
Rapport de stage individuel

5^{ème} année

Etude des facteurs paysagers affectants les flux de gènes chez le Lièvre variable (*Lepus timidus*)

Parc national du Mercantour

**23 rue d'Italie CS 51316
06006 Nice Cedex 1**



Tuteur entreprise : Aurélie Coulon

**Maître de Conférences du Muséum
national d'Histoire naturelle**

Tuteur académique : Francis Isselin

Salomé Doval

IUT - ADAGE

2021-2022

Table des matières

I.	Recherche et choix du stage.....	5
II.	Présentation de la structure d'accueil	5
1.	Organisme d'accueil : Parc National du Mercantour	5
2.	Lieu de stage : CEFE Montpellier	6
3.	Encadrement	6
III.	Présentation de la mission	7
1.	Projet POIA Espèces Arctico-Alpines	7
2.	Lepus timidus.....	8
3.	Objectifs du stage.....	9
IV.	Présentation du déroulé de la mission.....	10
1.	Rencontre avec les différents acteurs et définition des objectifs	10
2.	Bases de données et marqueurs génétiques	11
3.	Analyses de structuration génétique	12
4.	Analyses des effets des éléments paysagers sur les flux de gènes	15
5.	Communication des objectifs et des résultats du projet	16
V.	Présentation des livrables de la mission	16
1.	Structuration génétique	16
2.	Effet des éléments paysagers sur les flux de gènes	23
VI.	Retour réflexif sur l'expérience	24
1.	Compétences.....	24
2.	Conditions de travail.....	25
3.	Expériences transversales	26
4.	Pistes d'amélioration.....	26
VII.	Précision du projet professionnel	27
VIII.	Bibliographie.....	29

Table des illustrations

Figures

Figure 1 : Zone d'étude, les Alpes françaises	7
Figure 2 : <i>Lepus timidus</i> (crédit : J.Letty)	9
Figure 3 : répartition des échantillons utilisés pour le génotypage chez le lièvre variable	16
Figure 4 : Sex-ratio chez le lièvre variable dans la zone d'étude	16
Figure 5 : barrières hypothétiques aux flux de gènes chez le lièvre variable	17
Figure 6 : Unités génétiques hypothétiques pour le lièvre variable	17
Figure 7 : Barplot des résultats de STRUCTURE pour K=5 (auteure : S.Doval)	18
Figure 8 : Répartition spatiale des clusters inférés par STRUCTURE pour K=5	18
Figure 9 : DAPC pour K=10 chez le lièvre variable	19
Figure 10 : Répartition spatiale des individus fortement assignés (coefficient d'assignation ≥ 0.6) selon la DAPC pour K=10 (auteure : S.Doval)	19
Figure 11 : Participation cumulée croissante à l'explication de la variation génétique par la configuration spatiale par les variables memgene (auteure : S.Doval)	20
Figure 12 : Variable MEMGENE1	20
Figure 13 : Variable MEMGENE 2	21
Figure 14 : Variable MEMGENE 3	21
Figure 15 : Conclusion sur structuration génétique de niveau supérieur, deux grandes unités génétiques	22
Figure 16 : Conclusion sur structuration génétique de niveau inférieur, sept sous-unités génétiques	22
Figure 17 : Distance génétique en fonction de la distance euclidienne entre unités génétiques (auteure : S.Doval)	23

Tableaux

Tableau 1 : Indices de diversité génétique.....	23
---	----

Remerciements

Je tiens à remercier :

Aurélie Coulon, pour m'avoir fait confiance malgré mes lacunes de connaissances au départ, ainsi que pour ses recommandations et directions sur la réalisation du stage, et sa présence durant ces six mois. Et, particulièrement pour son écoute et ses précieux conseils concernant mon avenir professionnel.

Jérôme Letty, pour sa participation à l'encadrement du stage, et surtout de m'avoir permis d'effectuer des expériences transversales au stage, comme la participation à la conférence mondiale sur les lagomorphes et l'unique mission de terrain que j'ai pu effectuer sur le radiopistage de lièvres.

Mélanie Larue, pour m'avoir emmenée sur le terrain, et pour avoir organisé la conférence mondiale sur les lagomorphes à ses côtés.

Mes collègues du CEFÉ, pour avoir partagé leurs déjeunés et leurs conseils avec moi.

Jérôme Mansons, pour avoir piloté ce projet à grande échelle et m'avoir donné l'opportunité d'effectuer ce stage.

Francis Isselin, pour avoir été mon tuteur académique, m'avoir prodigué des conseils sur la réalisation du stage avant mon départ, et d'avoir répondu aux questionnements que j'avais sur mon futur professionnel.

Ma famille, mon partenaire de vie, mes chats, mes amis, pour le précieux soutien moral, et parfois technique, qu'ils m'ont apporté tout au long de ce stage.

I. Recherche et choix du stage

Mon cursus au département Aménagement du territoire et Environnement de l'école Polytech Tours m'a apporté plusieurs compétences, comme l'utilisation d'outils informatiques destinés à divers objectifs, ainsi que le travail en équipe. Bien que cette formation comporte un volet environnement, comprenant des cours très intéressants, il me semble tout de même moins présent que le volet aménagement ou gestion de projet.

Issue d'un lycée scientifique Sciences de la Vie et de la Terre, et d'une classe préparatoire intégrée en biologie, le domaine scientifique m'a toujours fascinée. Dans l'idéal, j'aimerais mener une carrière dans le secteur de l'écologie de la conservation. C'est pourquoi j'ai cherché à orienter mes choix de stages vers la recherche scientifique, plus précisément liée à la conservation des animaux. Je percevais ces stages comme des opportunités de compléter mon parcours plutôt que de simplement le prolonger.

J'ai mené ma quête d'offres de stage sur des sites internet spécialisés dans les métiers liés à l'environnement, tels que Réseau TEE et SFEcodiff. Je n'ai postulé qu'aux offres dont les sujets et les cadres (localisations) m'inspiraient fortement. Je cherchais essentiellement un stage de recherches scientifiques pour prendre cette nouvelle direction à la suite de mon (futur) diplôme d'ingénieur en aménagement du territoire et environnement. Mon souhait était également de travailler sur une espèce qui me plaisait, plutôt axée sur les animaux et particulièrement les mammifères. Seules deux offres ont attiré mon attention sur la période de prospection. J'ai donc préparé mon curriculum vitae et des lettres de motivations personnalisées pour ces deux sujets d'études, j'ai préparé et passé deux entretiens vidéo à distance, et l'un des recruteurs m'a répondu positivement. Le sujet de mon stage est alors : ***Etude des facteurs paysagers affectant les flux de gènes chez le lièvre variable (*Lepus timidus*)*** provenant d'un partenariat entre le Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive et le Parc National du Mercantour.

II. Présentation de la structure d'accueil

Ce stage s'inscrit dans un projet impliquant divers partenaires, pour cette raison, la structure d'accueil et le lieu de stage sont deux organismes différents. Dans cette section, il s'agira de présenter la structure d'accueil du stage et l'organisme associé au lieu de stage, à savoir le Parc National du Mercantour et le Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive respectivement.

1. Organisme d'accueil : Parc National du Mercantour

Le Parc National du Mercantour (PNM) est créé le 18 août 1979 après avoir longtemps été un territoire dédié essentiellement à la chasse. Il est situé au sud-est de la France, s'étendant sur plus de 1800 km² sur les départements Alpes de Haute-Provence (04) et Alpes-Maritimes (06), partageant 33 km de crête avec le Piémont italien.

Les intentions générales du parc sont environnementales et culturelles, en visant à la protection et la valorisation des milieux naturels, la faune, la flore, ainsi que le patrimoine culturel et paysager. En ce qui concerne le patrimoine culturel, l'intention est de préserver l'histoire du territoire et la beauté des paysages pour maintenir une identité de territoire et de permettre aux hommes d'en bénéficier. Les objectifs environnementaux sont entre autres le maintien de la biodiversité en disposant de l'espace nécessaire pour que les espèces sauvages et cultivées puissent vivre convenablement. Des protocoles scientifiques sont mis en place pour cumuler les connaissances de ce territoire, et finalement de pouvoir le préserver en conséquence. De plus, ces connaissances sont partagées au grand public dans l'intention de sensibiliser pour éveiller en eux une envie de protéger la nature.

2. Lieu de stage : CEFE Montpellier

Le Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE) est un laboratoire français de recherches scientifiques en écologie, situé à Montpellier. Créée en 1961 et initialement nommée le Centre d'Etudes Phytosociologiques et Ecologiques (CEPE), c'est une unité de recherches du Centre National de Recherches Scientifiques (CNRS). A partir de 1987, elle devient le Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE).

Depuis 2003, le CEFE est devenu une Unité Mixte de Recherches (UMR), qui comporte quatre tutelles et trois partenaires. Ses tutelles sont le CNRS, l'Ecole pratique des Hautes Etudes (EPHE), l'Institut de Recherches pour le Développement (IRD) et l'Université de Montpellier (UM). Le CEFE est également soutenu par l'Institut Agro/Montpellier SupAgro, l'Institut National de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement (INRAE), ainsi que l'Université Paul Valéry, qui constituent les partenaires du laboratoire.

L'objectif général du CEFE est de comprendre la dynamique, le fonctionnement et l'évolution du vivant. Les sujets de recherches au sein du laboratoire visent à comprendre les problématiques actuelles pour prédire les enjeux du futur, dans l'optique d'innover et de répondre aux besoins de la société de demain. Cela s'inscrit alors dans un contexte de changements globaux et d'évolution technologique.

Il existe quatre départements scientifiques au sein de l'établissement : Ecologie Evolutive et Comportementale, Ecologie Fonctionnelle, Interaction Ecologie et Sociétés, Dynamique et Conservation de la Biodiversité. C'est dans ce dernier département que mes six mois de stages se sont déroulés. L'objectif global de cette branche est de comprendre et de prédire la dynamique des systèmes écologiques et de la biodiversité en relation avec les activités humaines.

Ce département est lui-même découpé en plusieurs équipes. L'équipe dans laquelle s'inscrit cette étude sur les lièvres variables est Mouvement, Abondance et Distribution (MAD). Les membres de l'équipe MAD s'intéressent plus particulièrement à identifier et comprendre les modèles de distribution à travers des échelles temporelles et spatiales, mais aussi selon divers niveaux d'organisation, de l'individus aux populations et communautés. Elle est constituée de membres permanents (chercheurs), de doctorants et de post-doctorants, et de stagiaires.

C'est donc au sein de ce laboratoire que s'est déroulé l'intégralité de mon stage de fin d'études.

3. Encadrement

Le stage est encadré par trois personnes provenant de structures différentes. Aurélie Coulon, maître de conférences affiliée au CESCO du MNHN et au CEFE de Montpellier représente l'encadrante principale de ce stage. Plusieurs de ses travaux traitent de la génétique des populations ou du paysage, ses compétences sont alors plus que compatibles pour assurer la gestion du déroulement de ce sujet. De plus, étant basée au CEFE de Montpellier, qui constitue la structure d'accueil de ce stage, c'est avec elle que les plus nombreux échanges, réflexions ont lieu pour construire l'étude.

Mais, c'est le Parc National du Mercantour qui m'invite à participer au projet, en signant la convention de stage et en versant des indemnités. C'est pourquoi Jérôme Mansons, chef du projet POIA espèces arctico-alpine, fait partie des encadrants au titre de « maître de stage ». Il apporte de la coordination entre les actions, de la communication entre les différents acteurs, certaines directions concernant les attentes finales, et un savoir complémentaire à celui des deux autres encadrants.

Enfin, Jérôme Letty, ingénieur à l'Office Français de la Biodiversité (OFB, Juvignac) constitue le troisième membre de l'encadrement de ce stage en apportant ses conseils, ses connaissances, et son expérience sur le lièvre variable, mais aussi de l'apport matériel permettant l'exécution de certains calculs.

III. Présentation de la mission

1. Projet POIA Espèces Arctico-Alpines

La mission confiée prend place au sein du projet POIA Espèce Arctico-Alpines, réunissant plusieurs partenaires implantés dans les Alpes françaises dont le Parc National du Mercantour qui en incarne le chef de file. Les différents acteurs sont le PN des Ecrins, le PN du Mercantour, le PNR du Queyras, le PN de la Vanoise, le PNR du Vercors, le Centre de Recherches sur les Ecosystèmes d'Altitude (CREA Mont-Blanc), l'Office Français pour la Biodiversité (OFB), ainsi que les fédérations de chasse de la Drôme (FDC26), de l'Isère (FDC38), de la Savoie (FDC73) et de la Haute-Savoie (FDC74) (Figure 1).

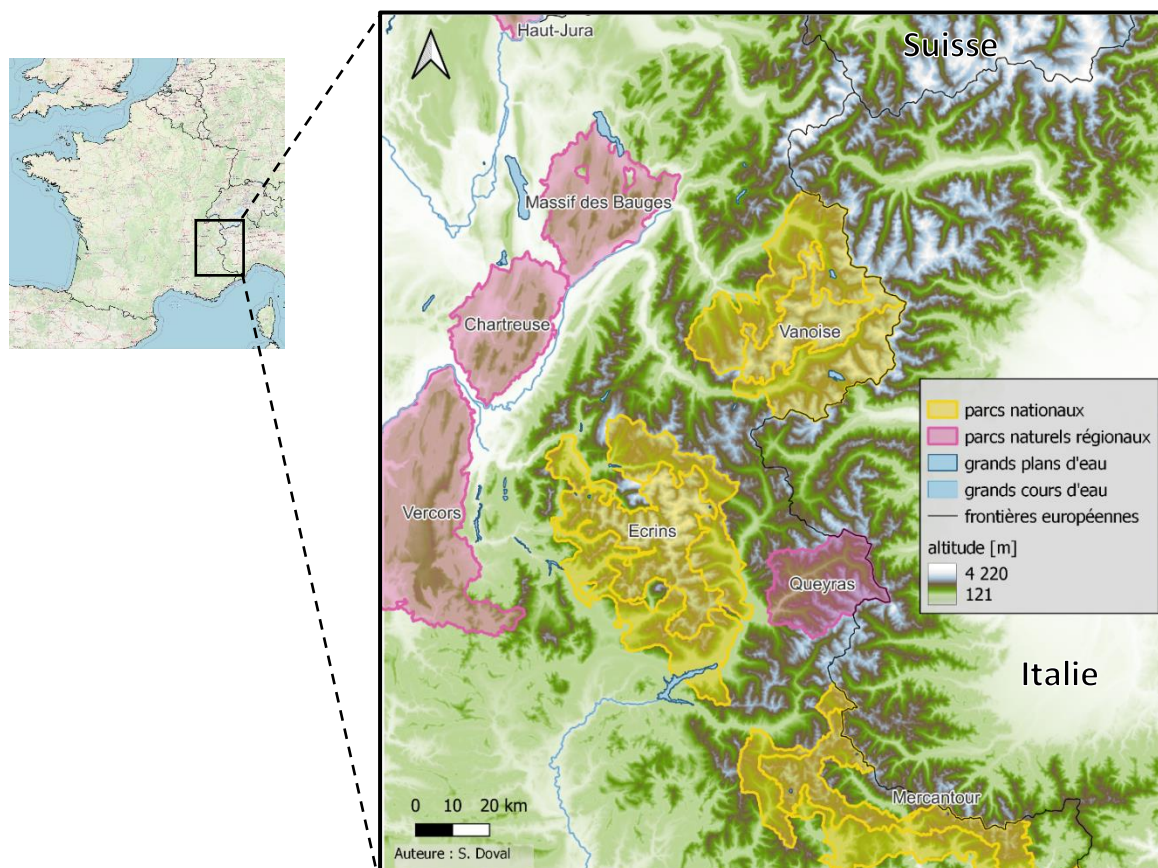


Figure 1 : Zone d'étude, les Alpes françaises

Ce projet vise à étudier des espèces spécialisées et très vulnérables du massif alpin. Les espèces comme le Lagopède alpin (*Lagopus muta*) et le Lièvre variable (*Lepus timidus*) correspondent à ces critères et sont encore très peu étudiées. Les raisons de ce manque de connaissances sont liées à leurs aires de répartition qui, selon les saisons, sont difficilement accessibles par les humains car présentant de fortes contraintes climatiques et physiques.

Le changement climatique menace ces deux espèces car entraînent plusieurs conséquences qui impactent directement les populations, tels que la hausse des températures, le déneigement précoce, le recul glaciaire, l'avancée de la végétation ainsi que la remontée en altitude des espèces. L'objectif est alors de comprendre l'actuelle répartition et le devenir de ces individus en fonction de l'évolution du climat, du tourisme, des activités pastorales. Pour finalement identifier des zones de conflits, mettre en évidence des corridors écologiques vitaux et indiquer des recommandations de gestion de territoire afin de réduire le nombre et la puissance des pressions agissant sur les populations alpines.

Le projet se déroule sur trois années de 2020 à 2022. La première année est dédiée à la préparation et réflexion des actions, la deuxième concerne la collecte des données sur le terrain. Pour finir, la

troisième année est destinée aux analyses, à la production de résultats et à la poursuite des collectes sur le terrain.

Plusieurs actions sont avancées pour chacune des deux espèces. Puisque ce rapport traite du lièvre variable uniquement, seules les actions le concernant sont nommées ici :

- LV1 : modélisation de la distribution hivernale du Lièvre variable à l'échelle alpine
- LV2 : analyse des effectifs et densités par sites
- LV3 : analyse de la connectivité des habitats à l'échelle alpine
- LV4 : déplacements altitudinaux et rythme d'activité du Lièvre variable

Le réchauffement climatique joue un rôle déterminant pour le lièvre variable puisqu'il semble impliquer une compétition avec le lièvre commun. Les aires de répartition de ces deux espèces s'entrecoupent déjà, avec possibilité d'hybridation. Mais, le réchauffement climatique rendra défavorable certaines zones aujourd'hui favorables pour le lièvre variable, ce qui poussera le lièvre variable à prendre de l'altitude pour retrouver des conditions climatiques vivables. Cependant, ce processus n'est pas imaginable sur le long terme puisque les massifs possèdent un espace et une altitude finis, les frontières ne sont pas repoussables infiniment. De la même manière, les zones favorables au lièvre commun prendraient de l'altitude ce qui, au bout d'un certain temps, accentuerait la compétition de ressources entre les deux espèces. De plus, le dérèglement des saisons peut engendrer des problèmes concernant la mue du lièvre, ne pouvant plus se camoufler le risque de prédation s'accroît. C'est pour ces raisons, entre autres, qu'il est primordial de comprendre dès à présent de quelles façons évoluent les populations actuelles sur le territoire alpin, pour ensuite prendre des décisions de gestion et conservation adéquates.

Tout ce savoir récolté ne sert pas à changer le cours des choses tant qu'elles ne sont pas partagées avec le reste des acteurs des Alpes françaises, autrement dit : le grand public, éleveurs, accompagnateurs, guides en montagne, bergers... Les études menées dans le cadre de ce projet, servent ensuite à sensibiliser et impliquer ces acteurs envers la conservation de ces milieux.

Ce projet vise à combler le manque de connaissances sur ces deux espèces pour ensuite aider aux réflexions et prises de décision concernant la gestion et l'aménagement du territoire alpin dans un contexte de changements climatiques.

2. *Lepus timidus*

Les informations présentées dans cette partie proviennent de L'Atlas des mammifères de France, sur le lièvre variable (Letty et al., 2021).

Il existe plusieurs sous-espèces de *Lepus timidus*, en France c'est le *Lepus timidus varronis* qui est essentiellement présent dans les Alpes (Figure 2). Il mesure entre 50 et 65 cm pour un poids oscillant entre 2 et 3 kg, avec une masse plus importante chez les femelles que chez les mâles. Il possède la faculté de changer de pelage, en passant du brun au blanc en hiver. Ce changement de pelage apporte un camouflage adapté aux saisons, permettant de diminuer le risque de prédation et d'améliorer la thermorégulation.

Son aire de répartition correspond aux Alpes, la plupart du temps entre 1500 et 3500m. Il est ubiquiste, présent autant en forêts qu'en milieux très ouverts. Sa présence est particulièrement liée à la disponibilité d'abris.

Sa méthode de reproduction est économe avec une croissance des progénitures rapide. Ce comportement est adapté aux conditions climatiques alpines. La période d'accouplement débute en février et les premiers descendants naissent en avril.

C'est une espèce nocturne, et non territoriale. Il partage d'ailleurs une partie de son territoire avec le lièvre d'Europe (*Lepus europaeus*) dans les Alpes. Il peut s'hybrider avec cette espèce et donner naissance à des hybrides fertiles mais cette pratique reste plutôt marginale (<0.5%).



Figure 2 : *Lepus timidus* (crédit : J.Letty)

Le statut de conservation dans les Alpes est encore incertain puisque les connaissances sur l'évolution des populations sont maigres. Mais, le réchauffement climatique pourrait potentiellement jouer un rôle important sur ces populations. En effet, cela peut entraîner une réduction de l'espace vital, une compétition plus intense avec le lièvre d'Europe, et des problèmes de mue de pelage qui seraient déclenchés trop tôt ou trop tard selon les dérèglements de

températures. C'est pour cette raison, que la réalisation de l'étude dont il est question dans ce rapport peut faire évoluer et éclaircir la situation dans le but de mettre en place des mesures de conservation adaptées.

3. Objectifs du stage

Ce stage se déroule lors dernière année du projet et s'inscrit dans l'action LV3 du programme du projet POIA Espèces Arctico-Alpines : analyse de la connectivité des habitats à l'échelle alpine. Une des conditions de maintien des populations du lièvre variable dans les Alpes françaises implique les flux de gènes suffisants entre les sous-populations. Des populations isolées peuvent tendre vers l'extinction de l'espèce (annexe 6). Ceci implique à son tour une difficulté à l'espèce à s'adapter aux nouvelles problématiques de leur environnement (températures, maladies ...) (Mills, 2007). Autrement dit, pour que les populations se maintiennent à long terme, leur état actuel doit être connu.

Pour mieux appréhender les conditions de flux de gènes futurs, il faut connaître la situation actuelle des populations. Ceci permet ensuite d'identifier des corridors et des points de conflits qui peuvent aider aux prises de décisions sur la gestion du territoire alpin.

L'étude débute alors sur diverses questions :

- Existe-il une structuration génétique à l'échelle des Alpes ?
- Y a-t-il des flux de gènes entre les unités génétiques existantes ou bien existe-il des populations isolées ?
- Quels sont les éléments paysagers qui affectent les flux de gènes ?
- Quelles sont les prescriptions à proposer aux gestionnaires du territoire pour conserver au mieux l'espèce ?

Plus précisément, la mission consiste à rassembler les données génétiques des différents partenaires, puis de déterminer la fiabilité des marqueurs génétiques utilisés à l'aide de différents logiciels. Une fois les marqueurs peu fiables éliminés, il s'agit de déterminer les unités génétiques sur la zone d'étude. Pour cela trois méthodes de natures différentes sont utilisées, afin d'augmenter la robustesse des résultats s'ils s'accordent, ou apporter d'autres informations sur la situation s'ils divergent. L'intérêt de déterminer ces sous-populations est d'ensuite pouvoir comprendre les raisons des

distances génétiques entre les populations détectées (ou non), puis potentiellement identifier les éléments du paysage qui affectent les flux de gènes. Pour se faire des analyses de résistance du paysage sont effectuées sur toute la zone d'étude. Ces étapes vont mener vers une identification des points de conflits entre le maintien des populations de lièvres variables et les activités humaines, ainsi que la mise en surbrillance de corridors écologiques vitaux à conserver. Finalement, toute cette étude est retranscrite dans un rapport scientifique qui servira de recueil de connaissances sur l'espèce, ainsi qu'à l'aide à la prise de décisions pour les gestionnaires du territoire et le grand public.

IV. Présentation du déroulé de la mission

Dans cette section, sont présentées les diverses tâches menant à la réalisation de la mission confiée.

1. Rencontre avec les différents acteurs et définition des objectifs

L'insertion dans le centre de recherches et la présentation des attendus généraux par Aurélie Coulon sont les premiers pas vers l'appropriation du sujet. L'introduction de l'étude se fait par la présentation du livrable créé par une ancienne stagiaire, Ophélie Billaud, qui travaillait sur un thème et une zone d'étude sensiblement similaires. Ce rapport permet de souligner les objectifs principaux à atteindre lors de mon stage et de déterminer des pistes d'améliorations. En effet, il ne serait pas judicieux de se lancer dans le même type de projet en reproduisant les mêmes erreurs, s'il est possible de les éviter en se basant sur une étude précédente. Cependant, les outils d'analyses évoluent plutôt rapidement, donc toutes les méthodes utilisées dans ces travaux datant de 2017 ne pourront pas être réutilisées à l'identique.

C'est au cours de l'exposition des travaux de l'ancienne stagiaire, que nous nous sommes rendu compte qu'une sorte de quiproquo s'était invité à la session de recrutement. Lorsque nous nous sommes entretenues au sujet de ma candidature à l'offre de stage postée sur internet, nous avons toutes les deux fait une erreur de jugement : Aurélie Coulon à propos de mes compétences, et moi concernant les attentes du stage. En effet, je n'avais pas saisi que le centre du sujet tournait autour de la génétique du paysage, un domaine très spécifique que je n'ai pas étudié lors de mes formations. Pour remédier à ce mal entendu, nous nous sommes empressées de rattraper ce manque de connaissances pour espérer accomplir la mission dans les meilleures conditions possibles. Ceci s'est accompagné par une importante recherche de supports de connaissances. Les livres scientifiques apportant une vue d'ensemble sur la génétique des populations et la génétique du paysage semblaient être une première étape convenable (Balkenhol, 2016; Henry & Gouyon, 2008; Mills, 2007). Ensuite, les articles scientifiques traitant d'analyses d'unités génétiques et d'effet d'éléments paysagers sur ces distances génétiques ont permis de dresser ces concepts de manière bien plus concrète (Åkesson et al., 2022; Hargrove et al., 2022; Kunz et al., 2022; Lecis et al., 2022; McCluskey et al., 2022; Portanier et al., 2022; Reyne et al., 2022; Statham et al., 2022; Adhikari et al., 2021; Darinot et al., 2021; Macdonald et al., 2020; Wan et al., 2018; Beugin et al., 2017). Enfin, certaines vidéos disponibles sur internet et discussions avec mon encadrante ont apporté une dimension pédagogique à cette période d'apprentissage accélérée.

Une première réunion vidéo comprenant les trois encadrants présentés précédemment (Encadrement) et moi-même est planifiée dès les premiers jours pour échanger à propos des buts principaux du stage. Les questions abordées concernent les objectifs à atteindre, les différentes étapes à franchir, et les méthodes à mettre en œuvre pour y parvenir. Cette réunion permet également de recueillir les diverses visions et attentes de ces trois acteurs concernant l'aboutissement du stage. Jérôme Mansons est le commanditaire, il indique quels types d'informations et de livrables le Parc National du Mercantour et ses partenaires attendent à la fin de ces six mois de recherches. Aurélie Coulon, quant à elle, s'emploie particulièrement à la méthodologie de l'étude puisque le sujet traite

de la génétique des populations qui est l'un de ses domaines de prédilection. Enfin, la vision d'expert des lagomorphes de Jérôme Letty permet d'apporter des compléments, des subtilités, et donc d'affiner les recherches. A l'issue de cette session de discussion, un accord est convenu sur les premières tâches à accomplir, et l'idée de programmer des réunions toutes les deux semaines à vue le jour. Ceci a pour ambition de suivre régulièrement l'avancement des travaux tout en laissant le temps d'accomplir des tâches pour avoir de nouvelles informations à présenter à chaque réunion.

Courant mars, une autre réunion s'est imposée avec pour but de me présenter, ainsi que les perspectives du stage, pour ensuite solliciter les nouveaux partenaires potentiels présents à contribuer à l'étude en nous transmettant leurs données génétiques sur le lièvre variable. Cette démarche permet de constituer une base de données plus grande, ce qui conduit à mener des analyses sur un échantillon plus important et une zone d'étude plus large, et donc d'obtenir des résultats plus robustes. Les bénéfices sont à double sens, dans un sens notre étude sera plus intéressante car se basant sur une taille d'échantillonnage plus conséquente, et dans un autre, les nouveaux partenaires pourront profiter des résultats finaux, pour prendre des mesures adéquates sur leur territoire, puisqu'ils auront contribué aux travaux. La totalité des acteurs invités ont répondu favorablement à la requête émise par le Parc National du Mercantour, chef de fil du projet. L'énumération des partenaires définitifs du projet correspond à celle énoncée précédemment (Projet POIA Espèces Arctico-Alpines).

2. Bases de données et marqueurs génétiques

La première tâche confiée par Jérôme Mansons est la constitution d'une base de données unique, regroupant tous les résultats d'analyses génétiques sur le lièvre européen (*Lepus europaeus*) et lièvre variable (*Lepus timidus*) récoltés dans les Alpes françaises. En effet, ces deux espèces sont en sympatrie dans le massif alpin, c'est-à-dire qu'elles se partagent (plus ou moins) la même zone géographique et se rencontrent fréquemment. Le sujet de ce stage porte uniquement sur l'étude du lièvre variable mais il est important pour le parc de disposer d'une base de données complète pour de potentielles futures études.

Ces analyses sont faites par une entreprise de biotechnologie nommée ANTAGENE. Le travail fourni par cette entreprise permet de caractériser le génotype de chaque échantillon (fèces ou tissus) d'identifier un panel de marqueurs génétiques, ici 12 microsatellites¹. Les microsatellites présentent une variation génétique plus haute que les autres types de marqueurs génétiques. Ils sont aussi abondants le long du génome et leur réplication peut se faire à partir d'une petite quantité de matériel génétique. Ensuite, il est assez simple de différencier les individus, car la combinaison de ces microsatellites leur est propre à chacun. ANTAGENE livre les résultats sous forme de tableurs sensiblement différents selon les demandes de chaque client. Seuls les clients sont en droit de récupérer leurs résultats, ce sont des informations privées. Les clients doivent donner leur autorisation pour que d'autres puisse les obtenir, c'est pourquoi la réunion de partenaires potentiels avait été planifiée au mois de mars.

Les données supplémentaires provenant des nouveaux partenaires ont soit été envoyées dans la foulée à la suite de la réunion, soit nécessité une démarche de récupérations par mail s'étendant sur les semaines suivantes. Bien que la réactivité n'ait pas été immédiate pour tous les acteurs, la base de données finale contient plus d'informations qu'espéré, ce qui est un très bon point de départ.

Une fois tous ces fichiers en main, une compilation est nécessaire pour en produire un fichier unique. Elle est réalisée par l'utilisation du logiciel de tableur de feuille de calcul Excel du groupe Microsoft

¹ ADN répété en tandem, composé de courtes séquences d'1 à 6 nucléotides répétés de 5 à 100 fois (Allendorf et al., 2013).

Office. En réalité, deux fichiers uniques sont créés car pourraient être nécessaires pour diverses applications :

- Un tableur réunissant toutes les analyses d'échantillons avec leur génotype (1 ligne = 1 échantillon)
- Un tableur réunissant tous les individus détectés par les analyses avec leur génotype (1 ligne = 1 individu)

Il est important de notifier que le groupe ANTAGENE travaille sur les échantillons des clients de manière indépendante, alors les identifiants d'individus produits par le groupe ne sont pas uniques. Par exemple, il existe un individu « S01-01 » pour le PN Vanoise ainsi que pour le parc du Mercantour, mais ces individus sont distincts puisque les identifiants sont dépendant de chaque client. Pour remédier à ce problème, la nécessité de créer un identifiant unique d'individu survient. Cet identifiant est basé sur la concaténation de l'identifiant donné par ANTAGENE et le surnom de la structure correspondante. En reprenant notre exemple, les deux individus sont renommés « VAN_S01-01 » pour le PN de la Vanoise et « PNM_S01-01 » pour le PN du Mercantour. Pour finir, une homogénéisation de l'orthographe de certaines informations complémentaires est nécessaire pour pouvoir les trier simplement pour la suite.

C'est après cette démarche, que la constitution de deux fichiers de données propres à ce stage peut commencer. Les lignes correspondants à des lièvres européens et des hybrides sont supprimées car ne concernent pas notre sujet.

Pour la base de données d'échantillons, seules les lignes possédant des coordonnées géographiques sont conservées, puisqu'elles sont nécessaires pour calculer la position relative de chaque individu. En effet, ce sont les coordonnées moyennes de tous les échantillons correspondant à un même individu qui sont calculées pour déterminer sa « position ». Pour se faire, l'outil d'analyse vectorielle « coordonnées moyennes » de QGIS3.22.1 est utilisé.

Pour la base de données d'individus, une vérification est mise en place pour identifier les doublons potentiels. L'idée est alors de concaténer toutes les valeurs de microsatellites par lignes pour créer un nouvel identifiant unique de génotype. Ensuite par la fonction « mise en surbrillance des valeurs en double » sur Excel, les individus doublons sont mis en évidence. L'étape suivante consiste à afficher ces individus doublons sur une carte et de mesurer la distance qui les sépare. Lorsque les ordres de grandeurs sont acceptables d'un point de vue biologique selon notre expert en lièvre variable, Jérôme Letty, les coordonnées des échantillons associés à ces individus sont moyennées pour ne former plus qu'un individu dans la base de données. Sinon, les deux individus sont maintenus distincts, il pourrait s'agir d'individus jumeaux ou d'erreur.

Enfin, seules les colonnes utiles pour la suite de l'étude sont conservées, de sorte à réduire la taille du fichier et de le rendre plus digeste.

3. Analyses de structuration génétique

Hypothèses

Avant de pouvoir commencer une étude scientifique, il peut être intéressant d'émettre des hypothèses. Dans le cadre des analyses de structuration génétique, il s'agit de déterminer des unités génétiques spatiales potentielles en amont. Pour cela, il faut d'abord connaître quelques caractéristiques biologiques de l'espèce, et supposer quels éléments paysagers pourraient constituer des barrières aux flux de gènes. Dans le cas des populations de lièvre variable dans les Alpes françaises, les autoroutes, les voies rapides (nationale et certaines départementales), les grands cours d'eaux

pourraient être considérés comme tels. A cela s'ajoute, les zones géographiques en basse altitude et les grandes distances entre deux groupes d'individus (largement > aux distances de dispersion). C'est à partir de ces suppositions que sont déterminées les unités génétiques hypothétiques.

Ensuite, une phase de documentation sur les nouvelles méthodes employées par les chercheurs était indispensable, puisque les outils d'analyses évoluent rapidement. De plus, tous les logiciels présentés ci-dessous m'étaient totalement étrangers. Une assimilation des manuels et tutoriels de ces logiciels était nécessaire.

Fiabilités des marqueurs génétiques

Les premières analyses portent sur l'évaluation de la fiabilité des 12 marqueurs génétiques dont dispose cette étude. Ce nombre de marqueurs n'est pas élevé, mais c'est un ordre de grandeur assez fréquent dans ce type d'études. Ceci peut s'expliquer par le coût élevé des réplifications de portions d'ADN faites par les laboratoires de biotechnologie. Diverses causes peuvent venir entraver la fiabilité des microsatellites, c'est pour cette raison que plusieurs outils informatiques sont employés pour les déceler. Premièrement, le logiciel MicroChecker2.2.3 sert à détecter les potentielles erreurs qui ont pu se produire lors du génotypage (présence d'allèles nuls, problèmes de bégaiement de la protéine d'amplification de l'ADN, ...). Ensuite, le package genepop1.1.7 sur R4.1.2 permet de déceler le déséquilibre de la liaison (Lewontin & Kojima, 1960). Le déséquilibre de la liaison est présent lorsque les génotypes d'un microsatellite sont dépendants des génotypes sur d'autres microsatellites. Dans ce cas-là, il est inutile de conserver tous les microsatellites concernés, car ils apportent sensiblement la même information, l'un d'entre eux suffit. Enfin, le package hierfstat0.5-11 (Goudet, 2005) sur R4.1.2 est utilisé pour révéler le polymorphisme² de chaque microsatellite. Plus un microsatellite est polymorphique, plus il est intéressant pour les études de structuration car il permet de mieux différencier les individus entre eux. Ces trois outils combinés identifient la fiabilité des microsatellites et permettent de déterminer lesquels sont à même de participer aux analyses de structuration génétique.

Une fois que la fiabilité des microsatellites est testée et que la base de données est mise à jour en conséquence, un tri sur les individus est fait. Les individus présentant plus de deux marqueurs non-génotypés ont été éliminés de la base de données, car induisent de l'imprécision.

Analyses de structuration génétique

Ensuite les analyses de structuration génétique sont faites selon trois méthodes différentes pour tester la robustesse des résultats. Si les résultats convergent, il y a une forte probabilité pour qu'ils soient justes ; s'ils divergent, cela apporte d'autres informations sur la structuration et l'efficacité des outils utilisés.

La première méthode consiste à déceler les sous-populations sur un territoire en utilisant le logiciel STRUCTURE2.3.4, très répandu dans le domaine de la génétique des populations (Pritchard et al., 2000). Ce logiciel permet de regrouper et dissocier les individus selon leur génotype dans le but de constituer des clusters se basant sur la méthode bayésienne et sur des principes de génétiques des populations tels que l'équilibre de Hardy-Weinberg (Hardy, 1908) ou le déséquilibre de la liaison (Lewontin & Kojima, 1960). Des conseils d'utilisation sont disponibles et publiés à la même époque (Falush et al., 2003). Puisque ce logiciel est utilisé par de nombreux chercheurs, beaucoup se sont penchés sur l'optimisation de son utilisation, ce qui a nécessité des recherches bibliographiques. Des indices sont développés et proposés par d'autres chercheurs désirant améliorer les résultats produits par l'algorithme (Evanno et al., 2005; Puechmaille, 2016). En effet, plusieurs paramètres sont

² Présence de plus d'un allèle à un locus (Allendorf et al., 2013)

modulables et jouent un rôle particulier dans la méthode de calcul, et par la même occasion impactent les résultats. Dans notre cas d'étude, plusieurs tests sont effectués sur l'ensemble du jeu de données, avec différentes valeurs de paramètres. Cette période de tâtonnement permet par la suite d'inculquer les meilleures valeurs dans l'algorithme. Finalement, nous nous sommes basés sur une étude récente sur l'optimisation de l'utilisation de cet outil, qui aiguille sur les erreurs à éviter et conseille certains paramètres (Wang, 2017). De plus, ce même auteur propose un nouvel indice « parsimony » pour aider à la sélection du nombre de clusters optimal basé sur la qualité de l'estimation de l'assignation des individus aux populations par STRUCTURE2.3.4 (Wang, 2019). Ici, nous avons testé un intervalle de nombre de cluster hypothétique (K) allant de K=1 à K=20, en itérant 10 fois pour chaque valeur. Cela signifie que le logiciel s'emploie à diviser les individus en K clusters pour chaque valeur de K, et ce à 10 répétitions. Les répétitions sont utiles pour tenir compte de la part d'aléatoire dans les issues des algorithmes, elles sont ensuite compilées et moyennées par le logiciel CLUMPP1.1.2. Pour chaque valeur de K, les 10 répétitions initiales sont résumées en un résultat. C'est à partir de ces compilations que les résultats de STRUCTURE2.3.4 peuvent être interprétés. Les estimateurs du meilleur K sont calculés par StructureSelector (Li & Liu, 2018) pour LnPD (Falush et al., 2003) et delta K (Evanno et al., 2005), et par KFINDER1.0 pour parsimony (Wang, 2019). Si les estimateurs convergent alors le résultat est robuste, sinon l'estimateur parsimony prime sur les deux autres, ces derniers peuvent apporter des précisions parallèles. Ces calculs sont plutôt lourds et nécessitent des machines performantes, c'est pourquoi nous les avons faits tourner sur le cluster de calculs de l'OFB Juvignac, qui est peu utilisé comparé à celui du CEFE.

La seconde méthode, DAPC, est proposée par le package adegenet2.1.6 sur R4.1.2, dédié à l'analyse multivariée des marqueurs génétiques (Jombart, 2008). L'objectif est de créer des combinaisons linéaires d'allèles qui reflètent autant que possible la variation génétique entre les individus étudiés. Contrairement à l'ACP qui se focalise sur la variation génétique totale, la DAPC optimise la variation entre les groupes tout en minimisant la variation à l'intérieur des groupes. A la différence de la première méthode, la DAPC requiert des populations a priori. Pour ne pas influencer les résultats arbitrairement, utiliser la fonction find.clusters() du même package paraissait judicieux.

Enfin, la troisième méthode repose sur l'utilisation du package memgene1.0.2 sur R4.1.2 (Galpern et al., 2014). Cet outil sert à détecter les modèles spatiaux à partir d'une base de données de distances génétiques. C'est l'unique méthode de structuration génétique présentée dans ce rapport dans laquelle sont utilisées les localisations des individus. Il est possible d'utiliser les coordonnées des individus dans le logiciel STRUCTURE2.3.4 mais ce n'est pas le cas dans cette étude, l'intention est d'avoir des méthodes d'assignations bien distinctes. Ce package permet de détecter des structurations plus faibles, et différentes échelles de structuration sont présentées grâce aux diverses variables MEMGENE qui constituent les résultats. L'analyse et les interprétations sont menées selon les recommandations du tutoriel (Galpern & Peres-Neto, s. d.).

Les analyses de diversité génétique permettent d'apporter une description des unités génétiques déterminées par les trois méthodes de structuration génétique. Les indicateurs choisis sont la richesse allélique³, la proportion d'allèles privés⁴, l'hétérozygotie⁵ (observée et attendue), ainsi que le Fis⁶ (Wright, 1931, 1951). Pour se faire, la richesse allélique (AR) et la proportion d'allèles privés (AP) sont calculés par le logiciel HP-RARE1.1 (Kalinowski, 2005). Puis, l'hétérozygotie attendue et l'hétérozygotie

³ Mesure du nombre d'allèles par locus (Allendorf et al., 2013)

⁴ Allèle présent uniquement dans une des populations échantillonnée (Allendorf et al., 2013)

⁵ Mesure de la variation génétique qui estime la proportion d'individus au sein d'une unité génétique qui possèdent des allèles différents sur un locus (Allendorf et al., 2013)

⁶ Distance génétique entre les individus d'une même unité génétique, indice de consanguinité

observée sont déterminées par les fonctions `Ho()` et `Hs()` du package `hierfstat0.5-11` sur R4.1.2 (Goudet, 2005). La fonction `genedivFis()` du package `genepop1.1.7` permet de calculer le F_{is} de chaque unité génétique (Rousset, 2020).

4. Analyses des effets des éléments paysagers sur les flux de gènes

Les surfaces de résistance sont des couches spatiales qui attribuent à chaque élément du paysage ou de l'environnement une valeur qui représente le degré auquel cet élément entrave ou facilite la connectivité pour un organisme d'intérêt (Spear et al., 2010). L'optimisation de ces surfaces correspond aux calculs faits par l'algorithme pour définir les degrés de résistance de chaque élément expliquant au mieux les distances génétiques entre individus.

Isolement par la distance

L'isolement par la distance, comme son nom l'indique, correspond à l'étude de la corrélation entre la distance génétique et la distance géographique. Autrement dit, déterminer la proportion de distance génétique expliquée par la distance géographique entre paires de populations. La distance génétique est calculée à partir du F_{st} qui est un indice de différenciation d'une population par rapport à toutes les populations. Les populations utilisées sont celles déterminées à l'aide des trois méthodes de structuration génétique. La matrice de distance euclidienne entre chaque paire d'unités génétiques est faite par `spDist()` du package `sp1.5-0` (Pebesma et al., 2022) et le F_{st} ⁷ est calculé grâce à la fonction `Fst()` du package `genepop1.1.7` (Rousset, 2020). Leur relation informe sur la valeur de l'effet de la distance géographique sur la distance génétique entre unités génétiques, autrement dit l'isolement par la distance (IBD).

Variables environnementales

Les variables choisies pour optimiser la surface de résistances sont : l'altitude, la pente, l'exposition, la fréquentation humaine et l'occupation du sol (annexe 1). Des tests de corrélation entre ces variables sont fait pour éviter d'intégrer deux variables qui apportent sensiblement les mêmes informations dans le modèle d'optimisation. Alors, ces tests sont effectués par la fonction `dudi.hillsmith()` du package `ade41.7-19` sous R4.1.2 qui permet de comparer des variables continues et catégoriques simultanément (Dray & Dufour, 2007). Pour ce qui est des variables continues, un coefficient de Spearman est aussi calculé par la fonction `cor.test()` du package `stats4.1.2` pour avoir un résultat plus concret. Seules les variables non-corrélées aux autres sont conservées pour l'analyse de résistance du paysage.

Isolement par la résistance

L'analyse de résistance paysagère étant chronophage et nécessitant une puissance de calculs importante, elle est faite sur une zone plus petite que pour la structuration génétique et par le cluster de calculs de l'OFB. Les variables environnementales sont formatées en raster de résolution 100x100m. L'optimisation des surfaces de résistance est conduite par le package `ResistanceGA4.2-5` (Peterman, 2018) avec le langage Julia1.7.3, qui permet une optimisation plus rapide qu'avec les options initialement proposées. Parmi les variables environnementales retenues après les tests de corrélation, celles de nature catégorielle sont transformées en variables continues, grâce à la fonction « proximité » de QGIS3.22.1. Par exemple, la catégorie « routes » de la variable d'occupation du sol est transformée en distance à la route. La fonction `all_combine()` de ce package est utilisée pour obtenir les résultats pour toutes les combinaisons de variables, sans a priori sur les formes.

⁷ Mesure de la divergence génétique à travers les sous-populations (Allendorf et al., 2013)

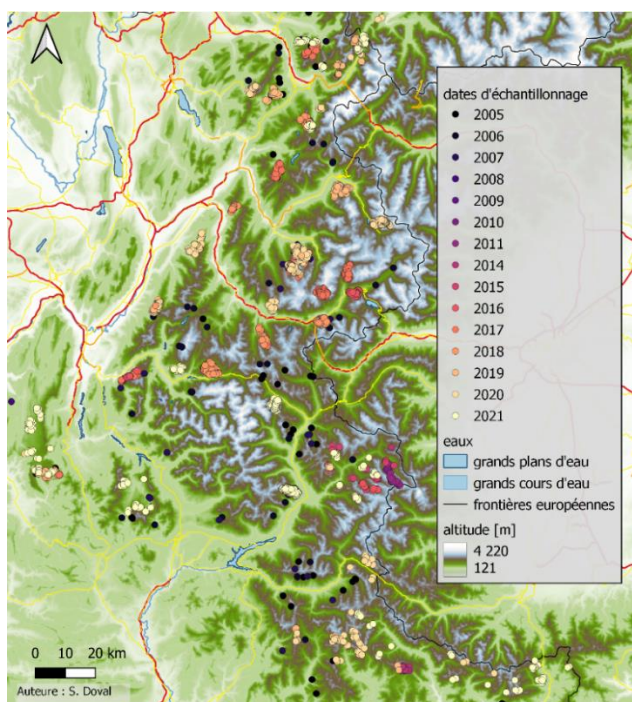
5. Communication des objectifs et des résultats du projet

Au cours de ces six mois j'ai également eu l'occasion de présenter l'avancer des recherches aux partenaires du projet lors d'une réunion dédiée au projet POIA. Cela permet aux différents acteurs de comprendre l'utilité de leur contribution, et les aboutissements de ces travaux. Pour ce faire, j'ai créé un diaporama, et un discours sur une durée de quinze minutes à vocation pédagogique, puisque la plupart des acteurs ne sont pas familier avec le domaine de la génétique des populations.

La rédaction d'un rapport de type scientifique m'a été demandé par le Parc National du Mercantour. Le but est de synthétiser et réunir dans un même document le contexte, la démarche, les résultats et les éventuelles recommandations pour gestion du territoire et des populations de lièvres variable. Ce document est rendu accessible à l'ensemble des partenaires, et est rédigé dans ce sens. Les informations qu'il contient pourront éventuellement servir à l'aide à la prise de décision concernant l'aménagement du territoire et le maintien des populations de lièvres.

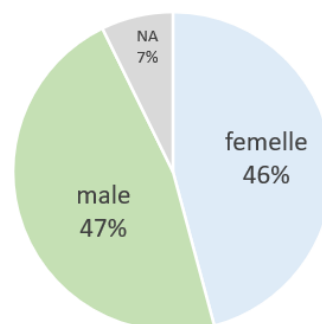
V. Présentation des livrables de la mission

En ce qui concerne les livrables de la mission, la demande principale est un rapport de type scientifique⁸, ainsi que des supports de présentation intermédiaires utilisés lors de réunions bimensuelles avec les encadrants ou avec les partenaires. Dans cette section, il ne s'agit pas de proposer l'entièreté de ces supports, mais d'en dégager les résultats principaux.



Les prélèvements sont répartis spatialement de manière quasiment équivalente entre les années (Figure 3). Sinon, le mélange de ces échantillons pour les analyses induit des biais.

Fiabilité des marqueurs microsatellites
Après les examens de fiabilité des marqueurs génétiques, deux d'entre eux sont supprimés pour fréquence d'allèles nuls élevée. L'étude porte alors sur 10 microsatellites.



1. Structuration génétique

Après avoir trié les données génétiques pour conserver uniquement ce qui pourra être exploitable pour la suite, il y a finalement 1313 individus *Lepus timidus*. La zone d'étude est appréciablement

⁸ Le rapport scientifique n'est pas terminé à ce jour du rendu du rapport académique, des analyses sont toujours en cours. Il pourra être transmis ultérieurement.

recouverte par ceux-ci, ce qui constitue un bon point de départ pour les analyses. Les proportions d'individus femelles et mâles sont plutôt équilibrées sur l'ensemble de la zone (Figure 4).

Hypothèses

C'est à partir des suppositions faites en amont (Analyses de structuration génétique) sur les barrières potentielles aux flux de gènes (Figure 5), que sont déterminées les unités génétiques hypothétiques. Alors, 10 clusters génétiques hypothétiques apparaissent (Figure 6).

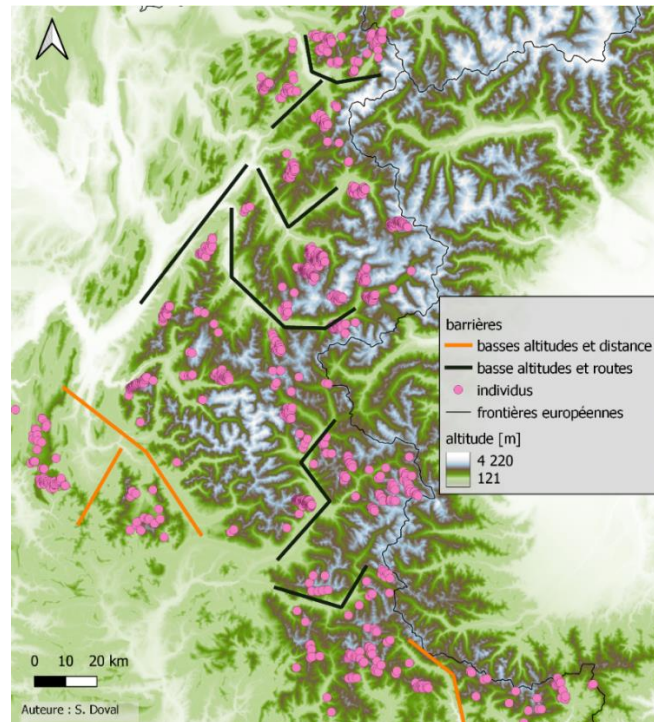


Figure 5 : barrières hypothétiques aux flux de gènes chez le lièvre variable

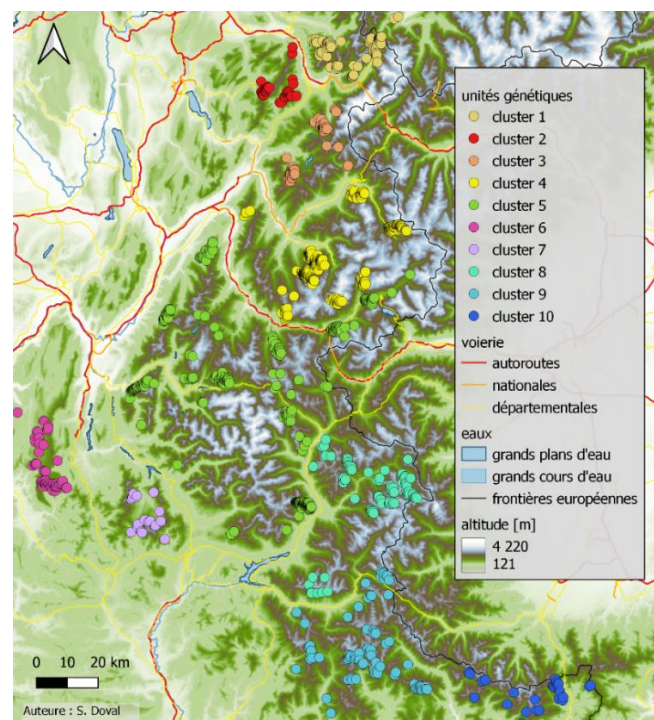
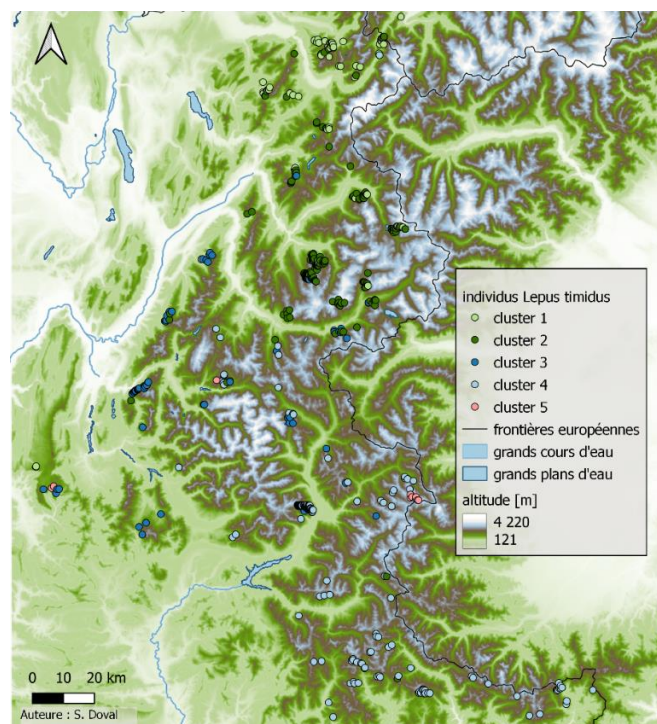
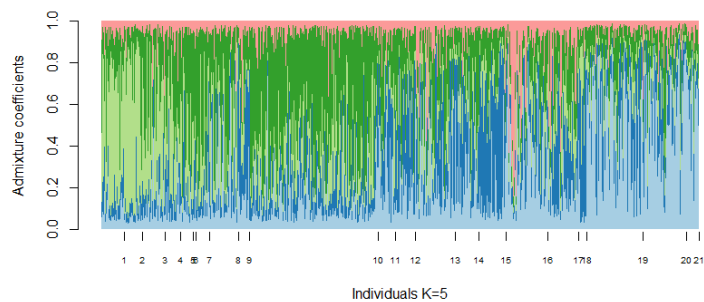


Figure 6 : Unités génétiques hypothétiques pour le lièvre variable

STRUCTURE

Les estimateurs LnPd et delta K s'accordent sur une valeur de $K=2$. Alors que l'estimateur parsimony indique $K=5$ comme la valeur la plus vraisemblable pour le nombre de populations présente sur le terrain d'étude. Parsimony est un estimateur plus récent et semble être plus fiable que les deux autres, particulièrement quand les structurations sont faibles (Wang, 2019), donc le nombre de populations sur le territoire serait de cinq. Ce désaccord entre les estimateurs peut être dû à un manque de capacité de LnPD et delta K à détecter de faibles structurations, et au fait qu'ils ont tendance à détecter les niveaux supérieurs de structuration génétique (c'est-à-dire à ne pas détecter les sous-structurations existant au sein des unités génétiques principales). En effet, tous deux indiquent $K=2$ comme meilleure estimation, ce qui pourrait correspondre au degré supérieur de la hiérarchie (annexe 2-3). Le territoire serait alors découpé en deux grandes populations, parmi lesquelles il existerait une hiérarchie inférieure suggérée par l'estimateur parsimony.

L'attention se porte alors sur le résultat STRUCTURE2.3.4 correspondant à la valeur $K=5$ (Figure 7)⁹. Certaines populations sont nettement distinguables, notamment lorsque des regroupements d'individus fortement assignés apparaissent (admixture coefficient $> 0,6$) à la même population.



⁹ Les graduations en abscisse correspondent à 21 populations décrétées a priori (utilisées pour des analyses non retenues) correspondant approximativement à un gradient nord-sud, n'intervenant pas des les analyses mais servant uniquement de guide visuel (annexe 4)

La représentation spatiale résultante des analyses STRUCTURE2.3.4 est recevable d'un point de vue écologique, avec des délimitations entre populations plutôt attendues (Figure 8). En effet, les délimitations de ces unités génétiques semblent correspondre aux routes principales et/ou fonds de vallées de la zone d'étude. Cependant, un des clusters suggérés par les analyses, semble douteux, avec des individus présents sur trois pôles distincts séparés de plusieurs dizaines de kilomètres (cluster 5). Cette population est donc mise de côté pour la suite de l'interprétation. Alors que l'estimateur parsimony indique cinq unités génétiques sur le territoire, il n'y a finalement que quatre unités génétiques à prendre en considération selon les analyses STRUCTURE2.3.4.

DAPC

D'après adegenet2.1.6, le BIC indique que les valeurs entre 10-20 clusters sont suffisantes pour rapporter un résumé utile des données. Les assignations aux populations et DAPC sont alors appliquées pour trois nombres de clusters compris dans cet intervalle : 10, 15, 20. Pour la valeur K=10, les résultats de la DAPC semblent indiquer la présence de cinq clusters (Figure 9). Ensuite, seuls les individus fortement assignés aux populations sont affichés sur une carte de la zone d'étude (coefficient d'assignation > 0,6), catégorisés en cinq clusters selon les résultats de la DAPC. Les cinq clusters se répartissent sur la quasi-totalité du territoire (Figure 10).

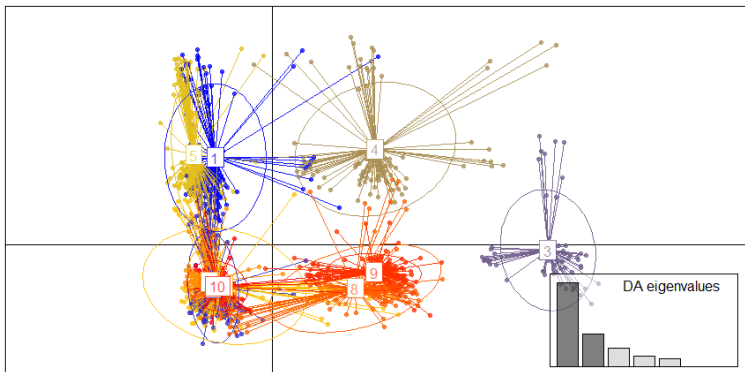


Figure 9 : DAPC pour K=10 chez le lièvre variable

L'analyse DAPC ne semble pas conclure sur une structuration spatiale particulière, un doute naît alors quant à la vraisemblabilité des résultats de la DAPC dans notre cas d'étude. Il en va de même lorsque K=15 et K=20, c'est pour cette raison que ces cas ne sont pas détaillés dans cette partie. De plus, lorsque l'analyse est lancée une nouvelle fois, les résultats de regroupement d'individus en clusters ne sont plus les mêmes, ce qui souligne un effet aléatoire fort. Dans notre cas, cette méthode ne nous permet pas de détecter une structuration génétique spatiale pour le lièvre variable dans les Alpes françaises.

MEMGENE

Selon le coefficient de détermination linéaire de Pearson ($R^2 = 0.1424$) calculé par MEMGENE, un peu plus de 14% de la variation génétique entre les individus peut être expliquée par leur configuration spatiale. Autrement dit, 86% de la variation génétique est expliquée par d'autres facteurs.

Ensuite, le programme memgene1.0.2 produit plusieurs variables MEMGENE qui sont affichées de façon décroissante selon la participation à l'explication de la variation génétique par la configuration spatiale. En général, seules les quelques premières variables expliquent la plupart de la relation (Figure 11), ici les trois premières variables sont étudiées.

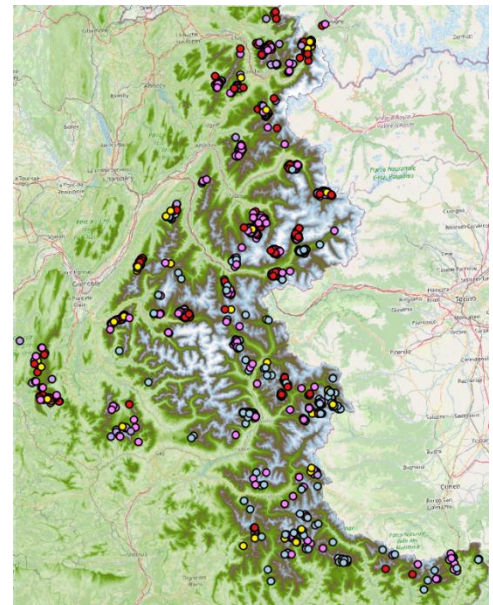


Figure 10 : Répartition spatiale des individus fortement assignés (coefficient d'assignation ≥ 0.6) selon la DAPC pour K=10 (auteur : S.Doval)

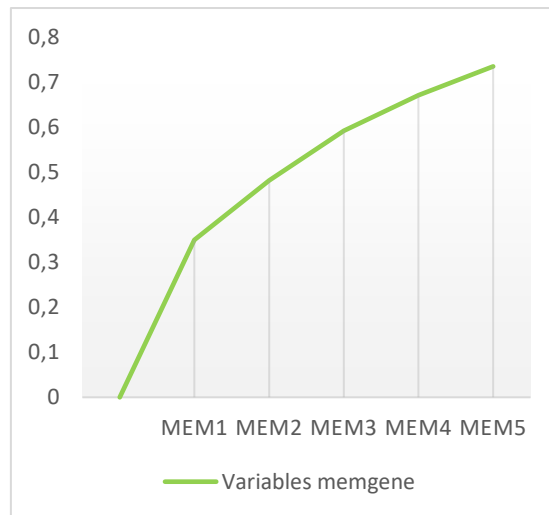


Figure 11 : Participation cumulée croissante à l'explication de la variation génétique par la configuration spatiale par les variables memgene (auteure : S.Doval)

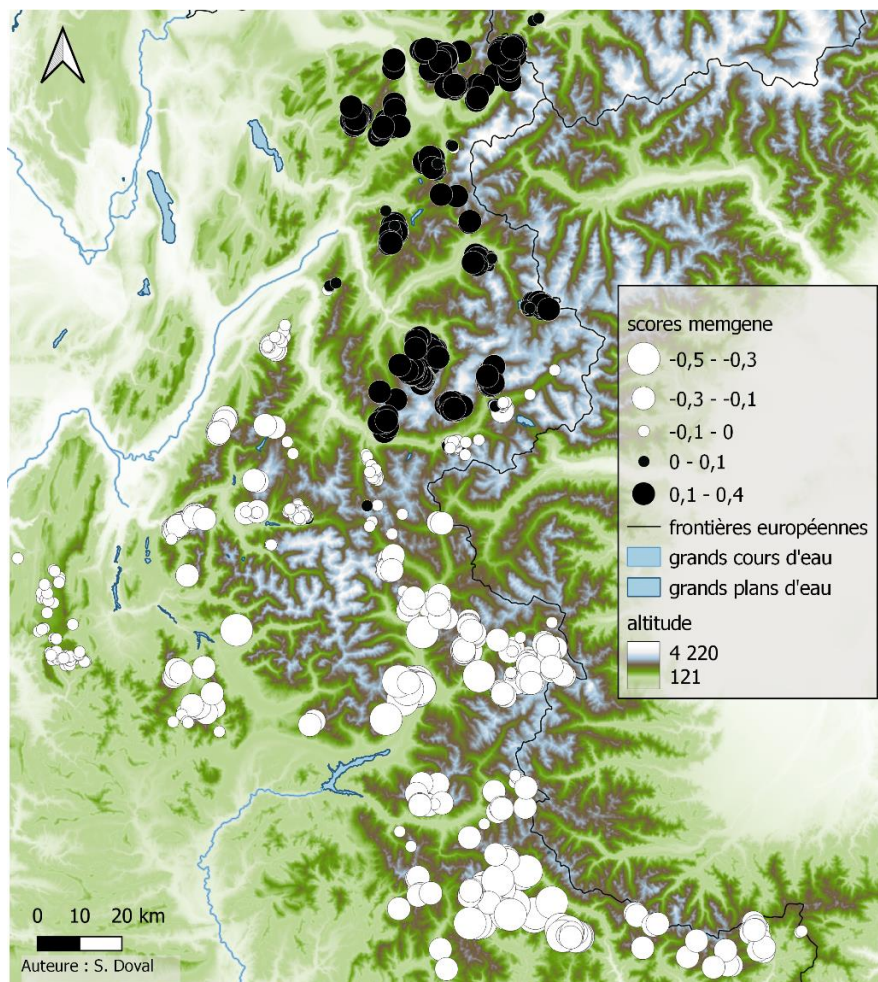


Figure 12 : Variable MEMGENE1

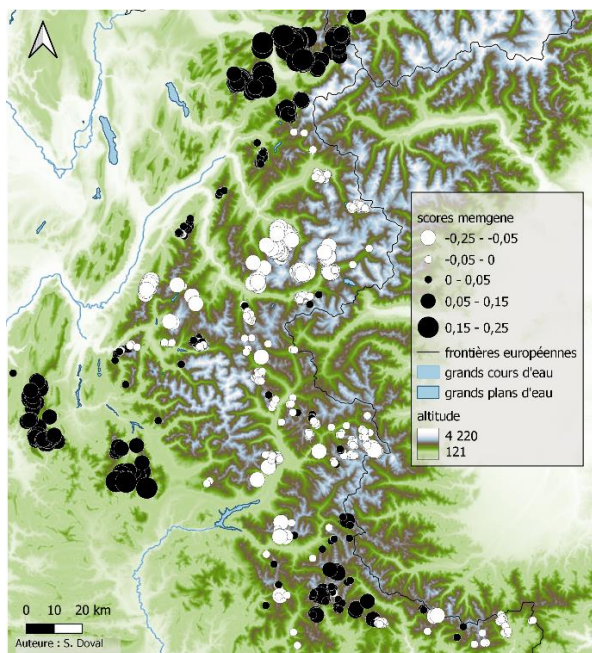


Figure 13 : Variable MEMGENE 2

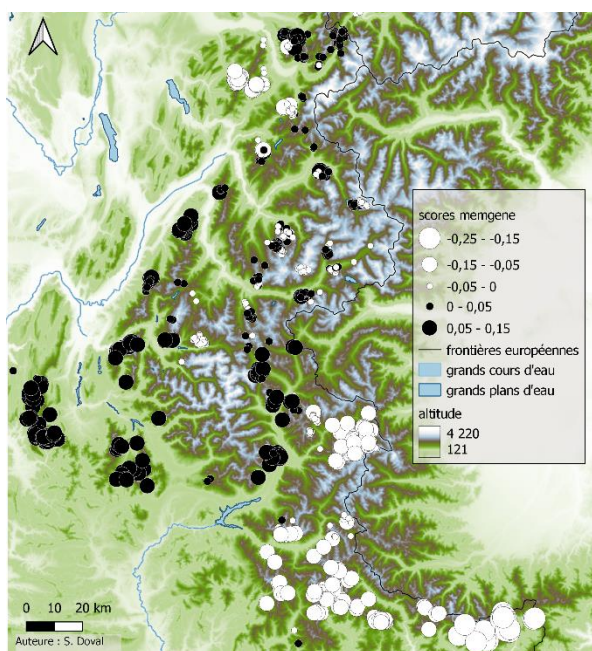


Figure 14 : Variable MEMGENE 3

Les cercles de mêmes tailles et de même couleur sont très proches, et inversement, suivant le gradient présenté dans la légende.

En ce qui concerne les résultats produits par memgene1.0.2, l'explication de la relation entre la variation génétique et la configuration spatiale est particulièrement portée par la variable MEMEGENE1 (Figure 12), à la hauteur de 35%. Néanmoins, les variables suivantes peuvent donner des indications sur des structurations plus faibles et/ou sur les niveaux inférieurs de la hiérarchie des unités génétiques. A titre d'exemple, la variable MEMGENE2 (Figure 13) révèle une intéressante distinction entre deux sous-populations au sein du PN du Mercantour, au sud-est de la zone d'étude (Figure 1). La scission paraît concorder avec le fond de vallée et/ou les routes qui lui sont associées. De plus, la variable MEMGENE 3 (Figure 14) suggère une plus subtile distinction des individus localisés à la pointe sud-est du Mercantour. Cette configuration génétique a déjà été notifiée par le passé lors d'un projet sur la même espèce dans le PN du Mercantour. Pour ces raisons, les résultats produits dans cette analyse à une échelle plus grande s'avèrent satisfaisants.

Conclusion sur la structuration génétique

Les résultats issus de STRUCTURE et de memgene1.0.2 s'accordent sur l'existence d'une structuration génétique chez le lièvre variable au sein des Alpes françaises. En synthétisant les informations, un niveau supérieur de structuration est suggéré par une séparation des individus en deux unités génétiques (Figure 15). Elles se scindent au niveau du fond de vallée au sud du PN de la Vanoise, créant ainsi une division nord-sud

du terrain d'étude. Toutefois, des unités génétiques plus subtiles émergent au fil des analyses de structuration, sectionnant le territoire en sept sous-unités qui correspondrait à un niveau inférieur de structuration génétique spatiale (Figure 16). La structuration de niveau inférieur détectée s'accorde fortement aux clusters hypothétiques initiaux (Figure 6). Cependant, au nord de la zone, les résultats proposent moins d'unités génétiques que nos hypothèses (clusters 1 à 4 de Figure 6 et clusters 1-2 de Figure 16). Alors, les fonds de vallées, les routes, et les grandes distances expliquent une part de la structuration génétique actuelle du lièvre variable dans les Alpes françaises, mais ne suffisent pas à en expliquer la totalité. Pour cette raison, des analyses de résistance du paysage sont nécessaires pour compléter les explications.

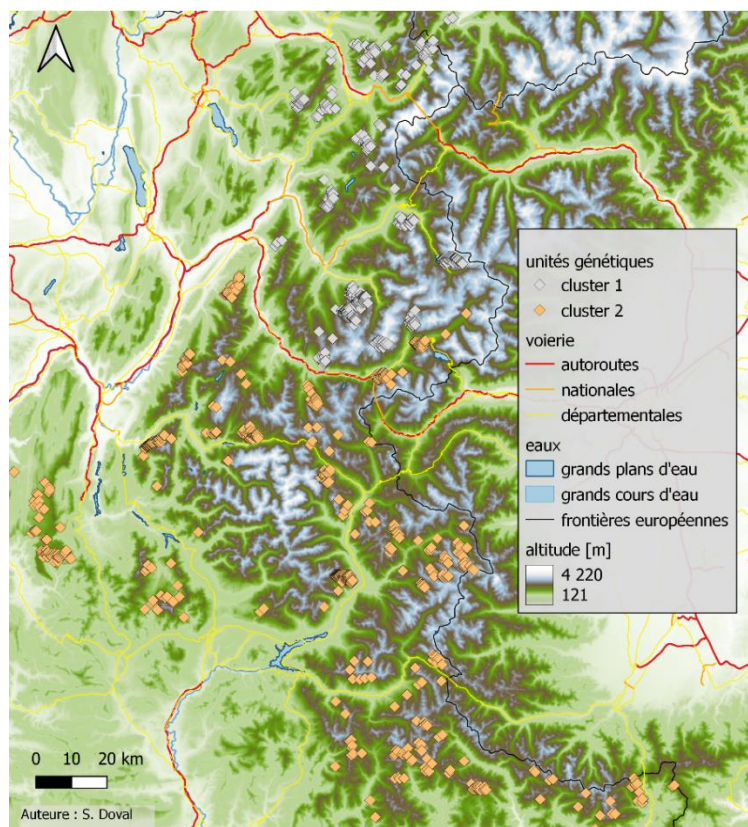


Figure 15 : Conclusion sur structuration génétique de niveau supérieur, deux grandes unités génétiques

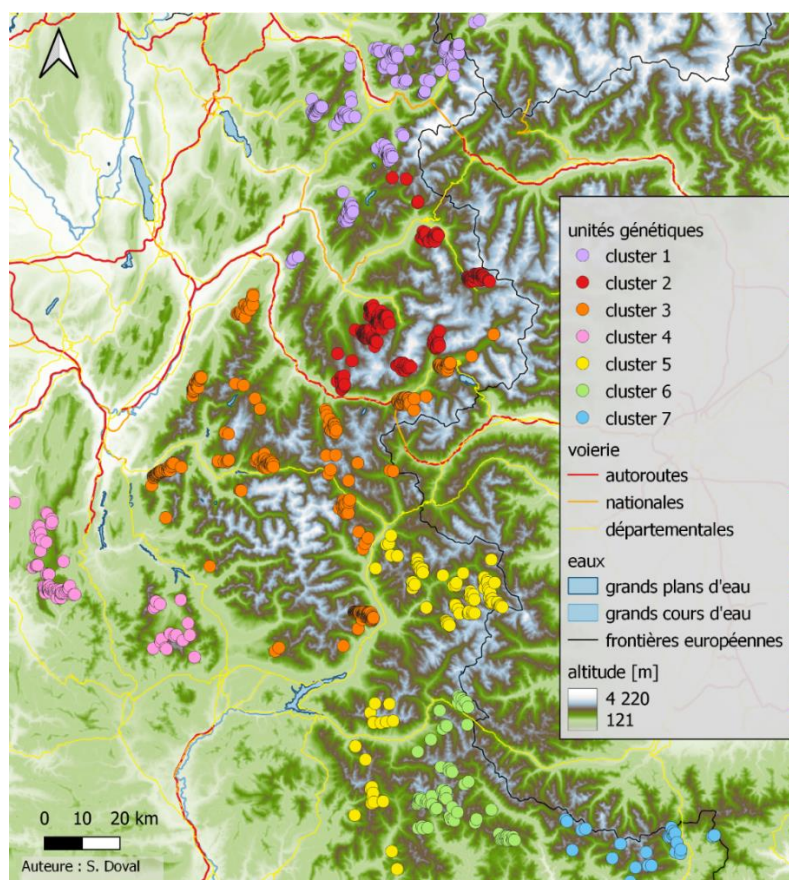


Figure 16 : Conclusion sur structuration génétique de niveau inférieur, sept sous-unités génétiques

Diversité génétique

La richesse allélique est comparable entre tous les clusters, sauf pour le cluster 7 qui présente une richesse allélique plus basse qui peut être due au fait que ces individus se trouvent en bout de chaîne alpine. Il n'y a pas particulièrement d'allèles privés, et les hétérozygoties sont moyennes. Il n'y a pas non plus d'effet de la latitude sur ces indices de diversités génétiques. Alors ces populations de lièvres n'impliquent pas de problèmes de consanguinité particuliers (Tableau 1).

Tableau 1 : Indices de diversité génétique

CLUSTERS	N	AR	AP	HO	HE	FIS
1	202	4,060	0,170	0,436	0,464	0,059
2	380	3,990	0,060	0,436	0,437	0,001
3	429	4,120	0,090	0,424	0,438	0,031
4	85	3,730	0,280	0,363	0,381	0,048
5	114	4,280	0,440	0,438	0,449	0,021
6	76	3,720	0,080	0,379	0,416	0,084
7	27	3,360	0,020	0,431	0,452	0,038

Isolation par la distance

La relation est nettement linéaire entre la distance euclidienne et la distance génétique (F_{st}) entre les paires d'unités génétiques (Figure 17 : Distance génétique en fonction de la distance euclidienne entre unités génétiques (auteure : S.Doval)). Il y a donc bien un effet d'isolement par la distance qui explique une partie de la différenciation génétique entre les clusters.

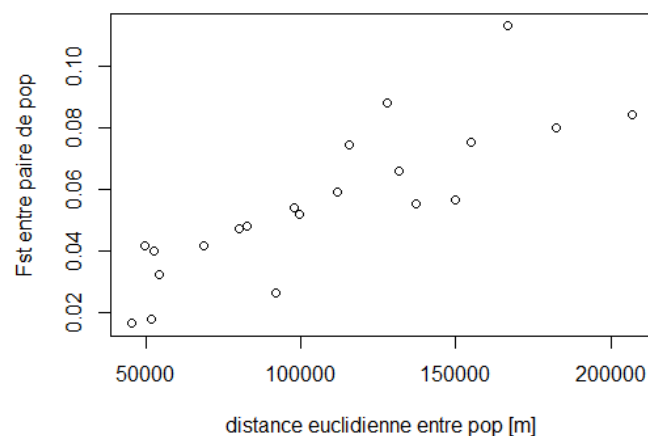


Figure 17 : Distance génétique en fonction de la distance euclidienne entre unités génétiques (auteure : S.Doval)

2. Effet des éléments paysagers sur les flux de gènes

Tests de corrélation entre les variables environnementales

Parmi les variables environnementales sélectionnées, seules celles qui ne sont fortement corrélées à aucune autre sont conservées (annexe 5). En ce qui concerne les variables qualitatives, les classes de sols et les expositions sont fortement corrélées. L'exposition est alors retirée de la liste des variables environnementales pour la suite de l'étude. Pour les variables quantitatives, l'altitude et la pente semblent proches, le coefficient de corrélation de Spearman est de 0.63. Cependant lorsque toutes les

variables environnementales sont conservées (sans l'exposition), la pente et l'altitude sont plutôt distinctes. Alors les variables environnementales conservées pour l'analyse de résistance sont : l'altitude, la pente, les données strava, les classes d'occupation du sol.

Isolation par résistance

Les résultats d'optimisation des surfaces de résistances ne sont pas encore existants à ce jour.

VI. Retour réflexif sur l'expérience

Je tenais à commencer en soulignant la satisfaction que m'a procuré l'obtention d'un stage comme celui-ci, c'est une première dans mon parcours scolaire.

1. Compétences

Imprégnation du sujet

Dès les premiers jours, mes compétences en absorptions de connaissances ont été mises à rude épreuve. J'ai dû lire de nombreux ouvrages pour me mettre à niveau sur le sujet, et plus largement sur la génétique des populations et du paysage. Je n'irai pas jusqu'à dire que je suis experte dans le domaine, mais il est certain qu'entre le début du stage et la fin de celui-ci, une grande différence existe. C'était d'ailleurs très stimulant de découvrir autant de choses en si peu de temps. De plus, la plupart de ces lectures étaient disponibles uniquement en anglais, ce qui a fortement augmenté mes compétences de compréhension écrite dans cette langue. C'est un aspect non-négligeable puisque l'anglais est une langue universelle et très utile dans de nombreux cas, et surtout dans le domaine de la recherche scientifique où la plupart des documents sont rédigés dans cette langue pour transmettre les connaissances au plus grand nombre. Cet apprentissage « express » s'est fait sous une certaine pression. En effet, si je ne développais pas rapidement les compétences requises pour assurer ce sujet, je pense que je n'aurai pas pu poursuivre ce stage pendant six mois. Quelque part c'est grâce à cette pression que j'ai été stimulée et que j'ai pu accomplir cette tâche, dans la mesure de mon possible bien entendu. D'après moi, j'ai eu beaucoup de chance que mes tuteurs m'aient laissés faire mes preuves et m'aient fait confiance pour assurer ce stage malgré ce désagrément.

Utilisation d'outils informatiques

J'ai également appris à utiliser des outils de recherches bibliographiques grâce aux accès privilégiés à différentes bases de données par les identifiants informatiques du CNRS. Les bases de données bibliographiques en ligne comme Web of Science ou SpringerLink m'ont été très utiles. Avant cela, mes compétences en recherches d'articles scientifiques étaient plutôt mauvaises, j'utilisais essentiellement google ou google scholar, qui peuvent parfois mener à des articles scientifiques intéressants mais bien moins efficaces que ceux précédemment cités.

Les travaux menés m'ont permis d'améliorer mes compétences en QGIS3.22.1. Bien que certains modules de ma formation scolaire proposassent des cours sur cet outil, ce n'est en réalité qu'au cours du stage que je m'y suis vraiment intéressée. J'ai d'ailleurs remarqué une grande différence entre l'apprentissage de l'utilisation d'un outil informatique avec et sans motivation pour le sujet. Puisque le sujet de mon stage me plaît particulièrement, les tâches me paraissent plus attirantes et moins pénibles à réaliser.

Pour l'utilisation de l'outil Excel, c'était assez similaire. C'est en ayant besoin de faire des manipulations particulières lors de la gestion de la base de données que finalement je suis contrainte d'apprendre des fonctionnalités auxquelles je ne me suis jusque-là jamais intéressée.

J'ai aussi développé un intérêt particulier, et fait évoluer mes capacités en programmation en langage R4.1.2. Le logiciel Rstudio et le langage de programmation qui lui est associé ont été quelque peu enseignés au cours de mon parcours scolaire. Mais comme pour le logiciel QGIS3.22.1, c'est lors de leur utilisation à propos d'un sujet que je trouve attrayant que l'envie de développer mon aptitude à les utiliser naît. Les débuts de cet intérêt pour la programmation sont apparus lors du Projet de Fin d'Etudes (PFE), qui portait sur un sujet qui m'intéressait particulièrement et qui à nécessité leurs utilisations. Le fait d'avoir travaillé sur ce logiciel de programmation m'a finalement apporté une logique de programmation qui est également applicable sur tous les autres langages.

Organisation

A propos de l'organisation du travail, j'ai tenu un carnet de bord journalier. Cette idée m'est venue dès le premier jour, et m'a suivie jusqu'au dernier. Il permettait de noter les étapes et informations importantes de la journée, mais aussi à inscrire les notes de réunions ou bien des listes de tâches à accomplir pour les jours suivants. Ce carnet permet de tenir le fil de la mission et d'agir comme un témoin du travail passé. Ceci facilite aussi la rédaction du rapport scientifique et de ce rapport académique, puisque recense la quasi-totalité des informations relatives au stage, et ce dans un ordre chronologique.

La formation d'ingénieur que j'ai suivie prépare essentiellement à travailler et fonctionner en équipe. Cependant, lors de ce stage je ne faisais pas partie d'une équipe, je travaillais seule sur le projet, je n'avais pas de collègues avec qui partager les tâches ou les questionnements. De plus, Aurélie Coulon est une chercheuse très occupée, car plusieurs projets et étudiants à gérer en même temps. Mais, toujours prête à prodiguer des conseils ou répondre à mes interrogations, que ce soit à propos du sujet de stage ou en dehors de ce cadre. Cette situation n'était pas évidente au départ, je ne possédais que très peu de connaissances sur la génétique du paysage, il était alors difficile d'avancer ou de prendre des décisions seule. Finalement, cette expérience a renforcé mon autonomie professionnelle.

Communication

Dans l'objectif de produire des livrables compréhensibles par tous les acteurs du projet, mes compétences en communication ont été mises à l'épreuve. Des livrables tels que des oraux, supports de présentations, rapports et cartes m'ont été demandés pour permettre aux acteurs de suivre l'évolution et d'obtenir les résultats de l'étude. Pour que ces différents livrables soient accessibles, il est nécessaire de les rendre pédagogiques. C'était un exercice très enrichissant.

2. Conditions de travail

Aurélie Coulon m'a fait totalement confiance sur la gestion des horaires et la réalisation des tâches. Je pouvais aménager mes horaires comme bon me semblait tant que le travail était réalisé, tout en respectant le nombre de 35h par semaine. Ce mode de fonctionnement me convenait parfaitement puisqu'il offre une certaine liberté en permettant de s'organiser de la façon qui nous convient le mieux. D'après moi, prendre des pauses lorsque son corps ou son esprit le réclame, plutôt que de respecter des horaires classiques, permet d'être plus productif au moment où l'on décide de se consacrer à une tâche. Je suis consciente d'avoir eu beaucoup de chance de travailler dans ces conditions, et que ce n'est pas systématiquement le cas dans d'autres organismes.

Cependant, quelques désagréments liés aux conditions de travail sont à souligner. Premièrement, j'ai fait face à une mauvaise connexion wifi. Cela débute par le fait qu'au départ j'ai voulu conserver mon ordinateur personnel pour pouvoir éventuellement travailler à distance de temps à autre. Au départ une connexion visiteur m'était accordée, puis la politique de l'établissement a changé. J'ai alors passé une grande partie de mon stage à utiliser la 4g de mon abonnement téléphonique personnel, en

partage de connexion. Un jour j'ai dû télécharger une couche raster de l'europe (très lourd) et ça utilisé tout mon forfait en 1h. Cette situation me paraît très inconfortable. J'ai finalement pu profiter d'une connexion wifi décente pour les 6 dernières semaines de mon stage, en ayant demandé un prêt d'adaptateur au service informatique. Je pense que cette situation est provoquée par plusieurs facteurs qui ne vont pas être soulevés dans ce rapport. Ma part de responsabilité est bien réelle, si c'était à refaire, je ferais une demande beaucoup plus tôt au lieu de continuer avec mes propres moyens.

Deuxièmement, un autre désagrément est à soulever concernant les fortes chaleurs ressenties dans les bureaux, surtout ceux qui, comme moi, orientés sud. Lors des périodes de canicules certaines salles collectives climatisées ont été mise à disposition. Mais, travailler avec d'autres gens et supporter les allers et venues de chacun ne constituent pas des conditions de travail optimal non plus. Pour faire face à ces fortes températures j'ai décidé de faire quelques semaines de télétravail, puisqu'à mon domicile les ressentis de températures étaient moins importants. C'est un problème plus compliqué à résoudre, personne ne peut agir sur la météo !

3. Expériences transversales

Cette expérience m'a aussi permis de participer à plusieurs événements externes au stage et au Parc National du Mercantour. J'ai assisté à certaines présentations en lignes ou en présentiel sur divers sujets, des travaux effectués par d'autres étudiants ou chercheurs, proposées par le réseau du CEFE. C'était très intéressant de se pencher sur les travaux des autres et de sortir de son propre sujet, ça permet d'acquérir de nouvelles connaissances, et potentiellement d'autres façons de percevoir son propre travail.

De plus, j'ai pu participer à une matinée de terrain sur le radiopistage des lièvres dans les Pyrénées-Orientales grâce Jérôme Letty et Mélanie Delarue de l'OFB de Juvignac. C'était plaisant de sortir de son quotidien au bureau, et cela donne une idée de la partie terrain qui a été réalisée pour récupérer les données génétiques du lièvre variable sur lesquelles se base mon travail.

Pour finir, j'ai eu l'occasion de participer, à la 6th World Lagomorph Conference (WLC6) autrement dit, la 6^{ème} conférence mondiale sur les lagomorphes, qui se déroulait à Montpellier. C'est une fois de plus Jérôme Letty membre de l'OFB qui m'a invitée à intégrer le comité d'organisation. Au sein de l'équipe d'organisation, j'ai pu rencontrer de nombreuses personnes très intéressantes, et pu assister à certaines conférences. Ceci m'a aussi fait connaître les coulisses et le déroulement de conférences scientifiques, ce que je n'avais jamais vu auparavant.

Toutes ces expériences transversales associées à mon expérience de stage m'ont ouvert à plusieurs aspects de la recherches scientifiques, plus que ce que j'espérais.

4. Pistes d'amélioration

Comme exprimé à plusieurs reprises, une des problématiques principales de ce stage est le quiproquo provenant de ma candidature suivie par l'entretien de recrutement. Je pense avoir eu beaucoup de chance que le stage se déroule bien malgré mon erreur de jugement. Pour mes prochaines candidatures, je prendrai davantage de temps pour me renseigner sur le sujet, en échangeant au préalable avec le dépositaire d'offre et en cherchant de la bibliographie traitant de sujets similaires.

Une autre piste d'amélioration à appliquer dès le départ d'une prochaine expérience, serait sur la manière de gérer les fichiers R et Qgis QGIS3.22.1. J'ai eu tendance à ne créer qu'un seul projet dans lequel j'ai effectué toutes mes tâches, ce qui amène vers une désorganisation certaine. Sans mon carnet de bord je me serai perdue à plusieurs reprises. Je sais maintenant que l'idéal serait de créer un

script par tâche, j'ai alors commencé à m'organiser de la sorte à partir du quatrième mois de stage. Pour mes expériences futures, je prendrai ces précautions dès le début.

Dans un registre similaire, le nommage de mes fichiers m'a causé beaucoup de tort. Mon carnet de bord m'a une nouvelle fois sauvée à plusieurs reprises, mais pas toujours. Il est très compliqué de revenir après plusieurs semaines, mois, sur un dossier avec des noms de fichiers à rallonge et mal conçus. De plus, ces noms de fichiers mal pensés ne m'impacte pas seulement, mais complique également leur utilisation potentielle par d'autres personnes dans le futur. C'est un aspect qui peut sembler, aux premiers abords, basique et insignifiant mais qui finalement est indispensable et impacte fortement la qualité de réalisation d'un projet.

Une autre erreur à ne pas reproduire dans le futur concerne le fait de travailler avec un mauvais matériel sans se donner les moyens d'en changer. Je pense que la prochaine fois, il faudrait que je m'assure d'avoir un bon matériel dès le début de la mission. Et si ce n'est plus le cas, ou que les circonstances n'évoluent pas rapidement, je mette tout en œuvre pour que ça se produise, évitant alors de laisser stagner la situation et de se retrouver dans un contexte désagréable.

Enfin, tout ce qui n'est pas cité dans les paragraphes ci-dessus mérite aussi d'être perfectionné. Je n'ai évoqué ci-dessus que ce qui mérite de rapides et importantes améliorations. Je considère que tant que je ne suis pas experte dans toutes les autres tâches, des améliorations sont possibles et nécessaires.

Ces pistes d'amélioration reflètent la nature d'un stage, qui selon moi permet d'apprendre en conditions réelles tout en reconnaissant ses erreurs et progressant sur ces aspects dans le futur.

VII. Précision du projet professionnel

Cette expérience m'a considérablement rapprochée de mon projet professionnel, qui est de travailler en écologie de la conservation. En effet, la mention de ce stage dans mon curriculum vitae est une vraie plus-value, puisque qu'elle m'a permis de mettre un pied dans le monde recherche scientifique. Après avoir fait un parcours d'école d'ingénieurs en aménagement du territoire et environnement, le poids de ce stage est considérable pour mes vœux d'expériences futurs.

Mis à part cet aspect de valeur potentielle aux yeux de prochains recruteurs, ces six mois au sein du CEFÉ ont été extrêmement enrichissants. C'est en fait, la première fois de ma vie professionnelle que je travaille sur un sujet qui me plaît et surtout dans un domaine qui m'attire. Toutes les étapes de ce stage m'ont été bénéfiques, même les tâches qui sur le moment me paraissait lourdes, voire inintéressantes, j'ai finalement toujours appris quelque chose. Ces tâches m'ont fait murir professionnellement mais aussi personnellement.

Mon projet s'est également précisé tout au long du stage par la réalisation de la mission qui me donnait un aperçu concret du travail de chercheur, mais aussi par la rencontre de chercheurs et de doctorants qui content leur parcours, leurs expériences et prodiguent des conseils si besoin. Mon idée était de faire une thèse dès la fin de mon diplôme d'ingénieurs, cependant je n'avais presque pas de notions à ce sujet. J'ai donc tenté de me renseigner autour de moi et de collecter des avis et conseils de mes collègues. Ces dialogues étaient très enrichissants et m'ont beaucoup aidé à prendre des décisions pour mon futur. Aurélie Coulon a participé très activement à ma recherche de thèse pour 2022, en m'expliquant les démarches, les méthodes et en me communiquant certaines offres. J'ai beaucoup appris quant au processus de demande de thèse et aux codes qui y sont associés. J'ai finalement pris la décision de reporter mes candidatures à 2023, car m'étant penchée dessus plutôt tard et je ne voulais pas prendre de décision précipitamment. Ceci me laissera le temps de préparer correctement mes dossiers de candidatures et de me renseigner précisément sur les offres de sujets. Je suis très

reconnaissante de toute l'aide que les membres de l'équipe MAD m'ont apporté, et je garde leurs conseils en mémoire pour la suite de mon parcours.

C'est en réfléchissant à ces demandes de thèses que le besoin de faire une année sans études m'a été apparue. Le but est de prendre du temps pour réfléchir à mes objectifs de vie et de carrière, de prendre du recul sur ce que j'ai accompli jusque-là et ce qu'il me reste à accomplir. Ce temps me servira également à voyager, visiter mes proches, choses compliquées depuis plusieurs années dû à la crise sanitaire. Mais aussi et surtout, de développer d'autres compétences et de vivre des expériences inédites en faisant un volontariat ou un service civique à l'étranger. Ce projet restera lié au domaine de l'écologie de la conservation pour espérer faire progresser mes compétences et connaissances, et potentiellement prétendre à une offre de thèse en 2023.

Finalement, cette mission a mené au développement de diverses compétences, à de riches rencontres et à la précision de mon plan de carrière.

VIII. Bibliographie

- Adhikari, S., Revolinski, S. R., Eigenbrode, S. D., & Burke, I. C. (2021). Genetic diversity and population structure of a global invader Mayweed chamomile (*Anthemis cotula*) : Management implications. *AoB PLANTS*, 13(4), plab049. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plab049>
- Åkesson, M., Flagstad, Ø., Aspi, J., Kojola, I., Liberg, O., Wabakken, P., & Sand, H. (2022). Genetic signature of immigrants and their effect on genetic diversity in the recently established Scandinavian wolf population. *Conservation Genetics*, 23(2), 359-373. <https://doi.org/10.1007/s10592-021-01423-5>
- Allendorf, F. W., Luikart, G., Aitken, S. N., & Antunes, A. (2013). *Conservation and the genetics of populations* (2nd ed). John Wiley & Sons.
- Balkenhol, N. (Éd.). (2016). *Landscape genetics : Concepts, methods, applications*. Wiley Blackwell.
- Beugin, M.-P., Letty, J., Kaerle, C., Guitton, J.-S., Muselet, L., Queney, G., & Pontier, D. (2017). A single multiplex of twelve microsatellite markers for the simultaneous study of the brown hare (*Lepus europaeus*) and the mountain hare (*Lepus timidus*). *Ecology and Evolution*, 7(11), 3931-3939. <https://doi.org/10.1002/ece3.2943>
- Darinot, F., Le Petitcorps, Q., Arnal, V., Coulon, A., & Montgelard, C. (2021). Effects of landscape features and flooding on the genetic structure of a small wetland rodent, the harvest mouse (*Micromys minutus*). *Landscape Ecology*, 36(6), 1755-1771. <https://doi.org/10.1007/s10980-021-01235-5>
- Dray, S., & Dufour, A.-B. (2007). The **ade4** Package : Implementing the Duality Diagram for Ecologists. *Journal of Statistical Software*, 22(4). <https://doi.org/10.18637/jss.v022.i04>
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software structure : A simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8), 2611-2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2003). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data : Linked Loci and Correlated Allele Frequencies. *Genetics*, 164(4), 1567-1587. <https://doi.org/10.1093/genetics/164.4.1567>
- Galpern, P., & Peres-Neto, P. (s. d.). *MEMGENE package for R: Tutorials*. 14.
- Galpern, P., Peres-Neto, P. R., Polfus, J., & Manseau, M. (2014). MEMGENE : Spatial pattern detection in genetic distance data. *Methods in Ecology and Evolution*, 5(10), 1116-1120. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12240>
- Goudet, J. (2005). Hierfstat, a package for r to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular Ecology Notes*, 5(1), 184-186. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00828.x>
- Hardy, G. H. (1908). Mendelian Proportions in a Mixed Population. *Science*, 28(706), 49-50. <https://doi.org/10.1126/science.28.706.49>
- Hargrove, J. S., Kazyak, D. C., Lubinski, B. A., Rogers, K. M., Bowers, O. K., Fesenmyer, K. A., Habera, J. W., & Henegar, J. (2022). Landscape and stocking effects on population genetics of Tennessee Brook Trout. *Conservation Genetics*, 23(2), 341-357. <https://doi.org/10.1007/s10592-021-01404-8>
- Henry, J.-P., & Gouyon, P.-H. (2008). *Précis de génétique des populations : Cours, exercices et problèmes résolus*. Dunod.
- Jombart, T. (2008). adegenet : A R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11), 1403-1405. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>
- Kalinowski, S. T. (2005). hp-rare 1.0 : A computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. *Molecular Ecology Notes*, 5(1), 187-189. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00845.x>
- Kunz, F., Klinga, P., Sittenthaler, M., Schebeck, M., Stauffer, C., Grünschachner-Berger, V., Hackländer, K., & Nopp-Mayr, U. (2022). Assessment of drivers of spatial genetic variation of a ground-dwelling bird species and its implications for conservation. *Ecology and Evolution*, 12(1), e8460. <https://doi.org/10.1002/ece3.8460>
- Lecis, R., Dondina, O., Orioli, V., Biosà, D., Canu, A., Fabbri, G., Iacolina, L., Cossu, A., Bani, L., Apollonio, M., & Scandura, M. (2022). Main roads and land cover shaped the genetic structure of a Mediterranean island wild boar population. *Ecology and Evolution*, 12(4). <https://doi.org/10.1002/ece3.8804>
- Lewontin, R. C., & Kojima, K. (1960). The Evolutionary Dynamics of Complex Polymorphisms,.. *Evolution*, 14(4), 458-472. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1960.tb03113.x>
- Li, Y.-L., & Liu, J.-X. (2018). STRUCTURESELECTOR : A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Molecular Ecology Resources*, 18(1), 176-177. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12719>
- Macdonald, D. W., Salazar, R. D., Eynard, S. E., Rogers, A., Coles, R. S., & Montgomery, R. A. (2020). The Genetic Differentiation of Common Toads on UK Farmland : The Effect of Straight-Line (Euclidean) Distance

- and Isolation by Barriers in a Heterogeneous Environment. *Journal of Herpetology*, 54(1), 118-124. <https://doi.org/10.1670/19-039>
- McCluskey, E. M., Lulla, V., Peterman, W. E., Stryzowska-Hill, K. M., Denton, R. D., Fries, A. C., Langen, T. A., Johnson, G., Mockford, S. W., & Gonser, R. A. (2022). Linking genetic structure, landscape genetics, and species distribution modeling for regional conservation of a threatened freshwater turtle. *Landscape Ecology*, 37(4), 1017-1034. <https://doi.org/10.1007/s10980-022-01420-0>
- Mills, L. S. (2007). *Conservation of wildlife populations : Demography, genetics, and management*. Blackwell Pub.
- Peterman, W. E. (2018). ResistanceGA : An R package for the optimization of resistance surfaces using genetic algorithms. *Methods in Ecology and Evolution*, 9(6), 1638-1647. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12984>
- Portanier, E., Léger, F., Henry, L., Gayet, T., Queney, G., Ruetten, S., & Devillard, S. (2022). Landscape genetic connectivity in European wildcat (*Felis silvestris silvestris*) : A matter of food, shelters and demographic status of populations. *Conservation Genetics*. <https://doi.org/10.1007/s10592-022-01443-9>
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, 155(2), 945-959. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>
- Puechmaille, S. J. (2016). The program STRUCTURE does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven : Subsampling and new estimators alleviate the problem. *Molecular Ecology Resources*, 16(3), 608-627. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12512>
- Reyne, M., Dicks, K., McFarlane, C., Aubry, A., Emmerson, M., Marnell, F., Reid, N., & Helyar, S. (2022). Population genetic structure of the Natterjack toad (*Epidalea calamita*) in Ireland : Implications for conservation management. *Conservation Genetics*, 23(2), 325-339. <https://doi.org/10.1007/s10592-021-01421-7>
- Spear, S. F., Balkenhol, N., Fortin, M.-J., Mcrae, B. H., & Scribner, K. (2010). Use of resistance surfaces for landscape genetic studies : Considerations for parameterization and analysis. *Molecular Ecology*, 19(17), 3576-3591. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04657.x>
- Statham, M. J., Aylward, C. M., Barthman-Thompson, L., Kierepka, E. M., & Sacks, B. N. (2022). Landscape genetics of an endangered salt marsh endemic : Identifying population continuity and barriers to dispersal. *Conservation Genetics*. <https://doi.org/10.1007/s10592-022-01446-6>
- Wan, H. Y., Cushman, S. A., & Ganey, J. L. (2018). Habitat Fragmentation Reduces Genetic Diversity and Connectivity of the Mexican Spotted Owl : A Simulation Study Using Empirical Resistance Models. *Genes*, 9(8), 403. <https://doi.org/10.3390/genes9080403>
- Wang, J. (2017). The computer program STRUCTURE for assigning individuals to populations : Easy to use but easier to misuse. *Molecular Ecology Resources*, 17(5), 981-990. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12650>
- Wang, J. (2019). A parsimony estimator of the number of populations from a STRUCTURE-like analysis. *Molecular Ecology Resources*, 19(4), 970-981. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13000>
- Wright, S. (1931). Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, 16(2), 0097-0159.
- Wright, S. (1951). The Genetical Structure of Populations. *Annals of Eugenics*, 15(4), 323-354.

Etude des facteurs paysagers affectants le flux de gènes chez le Lièvre variable (*Lepus timidus*)

Résumé

Les Alpes françaises abritent des espèces de lièvres dont le *Lepus timidus*, encore peu étudié à ce jour. Par ce fait, l'état de conservation de cette espèce reste imprécis, et les mesures de gestions des populations tout autant. Un ensemble d'acteurs du massif alpin montent alors un projet visant à faire progresser les connaissances sur l'espèce. L'étude présentée dans ce rapport fait partie intégrante du projet, qui aspire à déterminer les unités génétiques et étudier l'impact potentiel des éléments paysagers sur cette structuration génétique. Ces résultats sont ensuite transmis aux acteurs du territoire concernés, pour accompagner la gestion de ces populations.

Mots-clés : génétique du paysage – IBR – IBD – microsatellites – *lepus timidus*

Study of landscape factors affecting gene flow in the mountain hare (*Lepus timidus*)

Abstract

French Alps host some species of hares, including *Lepus timidus*, which are very thinly studied to date. Hence, conservation status of this specie and populations management measures are very imprecise. Consequently, several stakeholders built a project to push knowledges about this specie forward. The study presented in this report form an integral part of the project, which aims to determine genetic units and study the potential impact of landscape elements on this structuration. Then, these results are transmitted to the actors of the territory concerned, to accompany the management of these populations.

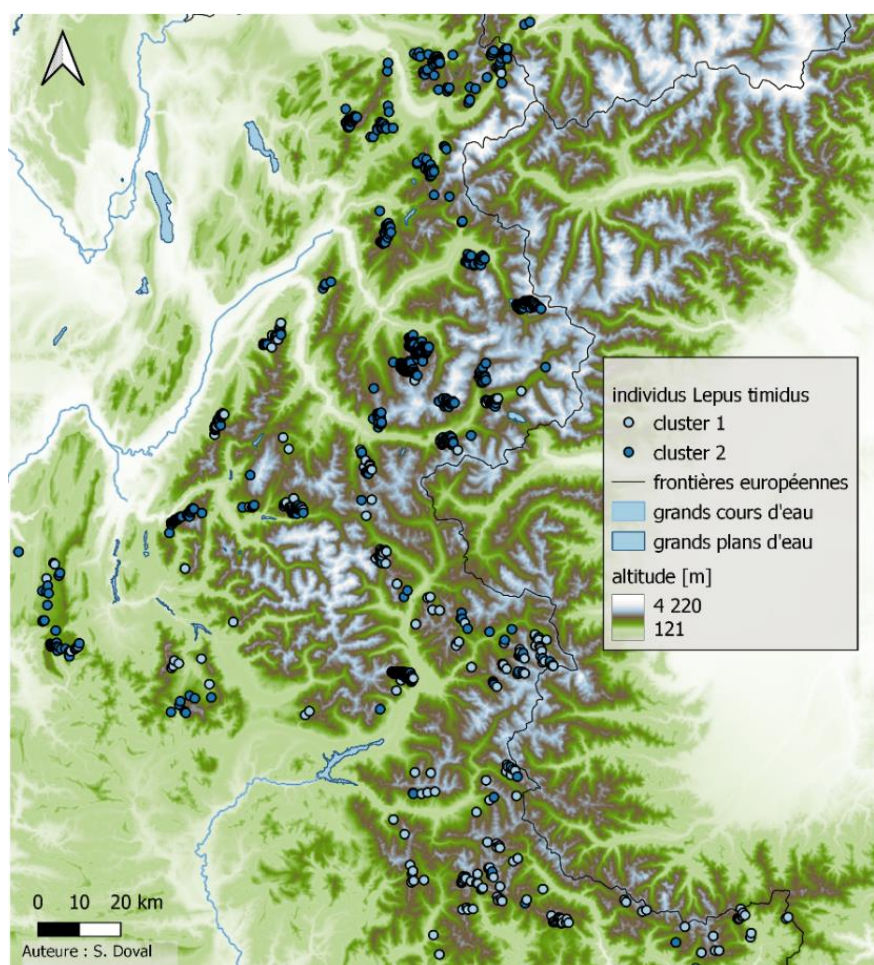
Keywords: landscape genetics – IBR – IBD – microsatellites – *lepus timidus*

Annexes

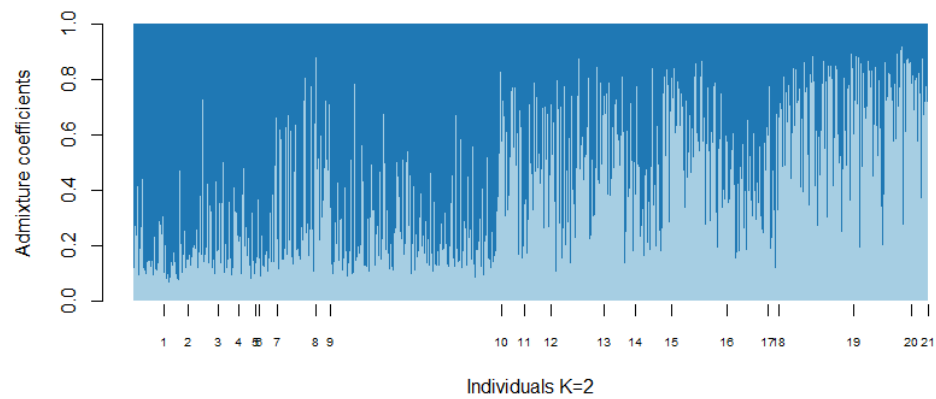
Annexe 1 : Sources et résolutions des variables environnementales sélectionnées pour l'optimisation des surfaces de résistance.

Variables environnementales	Sources		Résolutions initiales	
	France	Italie	France	Italie
Pente	A partir du MNT	A partir du MNT	25x25m	25x25m
Occupation sol	CESBIO	Copernicus	10x10m	100x100m
Altitude	Copernicus	Copernicus	25x25m	25x25m
Orientation	A partir du MNT	A partir du MNT	25x25m	25x25m
Route	OpenStreetMap	OpenStreetMap		
Fréquentation humaine	STRAVA	STRAVA	38x38m	38x38m
Grands cours d'eau (indice Stralher>6)	SANDRE	-		-

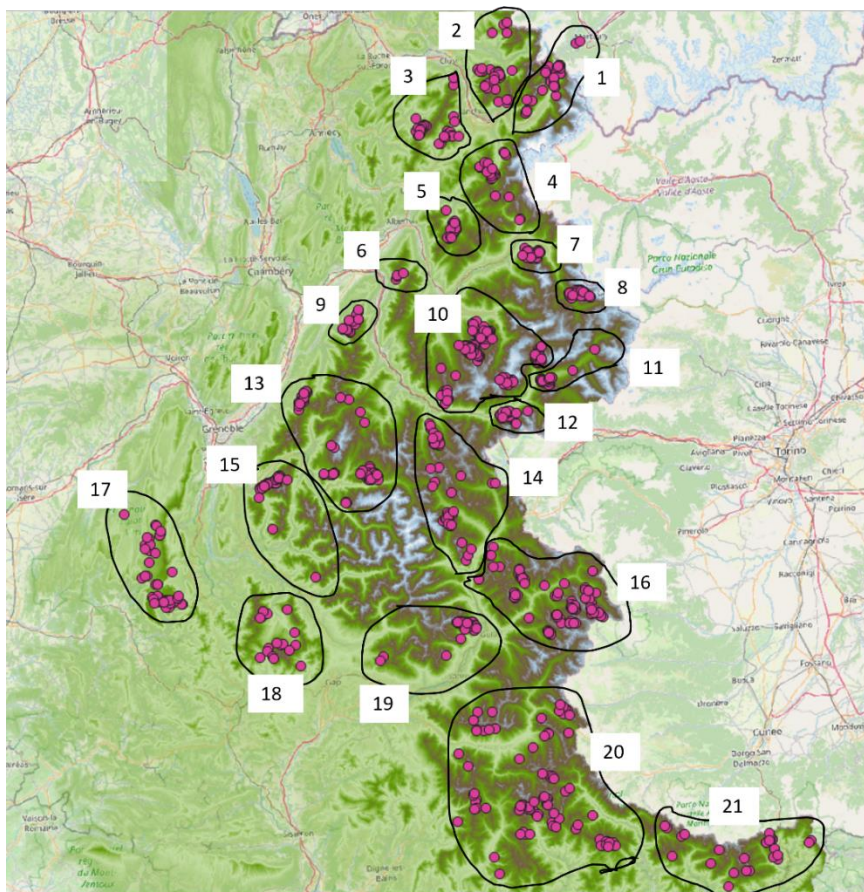
Annexe 2 : Cartographie des résultats de structuration génétique produit par STRUCTURE pour K=2, comprenant uniquement les individus fortement assignés (coefficient d'assignation ≥ 0.6)



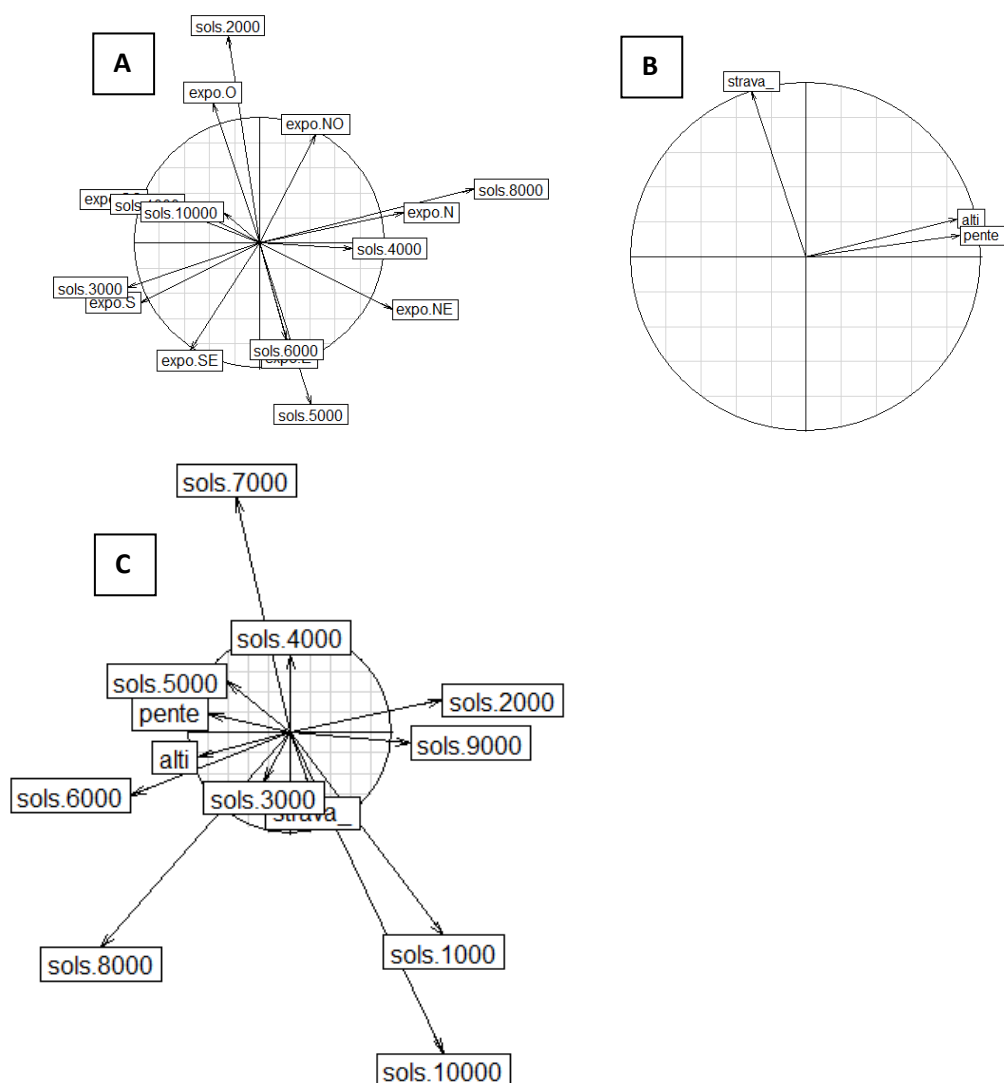
Annexe 3 : Barplot des résultats de structuration génétique produit par le logiciel STRUCTURE pour une valeur de K=2.



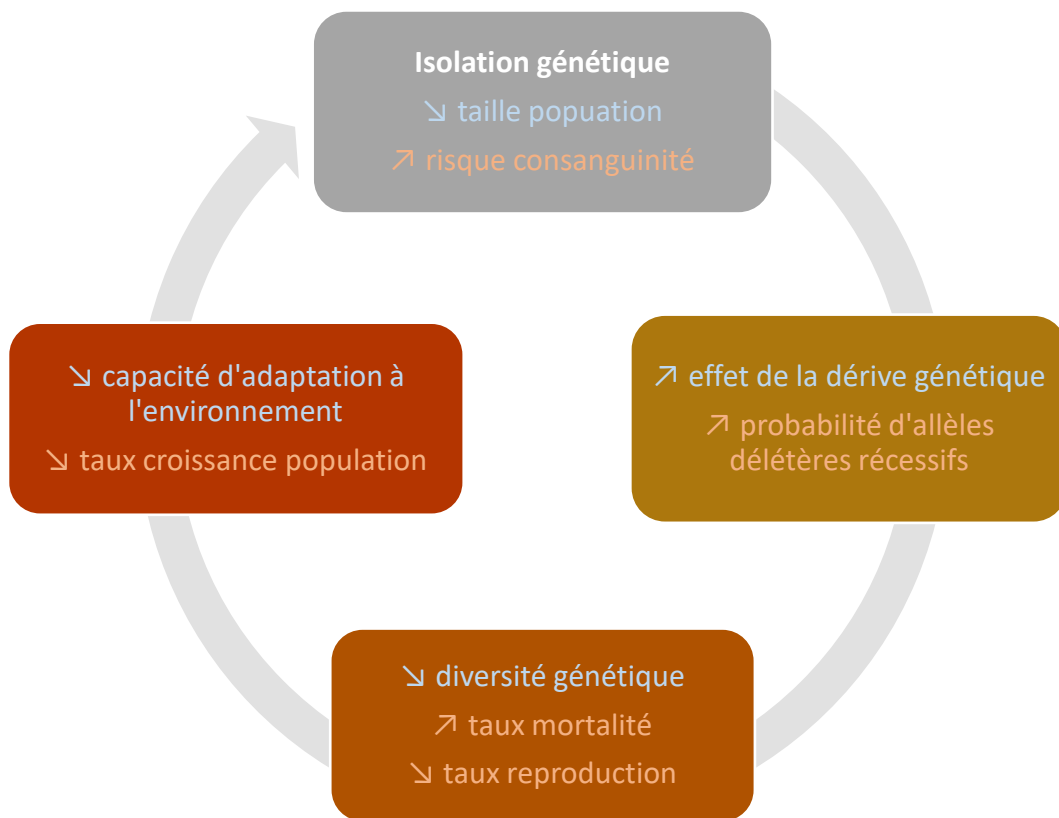
Annexe 4 : Répartition spatiale des 21 sous-populations servant à trier les individus pour les barplots de résultats STRUCTURE



Annexe 5 : ACP entre les variables environnementales choisies pour l'optimisation des surfaces de résistance (A : variables catégorielles ; B : variables continues ; C : variables catégorielles et continues retenues).



Annexe 6 : Vortex d'extinction





POLYTECH[®]
TOURS

35 ALLÉE FERDINAND DE LESSEPS
37200 TOURS



Parc national
du Mercantour

Salomé Doval

IUT - ADAGE

2021-2022

Etude des facteurs paysagers affectants les flux de gènes chez le Lièvre variable (*Lepus timidus*)

Les Alpes françaises abritent des espèces de lièvres dont le *Lepus timidus*, encore peu étudié à ce jour. Par ce fait, l'état de conservation de cette espèce reste imprécis, et les mesures de gestion des populations tout autant. Un ensemble d'acteurs du massif alpin montent alors un projet visant à faire progresser les connaissances sur l'espèce. L'étude présentée dans ce rapport fait partie intégrante du projet, qui aspire à déterminer les unités génétiques et étudier l'impact potentiel des éléments paysagers sur cette structuration génétique. Ces résultats sont ensuite transmis aux acteurs du territoire concernés, pour accompagner la gestion de ces populations.

Mots-clés : génétique du paysage – IBR – IBD – microsatellites – *lepus timidus*

Parc national du Mercantour

23 rue d'Italie CS 51316 06006 Nice Cedex 1

Tuteur entreprise : Aurélie Coulon

**Maître de Conférences du Muséum
national d'Histoire naturelle**

Tuteur académique : Francis Isselin