

Évaluation de l'efficacité des repeuplements par suivi génétique : l'exemple du Lapin de garenne



L. Barbier/ONCFS

Bien que les lâchers constituent une pratique de gestion courante pour renforcer les populations de Lapin de garenne, leur efficacité reste méconnue. La réussite d'un repeuplement sous-entend que la viabilité à long terme de la population soit assurée, grâce à la contribution significative des individus introduits à la reproduction. Or, le succès reproducteur de cette espèce est difficile à estimer par les techniques directes de suivi. L'approche génétique peut y pourvoir car elle permet, sous certaines conditions, d'identifier les gènes introduits dans la population.

**Jérôme Letty¹,
Guillaume Queney²,
Angélique Gautier^{3,*},
Stéphane Marchandau¹**

1 ONCFS, CNERA Petite Faune Sédentaire de Plaine
- Nantes.

2 ANTAGENE - Immeuble Le Meltem, 2 allée des
Séquoias, 69760 Limonest.

3 CNRS, Centre de Génétique Moléculaire
- 91198 Gif-sur-Yvette.

* Adresse actuelle : INRA PMDV, RD - 10 route de
Saint-Cyr, 78026 Versailles.

Comment évaluer le succès d'un repeuplement ?

Tout repeuplement, qu'il s'agisse d'une réintroduction en cas de disparition complète de l'espèce ou d'un renforcement de population, vise à l'établissement d'une population viable dans le long terme. La réussite d'un repeuplement requiert donc plusieurs étapes : la survie des individus lâchés, leur installation sur la zone de lâcher, leur reproduction et l'émancipation de la nouvelle génération, cette dernière étape signant véritablement la fondation de la « nouvelle » population. La réussite d'un

repeuplement se juge d'un point de vue démographique. Elle peut être évaluée directement, par exemple par le biais de dénombrements, ou indirectement en utilisant l'information véhiculée par les gènes car les composantes démographique et génétique sont corrélées.

Si l'approche moléculaire peut théoriquement permettre d'estimer la taille d'une population, qu'elle soit ou non réintroduite, elle se révèle particulièrement pertinente lorsqu'il s'agit d'estimer le succès d'un renforcement de population. L'outil génétique peut même s'avérer être l'unique moyen d'appréhender cette problématique lorsque

l'observation directe ne permet pas de recueillir les informations nécessaires. Deux approches peuvent être utilisées pour estimer l'impact démographique d'un repeuplement au moyen des outils moléculaires. La première vise à recenser les différents individus présents et à déterminer leur filiation. Elle est en général difficile à mettre en œuvre car elle nécessite des marqueurs hyper-polymorphes* et surtout une connaissance exhaustive des géniteurs présents. La deuxième approche est plus facile à adopter car elle consiste simplement à estimer si tel ou tel descendant appartient au groupe introduit, à la population autochtone* ou s'il est issu d'un croisement entre un individu introduit et un autochtone. En matière de repeuplements, elle n'est donc pertinente que lors d'un renforcement de population avec des individus d'origine allochtone*. On ne raisonne donc plus en termes de filiation précise entre individus, mais en termes de probabilité d'appartenance de chaque descendant respectivement au groupe introduit et à la population autochtone. Cette probabilité permet ensuite d'assigner un individu donné à tel ou tel groupe de départ, soit dans le cas présent les populations introduite et autochtone. Toutefois, cette approche

est essentiellement limitée à l'évaluation du succès immédiat du renforcement de population, soit au niveau de la première génération après le lâcher. Idéalement, un spécimen issu d'un croisement entre un individu introduit et un autochtone est assigné avec une probabilité équivalente (50 %) au groupe des individus introduits et à celui des autochtones. De même, un spécimen issu d'un croisement entre individus du même groupe devrait être assigné avec une probabilité de 100 % à la population parentale. En pratique, la qualité des assignations dépend du polymorphisme* des marqueurs moléculaires utilisés et du degré de différence de profil génétique entre les groupes d'individus de départ. Il faut donc s'arranger pour lâcher un groupe d'individus qui présente des écarts significatifs de fréquences alléliques avec la population autochtone, l'idéal étant de disposer d'allèles spécifiques de l'une ou l'autre des populations .

La problématique du Lapin de garenne

Face au déclin du Lapin de garenne (*Oryctolagus cuniculus*) en France, les gestionnaires cynégétiques ont fréquemment recours aux lâchers. Cependant, cette pra-

tique est loin d'être parfaitement maîtrisée. L'ONCFS réalise depuis plusieurs années des recherches expérimentales dans le domaine des repeuplements de lapins. Ces recherches ont notamment permis de montrer que la mortalité après le lâcher pouvait être très importante, de l'ordre de 50 % ou plus en quelques jours (Letty *et al.*, 2002). Après cette surmortalité initiale, les individus lâchés restants survivent aussi bien que les autochtones. En outre, la dispersion autour de la zone de lâcher est toujours très réduite, généralement de l'ordre de 200 m. Mais les repeuplements nécessitent aussi un important effort de gestion de l'environnement (aménagement de garennes et de zones de gagnage, limitation de la prédation, ...) qui n'est pas toujours correctement réalisé préalablement au lâcher (lire l'**encadré 1**). Les observations évoquées ci-dessus ont été obtenues au moyen de méthodes directes, lesquelles sont malheureusement inadaptées à l'étude du succès de la reproduction chez le Lapin. Devant la nécessité de recueillir des données sur la reproduction des individus lâchés pour mieux comprendre le déterminisme du succès des repeuplements, nous avons été contraints de recourir à l'approche moléculaire. Deux jeux de données sont présentés dans le cadre de cet article. Le premier

Encadré 1 - À ce stade, quels enseignements pour les lâchers de lapins ?



J. Letty/ONCFS

Séance de vaccination.

En attendant de pouvoir disposer de plus amples informations sur le succès reproducteur des individus lâchés, on est quand même en droit d'espérer que les lapins introduits finissent par contribuer significativement à la dynamique de la population, à condition qu'ils survivent assez longtemps. Il n'est donc peut-être pas inutile de rappeler les conditions qui vont favoriser leur survie après le lâcher.

Il convient notamment de créer, sur une zone de quelques hectares, de nouvelles garennes (souches ou blocs de pierre, terre végétale, branchages) dans lesquelles seront introduits les groupes de lâcher constitués de quelques individus. Sur cette zone, une attention particulière sera apportée à l'aménagement de secteurs de gagnage (prairies rases, cultures à gibier) ainsi qu'à la limitation de l'impact de la prédation (piégeage, aménagement de refuges). Lors du lâcher, outre un apport momentané de nourriture autour des garennes, la vaccination des lapins introduits contre les maladies paraît judicieuse, puisqu'elle va retarder de quelques mois le risque d'une épidémie dévastatrice et accorder ainsi aux individus vaccinés une

chance supplémentaire de se reproduire. Par ailleurs, le lâcher en été de jeunes individus, âgés de 2 ou 3 mois, semble une solution prometteuse pour maximiser la survie après le lâcher et par conséquent la réussite globale du repeuplement. En effet, les conditions environnementales sont très favorables à cette saison (abondance de nourriture et de couverts) et cette classe d'âge présente vraisemblablement les meilleures aptitudes d'adaptation à un nouvel environnement. Cette option souligne donc l'intérêt, pour une structure cynégétique motivée pour mener une gestion active du Lapin de garenne, de monter sa propre unité d'élevage semi-extensif. Enfin, les efforts de gestion ne doivent pas s'arrêter au lâcher, mais doivent au contraire être poursuivis durablement au cours des années suivantes. Il semble par exemple nécessaire de suspendre le tir du Lapin sur la zone de lâcher pendant au moins 1 an, avant d'envisager la reprise de prélèvements raisonnés. Parallèlement, il ne faudra pas non plus omettre de poursuivre régulièrement les mesures de limitation de la prédation et d'entretien des garennes, des couverts et de l'ouverture du milieu. Les efforts de gestion ainsi réalisés contribueront de toutes façons au succès d'un repeuplement, à défaut de le garantir, et plus généralement à la dynamique de population du Lapin de garenne.

Encadré 2- Éléments de phylogéographie des populations de Lapin de garenne

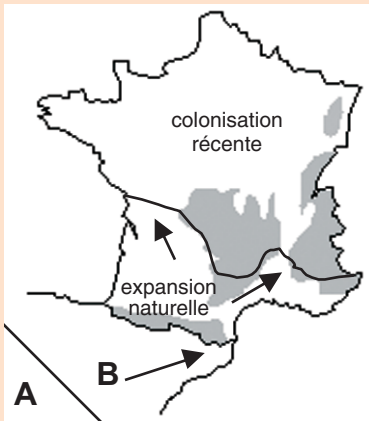
L'histoire du Lapin de garenne à travers les âges a pu être documentée grâce aux études paléontologiques, archéologiques et historiques, elles-mêmes confrontées avec les données biogéographiques, morphologiques et génétiques (Loreilla *et al.*, 1997 ; Queney *et al.*, 2001 et 2002 ; Branco *et al.*, 2002 ; Callou, 2003).

L'espèce serait apparue il y a environ 2 millions d'années dans le sud de l'Espagne, et non au Maghreb qu'elle aurait colonisé ultérieurement. L'aire de répartition du Lapin de garenne aurait ensuite fluctué au gré des changements climatiques et des extensions et contractions de la zone de végétation méditerranéenne qu'ils ont occasionnées. L'espèce serait ainsi parvenue à coloniser l'ensemble de la Péninsule ibérique, se répandant même dans le sud de la France et en Italie. Cependant, l'une des phases glaciaires du Quaternaire aurait ensuite provoqué une régression majeure du Lapin, provoquant la scission de son aire de répartition en deux zones refuges. C'est en tout cas l'hypothèse la plus probable pour expliquer la séparation géographique actuelle des deux grandes lignées mitochondriales : la lignée « A » se retrouve exclusivement dans le sud-ouest de la Péninsule ibérique, et la lignée « B » dans le nord-est et ailleurs (carte 1). Ces deux groupes seraient ensuite de nouveau entrés en contact à l'occasion de l'épisode interglaciaire actuel. Chez le Lapin, l'essentiel de la diversité génétique se trouve donc dans la Péninsule ibérique, où se situaient les zones refuge supposées.

Les lapins du nord-est de l'Espagne (lignée « B ») auraient ultérieurement franchi la barrière pyrénéenne pour coloniser le sud de la France. On suppose que le franchissement des Pyrénées a eu lieu par la frange orientale du massif, car on y trouve de nos jours le principal foyer de diversité génétique de l'espèce côté français. Jusqu'au Moyen-Âge, la progression du Lapin aurait été contenue au niveau du tiers sud de la France, notamment par les montagnes, de la Charente et du Limousin à la Côte d'Azur (carte 1).

L'aire de répartition naturelle du Lapin de garenne semblait donc stabilisée jusqu'à ce que l'Homme intervienne. L'espèce a par exemple été diffusée dans le Bassin méditerranéen dès l'Antiquité, notamment par les Phéniciens qui donnèrent d'ailleurs son nom à l'Espagne en l'appelant le « pays des damans », par confusion avec le Lapin, animal qu'ils ne connaissaient pas encore. Pour ce qui est de sa colonisation de la grande

moitié Nord de la France et d'autres contrées européennes, si les défrichements et le climat clémente du Moyen-Âge créent des conditions favorables à son expansion naturelle, elle semble très rapide et surtout imputable à l'intervention directe de l'Homme. Celui-ci commence en effet à implanter un peu partout l'espèce dans des « garennes médiévales » (parcs d'élevage) pour des raisons cynégétiques, puis économiques. C'est par exemple à cette époque que le type mitochondrial « B1 » semble être introduit en France. C'est essentiellement à partir de ces populations récentes et de faible diversité génétique du nord de la France que débutera la domestication de l'espèce aux 15^{ème} et 16^{ème} S., avant de se développer véritablement à la fin du 18^{ème}. L'espèce connaîtra alors sa dernière phase d'expansion géographique avec la diffusion à travers le monde, notamment sur de nombreuses îles, d'individus domestiqués qui retourneront ensuite à l'état sauvage.



Carte 1 - Phylogéographie des populations de Lapin de garenne à travers la Péninsule ibérique et la France. La séparation des lignées mitochondriales « A » et « B » ainsi que la limite de l'expansion naturelle de l'espèce en France avant le Moyen-Âge sont indiquées.

concerne une étude initialement destinée à parfaire nos connaissances sur la phylogéographie* des populations de lapins de garenne en Europe. Cette étude a été

étendue à la problématique des lâchers dans un deuxième temps, après la découverte de certaines anomalies dans la distribution spatiale d'haplotypes* du cytochrome b (lire l'encadré 2). Le deuxième jeu de données concerne une étude expérimentale spécifiquement élaborée pour estimer le succès reproducteur des lapins introduits.

Evaluation par la génétique du succès d'introductions anciennes

Un concours de circonstances nous a procuré l'opportunité d'étudier les conséquences génétiques de repeuplements ayant eu lieu il y a plus de vingt ans. L'île de Béniguet, dans l'archipel de Molène (Finistère), a été utilisée comme réservoir de lapins pour le renforcement de populations du continent (figure 1). Or, l'étude génétique de la population de Béniguet a révélé la présence en

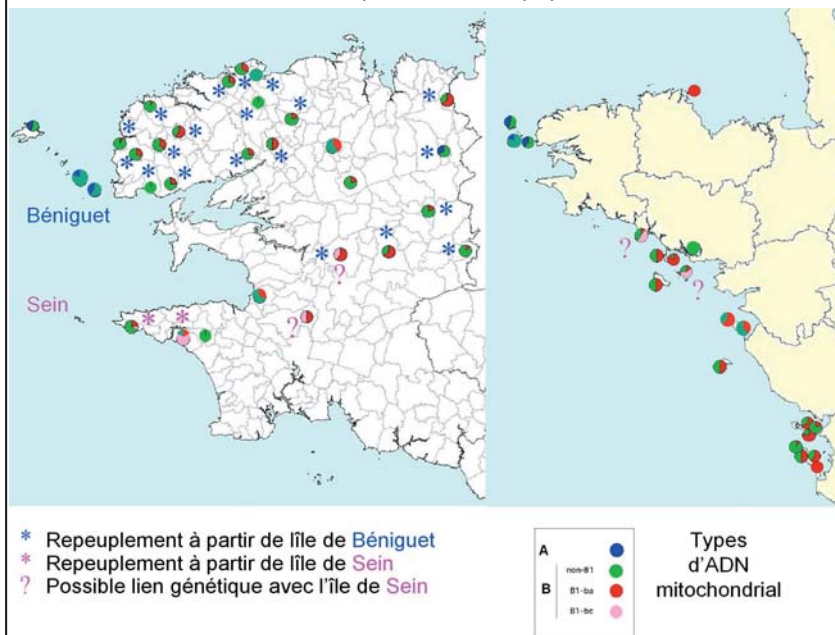
grande proportion d'un haplotype de l'ADN mitochondrial normalement spécifique de la Péninsule ibérique (encadré 2). On suppose que ce sont des marins au long cours qui ont volontairement introduit des lapins sur certaines îles au cours des siècles passés, pour leur valeur alimentaire et marchande. Cette lignée génétique de lapins d'origine ibérique s'est manifestement maintenue jusqu'à nos jours sur l'île de Béniguet. La présence de cet haplotype ibérique dans les populations du continent ayant bénéficié de renforcements réalisés à partir d'individus prélevés sur l'île de Béniguet, constituerait une preuve que des femelles introduites ont produit une descendance femelle. En revanche, l'occurrence de ce gène ne renseignerait en rien sur le succès reproducteur des mâles introduits puisque l'ADN mitochondrial ne se transmet que par la voie maternelle.



ONCFS

Reprise d'un individu dans un parc.

Figure 1 - Localisation des populations et distribution du polymorphisme mitochondrial chez le Lapin de garenne sur la façade atlantique française et dans le Finistère. Chaque cercle représente une population échantillonnée et chaque secteur de couleur la fréquence d'un type d'ADN mitochondrial présent dans la population.



Le marqueur utilisé est situé dans le gène du cytochrome b. Ses différents haplotypes forment deux grandes lignées : les haplotypes de la lignée « A » sont spécifiques du sud-ouest de la Péninsule ibérique ; ceux de la lignée « B » se retrouvent partout ailleurs. Les deux lignées peuvent être rapidement caractérisées par RFLP (figure 2). En France, on ne trouve normalement que des haplotypes de type « B » (B1 et non-B1), excepté sur l'île de Béniguet où des haplotypes de la lignée « A » ont été détectés chez 40 % des lapins analysés (n = 50).

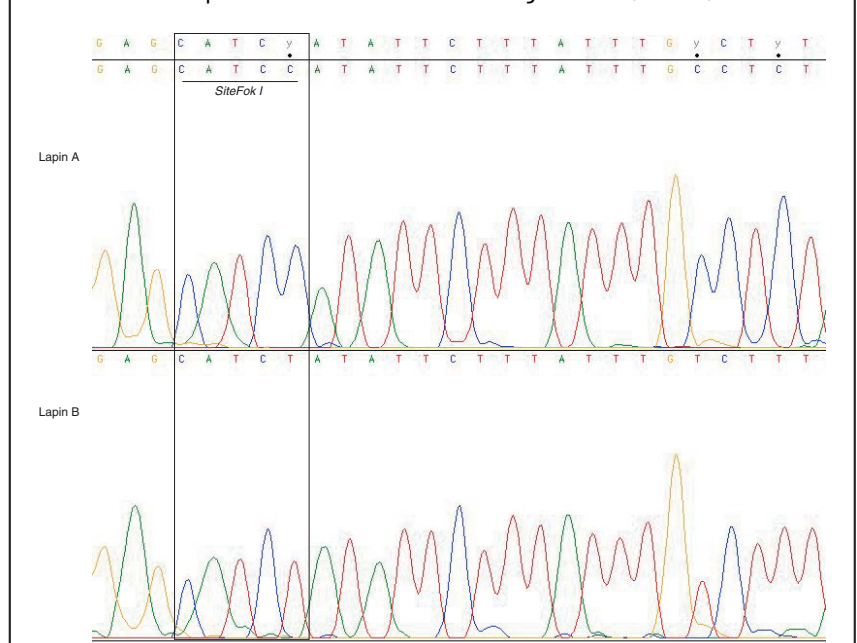
Afin de déterminer le succès des lâchers de lapins de l'île de Béniguet sur le continent, la lignée mitochondriale « A » a été recherchée chez 163 individus prélevés dans 20 localités continentales du Finistère, ainsi que chez 25 autres originaires de deux îles voisines de Béniguet, connues pour avoir fait l'objet d'un repeuplement avec des lapins venant de Béniguet. Parallèlement, 72 lapins prélevés dans sept autres localités continentales finistériennes n'ayant *a priori* pas fait l'objet d'un tel renforcement de population ont servi de groupe de « contrôle ». Celui-ci incluait en outre 207 lapins provenant de 17 autres localités de la côte atlantique, réparties de la Charente-Maritime aux Côtes-d'Armor.

La présence de l'haplotype « A » n'a pu être confirmée que dans les îles voisines de Béniguet (archipel de Molène et Ouessant), ainsi que chez un seul individu d'une des 20 populations continentales (Lanneanou) préalablement renforcées avec des lapins de Béniguet (figure 1). En fait, aucun renforcement n'était censé avoir eu lieu à Lanneanou,

mais rétrospectivement, les chasseurs se sont rappelés y avoir effectivement lâché quelques lapins de Béniguet dans les années 1980. Par ailleurs, aucun haplotype « A » n'a été détecté dans les populations non renforcées servant de « contrôle ».

Ces analyses suggèrent donc que le succès reproducteur des femelles introduites est extrêmement faible, puisque la plupart des typages réalisés se sont avérés négatifs à l'haplotype « A » dans les populations où il est supposé avoir été introduit. Ceci ne signifie pas pour autant que les lâchers n'ont pas eu l'effet démographique escompté. L'absence apparente d'individus de la lignée « A » pourrait par exemple s'expliquer par la simple dilution, au cours des générations, des quelques haplotypes ibériques introduits dans l'énorme réservoir d'haplotypes continentaux de type « B ». De même, dans le cas où le gène du cytochrome b ne serait pas tout à fait neutre, l'haplotype « A » pourrait avoir été contre-sélectionné au fil des générations. Enfin, la pression d'échantillonnage a pu s'avérer insuffisante pour toucher d'éventuels noyaux d'individus de lignée « A ». Quoiqu'il en soit, l'hypothèse qui nous paraît la plus vraisemblable pour expliquer la quasi-absence d'haplotypes « A » dans les populations continentales renforcées est que les lâchers n'ont pas été conduits dans des conditions favo-

Figure 2 - Portion de l'ADN mitochondrial du Lapin : séquences caractéristiques des types A (haut) et B (bas). Seul le type A possède par exemple le site de restriction de l'enzyme Fok I (CATCC).





Repeuplement hivernal en enclos d'acclimatation.

rables à la survie des lapins.

Concernant les populations de lapins de l'archipel de Molène et Ouessant, outre la forte proportion d'individus de lignée « A », il est frappant de constater l'absence totale de la lignée « B I », pourtant assez bien représentée dans les populations continentales voisines. Les haplotypes « non-B I » y sont par contre très fréquents (figure 1). La distribution des haplotypes révèle donc la grande particularité des populations insulaires de lapins en termes d'origine et de fonctionnement. Elles ont été vraisemblablement grandement influencées par les actions humaines : fondation probable à partir de lapins domestiques, repeuplements accidentels ou voulus entre îles, etc.

Signalons enfin que tous les haplotypes « A » du Finistère sont strictement identiques, ce qui plaide en faveur d'une origine commune et qu'ils semblent apparentés à un haplotype domestique portugais. Parallèlement, la distribution des allèles des marqueurs microsatellites trouvés dans la population de Béniguet est comparable à celle des autres populations françaises. Ceci suggère, d'une part, qu'un nombre très réduit de femelles ibériques caractérisées par un très grand succès reproducteur sont à l'origine de l'expansion de l'haplotype « A » et, d'autre part, qu'elles ont dû se reproduire avec des mâles locaux, ce qui a conduit à la dilution puis à la perte des gènes nucléaires d'origine ibérique. Par ailleurs, la présence et la distribution géographique d'un haplotype peu courant de la lignée « B I », le « B I-bc »,

révèle peut-être l'existence d'autres échanges de lapins entre différentes localités du sud de la Bretagne, dont en particulier l'île de Sein.

Le succès de reproduction immédiatement après le lâcher

Pour mesurer le succès reproducteur des individus durant l'année suivant le lâcher, nous avons réalisé l'étude, en conditions naturelles, d'un renforcement de population (Letty *et al.*, 2003). Le choix des marqueurs s'est porté tout naturellement sur les microsatellites pour leur polymorphisme élevé, leur relative facilité de mise en œuvre et l'hérédité biparentale (voir l'article d'ouverture sur l'outil moléculaire). Un soin particulier a été apporté au choix des populations introduite et renforcée, de manière à avoir suffisamment de différences génétiques entre elles et ainsi pouvoir réaliser des tests d'assignation* dans les meilleures conditions. Ce choix a été orienté par nos connaissances préalables de la phylogéographie de l'espèce (encadré 2). Une population de Vendée de faible densité (0,5 individu/ha) a donc été renforcée avec des individus capturés dans une population à forte densité du Lot (10 individus/ha). La population du Lot se situant dans l'aire de répartition préhistorique de l'espèce et celle de Vendée dans une zone de colonisation bien plus récente, on devait pouvoir observer un niveau de différenciation génétique suffisant entre

elles (encadré 2). Les analyses génétiques préliminaires à l'étude ont permis de confirmer cette prévision et de valider le protocole.

Au total, 55 lapins de garenne capturés à Carlucet (Lot) ont été relâchés à la Ferrière (Vendée). Afin de maximiser le succès du renforcement de population, les lâchers ont eu lieu en été dans 5 garennes espacées d'environ 200 m et spécialement aménagées à cet effet. Sur les 55 individus lâchés au départ, une vingtaine a survécu jusqu'à l'époque de la reproduction en fin d'hiver suivant. Les dénombrements effectués à cette même période montrent qu'environ 45 reproducteurs autochtones étaient présents sur la zone occupée par les individus introduits. La proportion des individus introduits dans la population reproductrice totale a donc pu être estimée à 31,2 % (intervalle de confiance : 22,8 % - 39,6 %). En plus des 55 lapins introduits, 19 juvéniles nés après le lâcher et 29 adultes autochtones ont pu être échantillonnés (par piégeage ou par la chasse) sur une centaine d'hectares autour des garennes. Tous ces individus ont été caractérisés génétiquement à 9 locus microsatellites sélectionnés pour leur polymorphisme, ce qui a permis de caractériser la diversité génétique des populations introduite et autochtone, puis d'y assigner chaque juvénile. Sur un total de 70 allèles différents recensés chez les individus autochtones et introduits, 31 n'étaient présents que



Garenne aménagée.

Tableau I - Assignation aux populations introduite et autochtone des jeunes lapins nés après le renforcement de population à La Ferrière (Vendée). La probabilité d'assignation est indiquée pour chaque population (valeurs de non-exclusion en gras ; seuil de 5 %).

Probabilité d'assignation Aux populations parentales		Population(s) d'assignation
Introduite	Autochtone	
0,0007	0,1477	autochtone
0,0153	0,0455	aucune
0,0028	0,9356	autochtone
0,104	0,9897	introduite – autochtone
0,0	0,0281	aucune
0,2084	0,2286	introduite – autochtone
0,0002	0,1955	autochtone
0,0029	0,2159	autochtone
0,0784	0,1305	introduite – autochtone
0,0124	0,4911	autochtone
0,0115	0,1991	autochtone
0,0278	0,0787	autochtone
0,002	0,3305	autochtone
0,1682	0,3644	introduite – autochtone
0,014	0,796	autochtone
0,0051	0,9979	autochtone
0,0563	0,3356	introduite – autochtone
0,02	0,3201	autochtone
0,0722	0,6105	introduite – autochtone

dans l'une ou l'autre des populations. Seulement 6 des 31 allèles spécifiques se sont avérés avoir une fréquence suffisante pour être vraiment informatifs. De même, seuls 10 des 39 allèles communs aux deux populations présentaient une différence de fréquence suffisamment importante pour permettre de les discriminer. Les probabilités d'assignation de chaque jeune à chaque population parentale ont été calculées à l'aide du logiciel GENECLASS (Cornuet

et al., 1999). Sur les 19 jeunes échantillonnés, 11 ont été assignés à la population autochtone (58 %), 6 aux 2 populations parentales à la fois (31,5 %) mais toujours avec une probabilité plus forte pour la population autochtone, et 2 à aucune population parentale (10,5 %) - (tableau I).

Aucun des 19 juvéniles échantillonnés n'a été assigné aux seuls reproducteurs introduits dont la diversité génétique était pourtant connue de manière

exhaustive. L'introgession génétique due au lâcher serait donc très faible. Cependant, afin de s'affranchir des artefacts dans les assignations dont témoignent par exemple les deux individus dont l'origine demeure indéterminée, des générations virtuelles de jeunes issus du croisement entre les deux populations parentales ont été générées par simulation informatique avec différents taux théoriques d'introgession, dans le cas d'un régime de reproduction panmictique (accouplements réalisés au hasard). Un test d'assignation a été réalisé pour chaque jeune virtuel. La confrontation entre les données observées et ces simulations indique que le taux d'introgession réel dû au lâcher serait en fait de 20,5 % (intervalle de confiance : 6,0 % - 35,4 %). Les lapins introduits représentant 31,2 % des géniteurs potentiels, leur succès reproducteur serait donc inférieur à celui de leurs concurrents autochtones.

Si cette étude a apporté quelques éléments de réponse sur le succès reproducteur des lapins introduits, elle montre cependant clairement les limites de l'approche moléculaire en conditions naturelles chez le Lapin de garenne, notamment du fait des difficultés d'échantillonnage des individus dans les populations à faible densité, et de la faible variabilité génétique de l'espèce en France.

Conclusions et perspectives

Les résultats présentés ici indiquent que le succès reproducteur des individus introduits ayant survécu suffisamment longtemps après le lâcher serait assez médiocre, au moins la 1^{ère} année suivant le lâcher, et on peut se demander si la population renforcée ne parvient pas en fait le plus souvent à se maintenir par ses propres moyens. Ces résultats préliminaires doivent cependant être confirmés avant de pouvoir en tirer des conclusions définitives et généralisables à l'ensemble des repeuplements de lapins. Aussi convient-il de poursuivre l'étude de la réussite de la reproduction consécutive à un lâcher de lapins, afin d'évaluer l'efficacité globale de ces repeuplements. Il faut d'ailleurs noter que le succès reproducteur est un paramètre démographique pas toujours très bien connu chez le Lapin de garenne et qu'il est finalement assez variable suivant les



aléas de l'environnement, ce malgré la renommée légendaire de l'espèce.

Compte tenu des difficultés rencontrées pour évaluer correctement ce succès reproducteur dans la nature, les études suivantes doivent donc être menées en conditions semi-naturelles, ce qui permet notamment de contrôler certains facteurs de l'environnement (prédation, paysage, ...). De telles conditions se rencontrent par exemple en parc d'élevage semi-extensif, comme il en existe un peu partout en France depuis quelques années. Aussi avons-nous initié une nouvelle étude du succès reproducteur des lapins introduits dans deux parcs d'élevage appartenant à des sociétés de chasse de Loire-Atlantique (La Chevallerais et Saint-Philbert-de-Grand-Lieu). Cela devrait notamment permettre d'avoir une connaissance quasi-exhaustive de l'ensemble des individus présents et donc d'obtenir une assignation très précise des juvéniles aux populations parentales. Et ce, d'autant plus que le choix de la population introduite s'est porté cette fois-ci vers les Pyrénées-Orientales où se concentre l'essentiel de la diversité génétique présente en France. En outre, il serait évidemment souhaitable d'augmenter le nombre de marqueurs moléculaires disponibles (nouveaux locus microsatellites, marqueurs SNPs, ...), afin d'augmenter davantage encore la précision des assignations génétiques, l'idéal étant finalement de parvenir à établir les filiations exactes entre les individus.

Si les gènes constituent surtout des

outils de suivi des individus ou des populations dans le cadre des études détaillées ci-dessus, certains présentent néanmoins un grand intérêt fonctionnel pour l'espèce et sont alors naturellement sélectionnés. Chez le lapin, c'est par exemple le cas des gènes de résistance à la VHD (lire l'**encadré 3**).

Remerciements

Ces études, qui nécessitent un vaste échantillonnage des populations de Lapin de garenne, ont pu être réalisées grâce au concours de nombreux agents des Fédérations départementales des chasseurs et de l'ONCFS, et des chasseurs qui ont effectué les prélèvements. Concernant l'étude de la répartition des types mitochondriaux, nous remercions les FDC de Charente-Maritime, des Côtes-d'Armor, du Finistère, du Morbihan et de la Vendée, et la BMI Atlantique-Nord de l'ONCFS qui s'occupe de la RNCFS de Béniguet. Nous remercions notamment de leur aimable collaboration Stéphane Basck, Pascal Bihannic, Bernard Contant, Alain Hervo, Jean-Pierre Lafond, Amaud Le Cras et David Rolland. Par ailleurs, nous n'oublions pas les très nombreux personnels des FDC et de l'ONCFS qui ont participé à l'enquête nationale sur la résistance à la VHD. Nos remerciements s'adressent également à Jean Poireau, Jacky Vrignaud et la Société de chasse communale de La Ferrière (Vendée), qui nous ont accueillis sur leur territoire pour y mener l'étude d'un renforcement de

population en conditions naturelles. Nous remercions aussi André Macé et Christophe Sorin, qui nous permettent actuellement de mener des études en conditions contrôlées dans les parcs d'élevage des sociétés de chasse de La Chevallerais et Saint-Philbert-de-Grand-Lieu (Loire-Atlantique). Nous sommes également reconnaissants envers Nicole Dennebouy et Monique Monnerot (CNRS), Delphine Delattre (ANTAGENE), Jacques Le Pendu (INSERM), sans oublier de précieux stagiaires ou bénévoles tels Laurent Chassany, François Guilloteau, Norbert Hériteau, Jean Hivert, Éric Roirand, Yannis Turpin, l'équipe de reprises de la FDC des Pyrénées-Orientales réunie par Olivier Galaup, et des personnels de l'ONCFS comme Jacky Aubineau, Francis Berger, Alain Caizergues, Philippe Landry, Yves Léonard et Alain Roubrouck, pour l'aide qu'ils nous ont apportée au niveau des opérations de terrain, de la collecte des échantillons, des analyses génétiques ou de l'élaboration de cet article. Enfin, ces études ont en partie bénéficié des soutiens financiers du Bureau des Ressources Génétiques et de l'INSERM.

Bibliographie

- Branco, M., Monnerot, M., Ferrand, N. & Templeton, A.R. 2002. Postglacial dispersal of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) on the Iberian Peninsula reconstructed from nested clade and mismatch analyses of mitochondrial DNA genetic variation. *Evolution* 56 : 792-803.
- Callou, C. 2003. De la garenne au clapier : étude archéozoologique du lapin en Europe occidentale. *Publications scientifiques du Muséum*, Paris. 360 p.
- Cornuet, J.-M., Piry, S., Luikart, G., Estoup, A. & Solignac, M. 1999. New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* 153 : 1989-2000.
- Letty, J., Marchandeu, S., Reitz, F., Clouber, J. & Sarrazin, F. 2002. Survival and movements of translocated wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Game & Wildl. Sc.* 19 : 1-23.
- Letty, J., Hivert, J., Queney, G., Aubineau, J., Monnerot, M. & Marchandeu, S. 2003. Evaluation de l'introgession

Encadré 3 - Perspectives d'étude de la résistance génétique du Lapin à la VHD

La variabilité génétique n'est pas toujours neutre et peut au contraire présenter un avantage sélectif pour les individus porteurs du « bon » allèle d'un gène crucial pour la survie ou la reproduction. La génétique n'est plus alors un simple outil d'étude, mais en devient plutôt le sujet principal.

La VHD (*viral haemorrhagic disease*) est une maladie virale affectant le Lapin de garenne. Elle est apparue en 1984 en Chine et s'est répandue dans l'ensemble des populations françaises dès 1987-1988. Les populations de lapins ont été durement touchées par cette maladie, puisque certaines études mentionnent des mortalités dues à la seule VHD atteignant 50 %. Cela signifie, en prenant en compte les autres facteurs de mortalité, que les survies annuelles moyennes dans les populations atteintes par une telle épidémie de VHD sont de l'ordre de 10 % (Marchandeau *et al.*, 1998 et 2000 ; Queney *et al.*, 2000). L'épidémiologie de la VHD en nature demeure assez mal connue, mais une résistance génétique à cette maladie semble émerger progressivement au fur et à mesure des épidémies successives. En effet, des récepteurs cellulaires qui permettent au virus de la VHD (VHDV) de pénétrer dans les cellules et de s'y répliquer ont été mis en évidence (Ruvoën-Clouet *et al.*, 2000). Il s'agit du même type de récepteur cellulaire présent chez l'Homme et directement impliqué dans la sensibilité à certains virus de gastro-entérite, appartenant comme le VHDV à la famille des calicivirus. Le Lapin et le VHDV constituent donc un modèle biologique pertinent pour la recherche médicale. Comme cela est connu chez les Mammifères, la sécrétion de ces récepteurs cellulaires est elle-même contrôlée par au plus 3 gènes (Fut1, Fut2 et Sec1) pouvant présenter un certain polymorphisme. Chez le Lapin, seuls Fut2 et Sec1 s'expriment dans la trachée et l'œsophage, là où le virus pénètre véritablement à l'intérieur de l'organisme. Selon les allèles qu'ils possèdent pour ces 2 gènes (fut2, sec1), certains lapins ne sécrètent pas ces récepteurs, ce qui les rendrait insensibles à la VHD, au moins par la voie oro-fécale qui est sa principale voie de transmission. La présence de ces récepteurs cellulaires est mise en évidence par coloration des frottis buccaux.

Quelques résultats préliminaires tendent à montrer qu'après une épidémie de VHD, la proportion d'animaux non sécréteurs (résistants à la VHD) augmente dans une population, d'autant plus que la fréquence et l'intensité des épidémies seraient élevées (tableau 2). Ces résultats suggèrent donc le développement d'une résistance génétique des populations de lapins à la VHD, par sélection des individus insensibles.

Tableau 2 - Proportions d'individus sécréteurs ou non du récepteur cellulaire du virus de la VHD dans 3 populations aux passés épidémiologiques différents au moment de l'échantillonnage

(Dompierre : aucune épidémie ; Cerizay : 1 épidémie ; Chèvreloup : 2 épidémies successives)

Population \ Récepteurs cellulaires de la VHD	Sécréteurs	Douteux	Non sécréteurs
Dompierre (n = 27, pas d'épidémie connue)	85 %	15 %	0 %
Cerizay (n = 70, épidémie limitée en 2001)	53 %	26 %	21 %
Chèvreloup (n = 32, forte épidémie en 1995, suivie d'une faible épidémie en 1996)	28 %	38 %	34 %

Un des défis pour l'avenir des recherches sur l'évolution de la résistance à la VHD chez le Lapin est d'identifier les mutations potentiellement neutralisantes pour les gènes impliqués. Le séquençage de ces différents gènes sera réalisé, puis la séquence génétique obtenue pour chaque individu sera confrontée avec son phénotype (sécréteur/non sécréteur ou sensible/résistant). Une fois que les mutations de résistance seront clairement identifiées, l'étape suivante sera de développer un test génétique permettant d'identifier rapidement et à faible coût les individus non sécréteurs.

Il sera alors possible de mesurer la fréquence de la résistance à la VHD au sein des populations sauvages et éventuellement de suivre le processus de co-évolution entre le Lapin et le virus. Par exemple, dans le cas où la proportion de lapins résistants deviendrait très importante, il se pourrait qu'une mutation permettant de contourner la résistance génétique de son hôte apparaisse chez le virus. Pour appréhender un éventuel phénomène, un échantillonnage génétique des lapins a été réalisé à l'échelle nationale en 2002 (800 échantillons prélevés dans autant de communes réparties sur 70 départements) et sera renouvelé tous les 2 ou 3 ans. À partir de ces données, il sera possible de déterminer un niveau moyen de résistance à la VHD environ 15 ans après son émergence, puis de suivre au cours du temps la progression de cette résistance génétique, voire de prédire par modélisation le futur état d'équilibre entre le Lapin et la VHD.

génétique suite à un renforcement de population chez le lapin de garenne. In : 4^{ème} Colloque National du BRG "Le patrimoine génétique : la diversité et la ressource", la Châtre, France, 14-16 octobre 2002, F. Marie & M. Mitteau, eds., Bureau des Ressources Génétiques : 101-114.

- Loreille, O., Mounolou, J.-C. & Monnerot, M. 1997. Histoire des lapins et ADN ancien. *Comptes Rendus à la Société de Biologie* 191 : 537-544.

- Marchandeau, S., Chantal, J., Portejoie, Y., Barraud, S. & Chaval, Y. 1998. Impact of viral hemorrhagic disease on wild population of European rabbits in France. *J. Wildl. Diseases* 34 : 429-435.

- Marchandeau, S., Chaval Y. & Le Goff, E. 2000. Prolonged decline in the abundance of wild European rabbits *Oryctolagus cuniculus* and high immunity level over three years following the arrival of rabbit haemorrhagic disease. *Wildl. Biol.* 6 : 141-147.

- Queney, G., Ferrand, N., Marchandeau, S., Azevedo, M., Mougrl, F., Branco, M. & Monnerot, M. 2000. Absence of a genetic bottleneck in a wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) population exposed to a severe viral epizootic. *Molec. Ecol.* 9 : 1253-1264.

- Queney, G., Ferrand, N., Weiss, S., Mouguel, F. & Monnerot, M. 2001. Stationary distributions of microsatellite

loci between divergent population groups of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Molec. Biol. & Evol.* 18 : 2169-2178.

- Queney, G., Vachot, A.-M., Brun, J.-M., Dennebouy, N., Mulsant, P. & Monnerot, M. 2002. Different levels of human intervention in domestic rabbits: effects on genetic diversity. *J. Heredity* 93 : 205-209.

- Ruvoën-Clouet, N., Garnière, J.-P., André-Fontaine, G., Blanchard, D. & Le Pendu, J. 2000. Binding of rabbit hemorrhagic disease virus to antigens of the ABH histo-blood family. *J. Virology* 74 : 11950-11954. ■