prélever. La présence de Grenouilles vertes en juillet peut s'expliquer de la même manière.

Selon Rosoux et Lemarchand (Rosoux R. et Lemarchand C., *La Loutre d'Europe*, Biotopes éditions, Méze, 352 p), « Les urodèles sont très rares dans les épreintes et probablement peu comestibles pour certaines ». Ils rapportent un cas de jeune Loutre pour lequel l'ingestion d'une salamandre tachetée est suspectée comme la cause de décès par empoisonnement. La présence de Salamandre tachetée sur 3 des 4 prélèvements questionne donc.

Identification individuelle

9 individus différents ont été identifiés sur le bassin versant.

Individu	Nombre de fois où l'individu a été identifié	Période	Secteur	Distance maximale parcourue (vol oiseau)
Ind 1 - Val	4	15/03/24 au 17/04/25	Ensemble du Yar (de l'Étang du Moulin Neuf à l'embouchure)	11km
Ind 2 - Eli	3	15/03/24 au 30/10/24	Yar cours principal (Moulin Neuf) et son affluent (Dour Elego)	4km
Ind 3 - Sam	1	01/04/24	Léguer	-
Ind 4 - Anto	2	23/04 et 29/04/24	Kerdu (amont à l'aval)	4km
Ind 5 - Nat	4	18/10/24 au 08/07/25	Etang Moulin Neuf	0.2km
Ind 6 - Rom	1	13/12/24	Yar Embouchure Dour Elego	-
Ind 7 - Mam	5	16/12/24 au 01/07/25	Etang Moulin Neuf	0.1km
Ind 8- Lou	1	04/04/25	Rosacoat	-
Ind 9 - Dave	1	19/05/25	Kerdu amont	-

Les résultats montrent des cas de figures très différents :

- des individus identifiés une seule fois alors que d'autres jusqu'à 5 fois,
- des individus identifiés sur des sites éloignés (Ind1) et d'autres ré identifiés sur des sites très proches à plusieurs dates (Ind5 et Ind7).

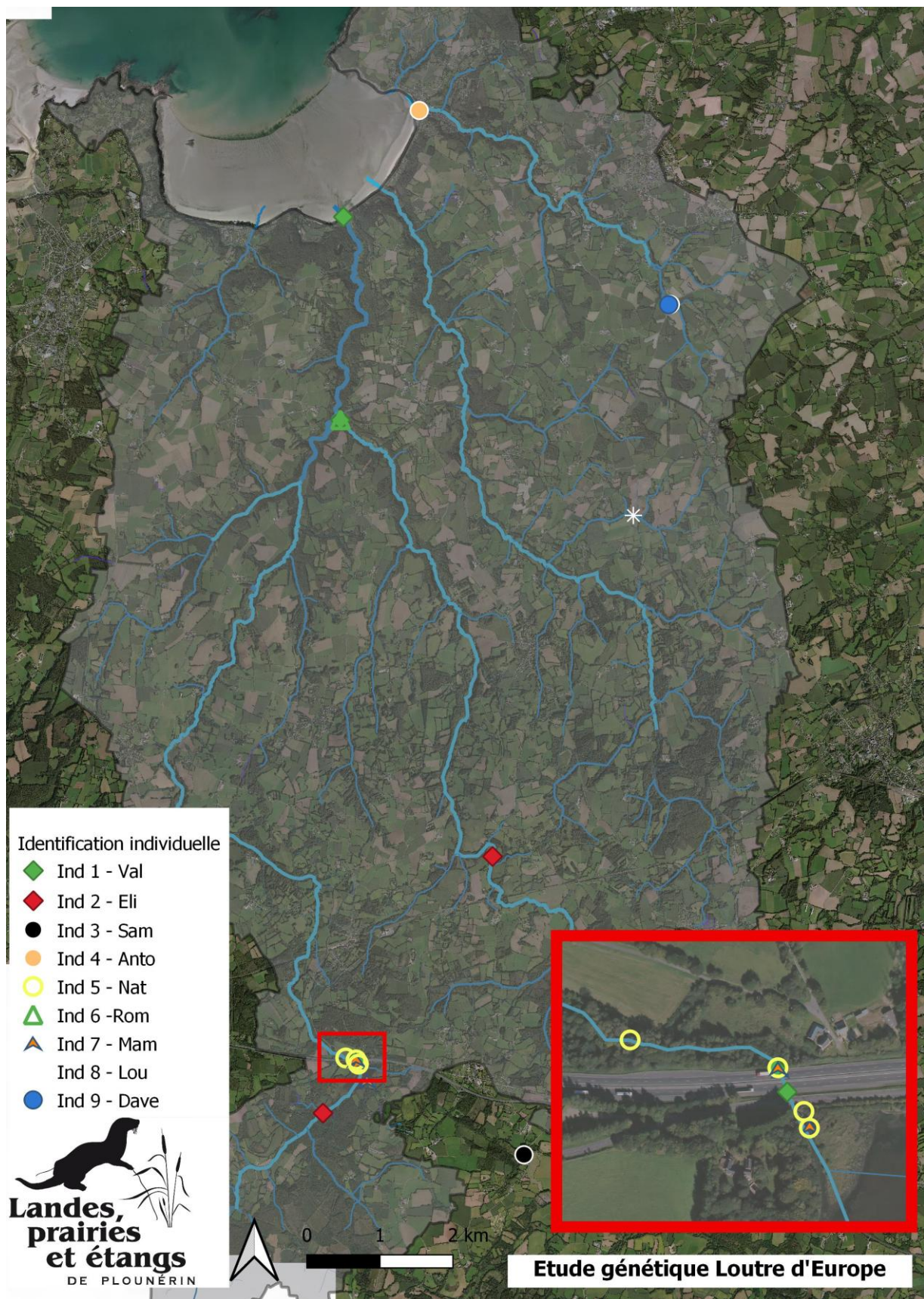
Les individus fréquentant l'Étang du Moulin Neuf (4) ne sont jamais ré identifiés sur un autre bassin versant et ceux du Kerdu (2) sont également toujours sur leur bassin versant.

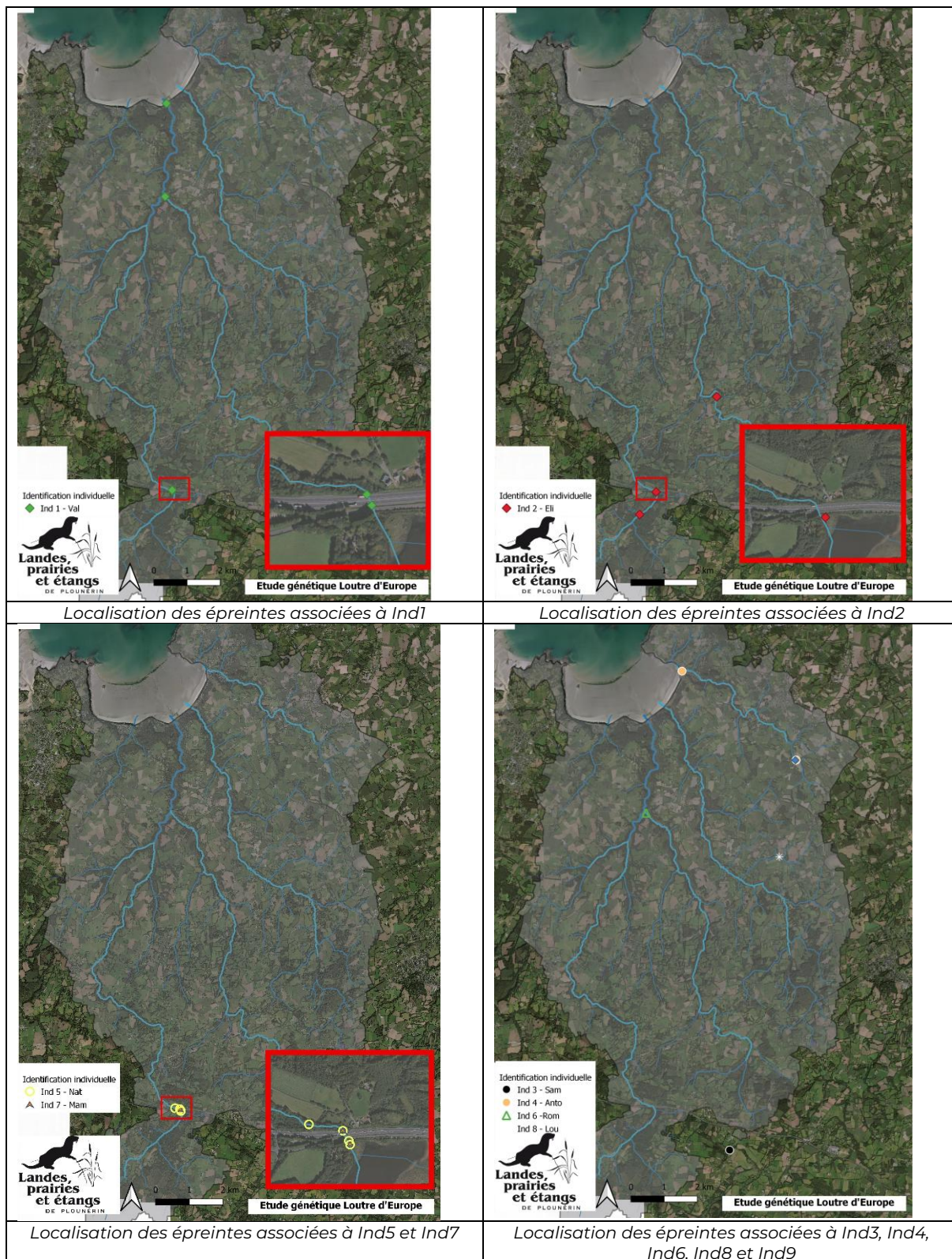
Ind5 a été identifié à 4 reprises, systématiquement autour de l'Étang du Moulin Neuf sur plus de six mois d'intervalle. Ind7 permet de relever les mêmes constatations. Ces individus semblent donc exploiter fortement ce site.

Plusieurs individus ont été détectés à plus de 6 mois d'intervalle (Ind2, Ind5 et Ind7) et même à plus d'un an (Ind1). Pour mémoire, l'espérance de vie d'une Loutre dans la nature est estimée en moyenne de 5 ans.

La troisième session permet d'identifier encore deux nouveaux individus alors que cette session se concentrait sur un espace restreint du bassin versant : cela laisse penser que d'autres individus sont encore à identifier sur les bassins versants.

Session	Nombre d'identifications	Nombre d'individus identifiés	Nombre de nouvelles identifications
1	8	4	4
2	6	4	3
3	8	5	2





Remarques et limites

Population du bassin versant

Fin 2025, la pose d'un piège-photo à l'Étang du Moulin Neuf a permis d'identifier 5 individus différents sur un même piège au cours de la même nuit. Ces observations ont été confirmées par la pose de pièges photographiques sur le site et ont permis d'identifier au moins 8 individus utilisant l'étang à cette période.

Ces observations et les résultats de l'étude génétique nous invitent à penser que le nombre de loutres utilisant le bassin versant en 2024-2025 est bien supérieur à 9 individus.

Parenté

La qualité du matériel génétique n'a pas permis d'évaluer les relations de parentés de similarités avec les individus connus sur le bassin versant par le passé (individu retrouvé mort).

Conclusion

Sur les 20 prélèvements réalisés, cette étude a permis d'identifier génétiquement 9 individus sur les bassins versants de La Lieue de Grève, dont 4 utilisent le site de l'Étang du Moulin Neuf. Deux individus semblent exploiter fortement ce site, ils n'ont été identifiés qu'à cet endroit à plusieurs dates.

Les déplacements observés semblent préférentiellement se cantonner le long d'un même cours d'eau ou du même site (Étang du Moulin Neuf).

Les résultats semblent confirmer l'hypothèse que l'Étang du Moulin Neuf constitue un site important pour cette espèce, permettant à des individus d'y passer une large part de leur cycle de vie.

La lignée génétique des loutres identifiées s'inscrit pleinement dans celles connues pour les populations de Bretagne et les loutres ne présentent pas de signes de fragilités (peu d'indices de consanguinités).

Le nombre d'identifications ne permet pas d'estimer la taille de populations de Loutre mais laisse penser qu'elle est plus importante que les premières estimations données en 2010 (9 individus).

Le régime alimentaire de la Loutre à l'Étang du Moulin Neuf est composé de poissons et d'amphibiens. L'anguille est fréquemment retrouvée dans le bol alimentaire. La présence régulière de salamandres questionne car celle est réputée comme peu consommée (voire dangereuse) à cause de la toxicité de l'animal.

Cette approche génétique présente des limites. Elle est fortement chronophage pour récupérer des épreintes fraîches et coûteuse financièrement. Elle ne permet pas à un gestionnaire de site de travailler de manière autonome.

Les apports de connaissance par rapport aux méthodes utilisées par le passé (piège photographique, relevés d'épreintes, observations directes) portent principalement sur l'identification individuelle des individus. Cela donne des informations sur les déplacements des individus sur les bassins versants dans l'espace et le temps.

Déterminer le degré de parenté entre les individus aurait été une avancée de connaissance importante pour justifier l'usage de la génétique. Elle n'est pas possible avec les méthodes actuelles d'analyse génétique sur ce type de prélèvement.

La poursuite de cette méthode paraît envisageable sur le site, mais uniquement de manière très ponctuelle, quelques prélèvements par an, localisés à l'Étang du Moulin Neuf pour suivre la longévité des individus aujourd'hui identifiés sur le site.