



# Le lièvre variable : comment suivre une espèce aussi discrète

**LUDOVIC IMBERDIS<sup>1</sup>,  
MICHEL BOUCHE<sup>2</sup>,  
AURÉLIEN BESNARD<sup>3</sup>,  
GUILLELME ASTRUC<sup>3</sup>,  
GUILLAUME QUENEY<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Parc national des Écrins, service scientifique – Gap.

<sup>2</sup> Parc national des Écrins, secteur de l'Embrunais – Châteauroux-les-Alpes.

<sup>3</sup> CNRS, CEFE – Montpellier.

<sup>4</sup> ANTAGENE, Laboratoire de génomique animale – La Tour de Salvagny.

Contact : ludovic.imberdis@ecrins-parcnational.fr

## Le suivi des populations animales : un besoin autant qu'une gageure technique

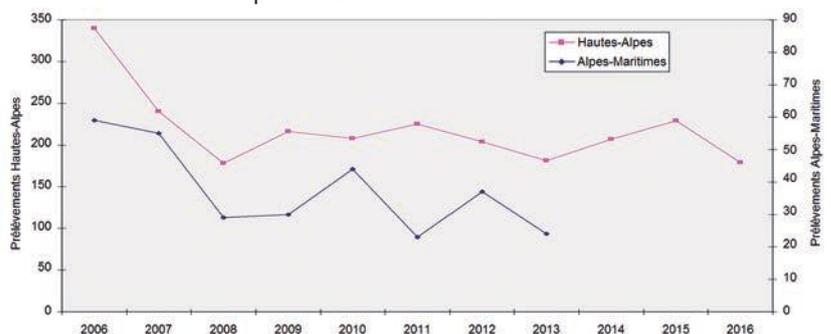
Pour la gestion durable des espèces, il est indispensable de développer des outils fiables pour suivre à long terme l'évolution des effectifs des populations. Le lièvre variable (*Lepus timidus*), espèce emblématique de la faune de montagne, faisait jusqu'à présent figure de parent pauvre dans ces enjeux. En effet, sa discrétion, la relative difficulté d'accès aux zones qu'il occupe et l'absence de méthode adaptée ne permettaient que d'utiliser des indicateurs à large échelle (c'est-à-dire présence/absence à l'échelle communale). L'impossibilité de discriminer les indices, tels que fèces et traces, entre lièvre variable et lièvre d'Europe ne facilitait par ailleurs pas la tâche. La dernière enquête décennale de l'Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS) sur la répartition communale du petit gibier de montagne fait état d'une réduction de l'aire de répartition de l'animal : le nombre

*Le développement récent des analyses génétiques ouvre le champ au suivi d'espèces discrètes, à l'aide d'approches non invasives comme la récolte des fèces. Ainsi, on sait identifier aujourd'hui les individus chez le lièvre variable par exemple. De plus, en couplant les identifications génétiques aux méthodes de capture-marquage-recapture, il devient possible de réaliser des estimations d'abondance de cette espèce, difficiles à obtenir par d'autres moyens. Le Parc national des Écrins met en œuvre cette approche depuis cinq ans sur plusieurs zones de son territoire. Dans le contexte du changement climatique, il est important de pouvoir documenter sur le long terme les évolutions des populations de cette espèce adaptée au climat montagnard.*

de communes de présence régulière aurait régressé d'au moins 25 % depuis la fin des années 1950, et de 14 % depuis la décennie 1990. L'évolution des tableaux de chasse (*figure 1*) fait aussi partie des éléments à examiner ; mais dans le cas particulier du lièvre variable, les facteurs confondants (chasse non spécifique, baisse du nombre de permis) sont trop nombreux pour que cette évolution soit directement interprétable.

Depuis les années 1980, le Parc national des Écrins et l'ONCFS ont régulièrement conduit des études pour combler ces lacunes (Bouche, 1989 ; Corti, 2008). En particulier, une étude initiée par l'ONCFS a permis la validation d'un panel de marqueurs génétiques adaptés au suivi du lièvre variable (Letty *et al.*, 2017). Finalement, ce n'est qu'en 2011 que le suivi sur la Réserve de chasse et de faune sauvage (RCFS) de Ristolas a confirmé

**Figure 1** Tableaux de chasse du lièvre variable réalisés dans les Alpes-Maritimes et les Hautes-Alpes entre 2006 et 2016.



qu'il était possible d'individualiser les animaux à partir des empreintes génétiques relevées sur les crottes *in situ* (**encadré 1**).

## La génétique au service des gestionnaires

L'identification génétique individuelle à partir des fèces, déjà utilisée chez de nombreuses espèces, offre la possibilité d'utiliser des méthodes désormais classiques pour l'estimation de l'abondance des populations, telles que les captures-marquages-recaptures (CMR). L'avantage substantiel de la génétique est que cette approche est non invasive puisque le marqueur de chaque individu n'est pas une boucle auriculaire ou un collier, mais son empreinte ADN. Ceci est d'autant plus vrai dans le cas d'analyses effectuées sur les crottes. Les méthodes de CMR permettent aussi d'obtenir des informations sur la reproduction, la survie et donc la dynamique de l'espèce sur la zone étudiée (**encadrés 1 et 2**) et, en outre d'estimer le nombre d'individus occupant une zone (**encadré 3**).

## Une espèce patrimoniale, emblématique de la haute montagne et fragile

Au-delà de l'estimation des effectifs et de leurs variations dans le temps, le maintien d'une pression de suivi sur un site permet de préciser d'autres éléments sur l'écologie du lièvre variable. Il est en effet difficile d'apprécier l'impact sur cette espèce de l'accroissement de la fréquentation touristique, des aménagements en milieux montagnards et de l'évolution des pratiques pastorales. Par exemple, la préservation de zones de quiétude, mesure de prudence, ne peut se justifier qu'avec une meilleure connaissance de sa biologie.

Le lièvre variable est une espèce artico-alpine (**encadré 4**). Il peut être sensible aux modifications du climat et aussi être en compétition avec le lièvre européen, lequel est sans doute favorisé par le réchauffement global. Ses populations sont fragmentées et isolées, ce qui fragilise encore le statut de cette espèce gibier.

## Des connaissances locales plus fines

Le suivi, qui dure depuis cinq ans dans l'Embrunais, a permis d'obtenir des informations précises sur l'abondance du lièvre variable, mais aussi des données



▲ Collecte de crottes dans le cadre du protocole de suivi du lièvre variable.

intéressantes sur l'utilisation de l'espace par les individus et les taux de survie. Depuis 2013, les densités obtenues sont stables, oscillant entre 0,8 et 1,4 individu par km<sup>2</sup>. Nous avons pu obtenir une première estimation de la probabilité de survie interannuelle, autour de 0,55, ce qui correspond à une espérance de vie moyenne d'à peine plus de deux ans. Les interactions avec le lièvre d'Europe sont aussi mieux connues, puisque les deux espèces partagent sur le site un gradient

d'altitudes pouvant atteindre 1 000 mètres ! Il semble que les années les plus enneigées, les lièvres d'Europe se cantonnent en deçà de 1 800 m. Ils peuvent cependant, à la faveur d'hivers moins rigoureux, passer l'hiver à plus de 2 000 m d'altitude, et même au-delà de 2 400 m. Malgré cela, l'hybridation semble très faible, avec la présence d'un seul individu hybride (de première génération) détectée sur plus de deux cents animaux identifiés (**figure 7**).

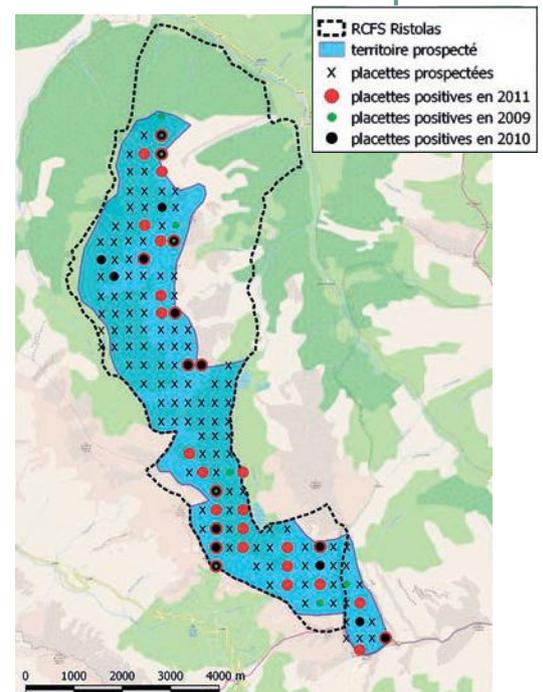
### ► Encadré 1 • Calibration du suivi sur la Réserve de chasse et de faune sauvage de Ristolas

Dans le cadre de la gestion de la RCFS de Ristolas, l'ONCFS, avec l'aide de la FDC 05, a cherché à calibrer une méthode indirecte d'estimation de l'abondance du lièvre variable et à estimer ce niveau d'abondance. La méthodologie a visé une validation croisée entre trois protocoles :

- la *distance sampling* ;
- l'échantillonnage des crottes sur placettes circulaires (au-dessus de 2 400 m d'altitude, disposées systématiquement tous les 250 m) ;
- la différenciation des individus par analyses génétiques des crottes.

Les prospections se sont déroulées de 2009 à 2011, avec une moyenne de 20 % de placettes positives chaque année et plus de deux cents crottes envoyées au génotypage. Les résultats ont montré des îlots de présence et d'absence et une régularité entre les différentes années prospectées (**figure 2**). Sur ces trois années, vingt-sept individus ont pu être différenciés sans qu'on puisse noter d'aberration concernant leur localisation, prouvant que le génotypage était fiable. La probabilité de recapture est montée à 75 %.

Figure 2 Sites de présence du lièvre variable identifiés dans la RCFS de Ristolas de 2009 à 2011.



► Encadré 2 • Précision sur la méthode de suivi du lièvre variable par collecte des fèces

La phase expérimentale menée sur le site d'étude de Mikéou dans la commune de Réotier (sud-est du Parc national des Écrins – **Figure 3**) a permis de calibrer la méthode pour obtenir le meilleur ratio coût/résultat, en collaboration avec le Centre d'écologie fonctionnelle et évolutive (CEFE) du CNRS. Le coût élevé des analyses ne permet pas de géotyper l'ensemble des crottes prélevées sur le terrain et une stratégie d'optimisation est nécessaire : les tests de puissance ont permis d'opter pour un suivi avec au moins trois passages pour prélever les crottes sur un site (au-delà de quatre passages le gain de précision est faible), et la collecte d'une centaine de crottes annuellement (**figure 4**). Cette phase expérimentale a aussi permis de prévoir un échantillonnage à posteriori dans le ramassage des crottes, pour limiter le nombre d'échantillons.

Mais il y a aussi un ensemble de prérequis à respecter pour pouvoir assurer une évaluation pertinente des effectifs. Une des premières hypothèses à respecter pour mettre en œuvre des méthodes de CMR concerne la « fermeture » de la population. Ce vocable signifie que sur la durée du protocole, on suppose qu'il n'y a ni reproduction, ni mortalité, ni émigration, ni immigration. Les connaissances a priori sur l'espèce et la taille des domaines vitaux utilisés en hiver (relativement faible) aident à définir un périmètre cohérent pour ces éléments.

Au-delà, il est intéressant d'avoir un effectif minimal à échantillonner. En effet, un nombre trop limité d'individus identifiés rend les estimations d'effectifs ou de paramètres démographiques imprécises. La capacité à détecter des changements d'effectifs dans le temps par exemple (puissance statistique) peut aussi être affectée par de faibles effectifs.

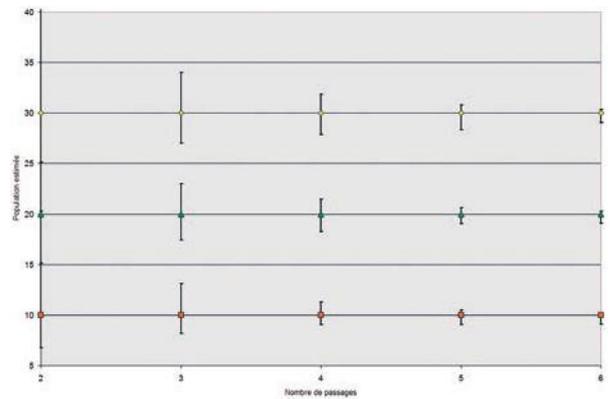
D'un point de vue technique, la récolte des crottes se fait sur des parcours réalisés en hiver à ski, avec une collecte aléatoire dans la zone d'étude. Les parcours doivent être légèrement différents d'une fois sur l'autre (sans que l'écart entre ceux-ci n'excède la moyenne d'amplitude des déplacements des animaux) pour éviter le phénomène de « trap-dependence » (tendance à « capturer » plus fortement certains animaux). Cela se produit quand les résultats d'un parcours sont influencés par le parcours précédent. Chaque itinéraire est séparé du précédent par une chute de neige. Cela permet de rendre les sessions de ramassage totalement indépendantes et de dater précisément le dépôt des crottes.

Chaque échantillon est géolocalisé, daté et stocké individuellement. Le froid hivernal permet une bonne conservation de l'ADN, structure éminemment fragile. La neige facilite aussi le repérage des crottes. Mener ce travail en hiver permet en outre de s'assurer qu'il n'y a pas de reproduction. Le protocole retenu consiste donc à réaliser trois à quatre parcours (**figure 5**) et à récolter environ cent échantillons pour une zone de 1 500 ha, afin d'optimiser la précision des résultats et le coût des analyses. En cas d'excès d'échantillons, il est possible de réaliser un échantillonnage à posteriori en limitant l'analyse des crottes prélevées très près les unes des autres. En effet, la probabilité d'avoir affaire à deux crottes provenant du même individu diminue avec la distance. Cette récolte doit être précautionneuse pour éviter la contamination des échantillons (port de gants, ramassage en évitant de toucher les crottes, utilisation de silicagel pour éviter une humidification des échantillons).

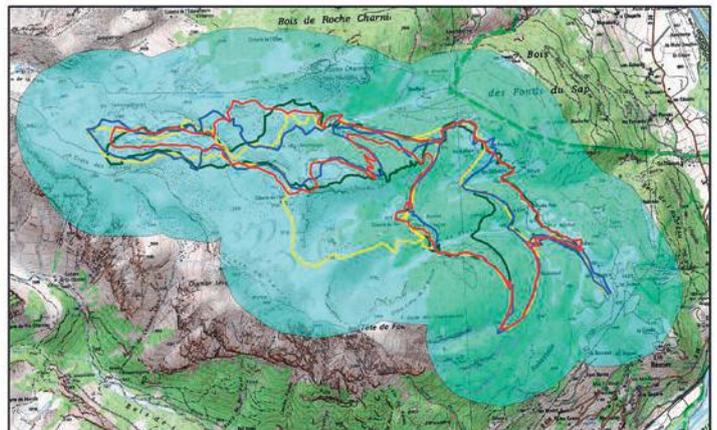
**Figure 3** Sites d'étude du lièvre variable (étoiles rouges) dans le Parc national des Écrins.



**Figure 4** Nombre de passages et précision des estimations.



**Figure 5** Une saison de circuits d'échantillonnage sur le site d'étude de Mikéou (Réotier). Les couleurs matérialisent les quatre parcours réalisés.



► Encadré 3 • Analyses génétiques et traitements statistiques

L'ADN est extrait des cellules épithéliales présentes à la périphérie des fèces. Il est ensuite amplifié jusqu'à trois reprises. Le laboratoire utilise douze marqueurs microsatellites, plus deux marqueurs de sexe (Beugin *et al.*, 2017). Une fois les génotypes déterminés pour chaque échantillon, toutes les empreintes génétiques sont comparées deux à deux pour identifier celles pouvant être associées à un même animal.

Cette méthodologie permet de dénombrer le nombre d'individus différents identifiés dans le lot d'échantillons analysés, et donc de caractériser les échantillons associés à un même individu.

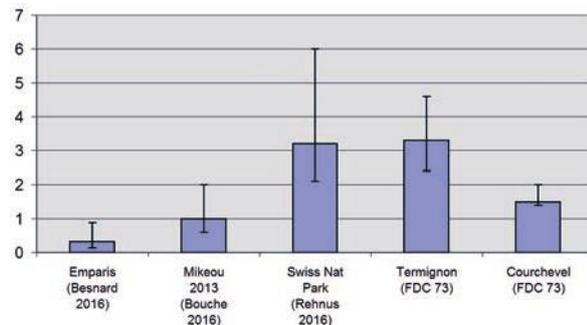
Les profils génétiques obtenus à partir des douze marqueurs microsatellites sont aussi analysés à l'aide d'une méthode bayésienne (Falush *et al.*, 2003) pour évaluer la probabilité d'assignation au lièvre variable ou au lièvre d'Europe *Lepus europaeus* (qui peut être présent sur la zone et non distinguable par les fèces) et l'intervalle de confiance de cette probabilité.

Pour estimer les effectifs sur les différents sites étudiés, les modèles de capture-marquage-recapture sont utilisés. Mais ici on parlera plutôt d'identification-réidentification, puisque les animaux ne sont ni capturés ni marqués. Nous utilisons plus spécifiquement des modèles en « population fermée ». L'hypothèse de fermeture des populations est vérifiée à l'aide d'un test statistique. Lorsque plusieurs années sont disponibles sur le même site, l'analyse peut se faire année après année, ou plus globalement avec un modèle de type « Robust Design » (emboîtement des deux échelles temporelles : les sessions intra-annuelles – nommées sessions secondaires – entre lesquelles la population est considérée comme fermée, et les différentes années – nommées sessions primaires – entre

lesquelles la population est considérée comme ouverte). Ces modèles permettent d'estimer à la fois les effectifs et les taux de survie locaux interannuels des individus. Plusieurs modèles sont testés, notamment avec des taux de capture et de recapture différents et variables dans le temps. Le modèle retenu est celui qui présente l'AIC (*Akaike information criterion*, un critère de parcimonie classique en statistiques) le plus faible.

Pour estimer les densités, une première méthode (Johnson *et al.*, 2005) utilise la surface prospectée en traçant autour des itinéraires un tampon dont la largeur est, soit la moyenne des amplitudes maximales de déplacement de chaque lièvre, soit la moitié de cette valeur. On obtient donc une fourchette de densités en divisant l'effectif par les surfaces obtenues. Nous avons aussi utilisé des modèles de CMR spatialement explicites pour obtenir des densités qui sont comparées aux estimations de CMR usuelles (Efford, 2011) – (figure 6).

Figure 6 Estimations des densités de lièvre variable sur différents sites par CMR spatialisée.



On observe que les individus ne sont pas territoriaux à cette période de l'année et partagent sans conflit une partie de leur domaine vital (figure 8). Ils évitent les zones trop ouvertes ne présentant pas d'abri. La répétition du protocole entre les années a permis de constater une certaine fidélité aux domaines hivernaux d'une année sur l'autre.

Élargir le réseau de suivi et explorer d'autres pistes

S'agissant d'une espèce à répartition alpine large, il est indispensable que d'autres acteurs s'engagent dans son suivi pour parvenir à une vision fidèle de sa distribution, nécessaire pour assurer sa bonne préservation. Les Parcs nationaux de la Vanoise et du Mercantour ont ainsi

rejoint celui des Écrins, afin d'obtenir des estimations de densité à l'échelle française et d'analyser les facteurs d'impact, grâce à des financements européens assurés jusqu'en 2020.

Ils sont accompagnés depuis 2016 par les fédérations des chasseurs d'Auvergne-Rhône-Alpes, avec le soutien financier de la région.

Figure 7 Répartition des espèces sur le site de Mikéou (Réotier) en 2017.

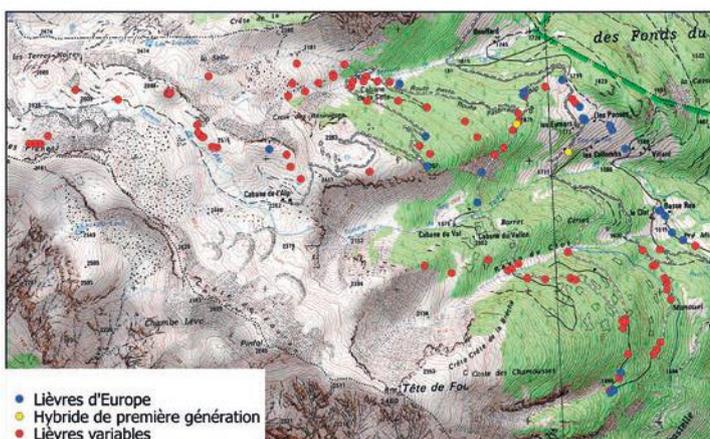
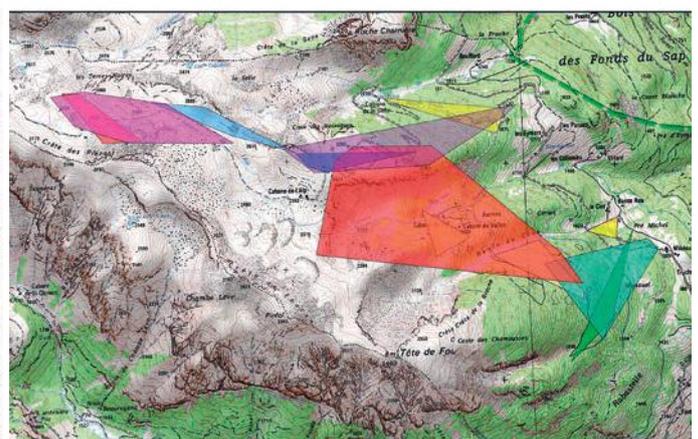


Figure 8 Polygones convexes des localisations de différents lièvres variables sur le site de Mikéou (Réotier) en 2015.





▲ L'approche non invasive permet d'obtenir une estimation fiable des densités de lièvre variable, et va permettre d'engager un suivi fin sur le long terme.

La combinaison de ces différentes études permet d'ores et déjà de comparer les densités à grande échelle. Avec la multiplication des partenaires, il devient très important de bien asseoir le protocole et les méthodes statistiques qui permettent l'estimation de ces densités. Il devient aussi crucial de définir une véritable stratégie d'échantillonnage des sites suivis, sélectionnés pour le moment au gré des opportunités.

In fine, l'AFB, le CNRS et le réseau des parcs nationaux de montagne envisagent d'établir une cartographie précise de la répartition de l'espèce, pour pouvoir documenter sur le long terme l'évolution effective de la population.

#### ► Encadré 4 • Le lièvre variable, relictte glaciaire spécialiste du camouflage

Le lièvre variable est une espèce arctico-alpine. Il se serait différencié en marge des glaciers lors de la dernière glaciation du quaternaire. Sa stratégie de camouflage a été la principale adaptation au milieu montagnard. Lors du retrait des glaciers, il y a quinze mille ans, deux groupes de lièvres variables se sont séparés : ceux qui migraient toujours plus vers le nord, et ceux qui se sont retrouvés piégés dans les Alpes. La montée des océans a aussi isolé des populations en Irlande, en Écosse et à Hokkaido au Japon. En France, il a été réintroduit dans les Pyrénées (présence avérée au paléolithique), mais ces populations n'ont pas fait souche.



▲ Individu en pelage d'été.

#### Une méthode avantageuse

L'approche non invasive permet d'obtenir une estimation fiable des densités, et va permettre d'engager un suivi fin sur le long terme. Sur la population suivie depuis cinq ans, les effectifs sont stables, même si la densité faible de l'animal limite les interprétations statistiques. La standardisation du protocole autorise une application sur n'importe quel site enneigé où l'accessibilité est assurée en hiver. Elle ne requiert que peu d'investissement humain sur le terrain. La contrepartie, non négligeable, réside dans

le coût des analyses génétiques : il faut compter environ 7 000 euros pour une année de suivi.

#### Remerciements

Nous remercions l'Agence française pour la biodiversité, les Fédérations départementales des chasseurs des Hautes-Alpes et des Alpes-Maritimes, le Fonds européen de développement régional (FEDER), les régions AURA et PACA, ainsi que Jessica Charrier et Pierre Defos du Rau (ONCFS). ●

#### Bibliographie

- Besnard, A. & Astruc, G. 2014. *Analyses des données d'identifications individuelles de lièvres variables à partir de prélèvements de fèces dans le Parc national des Écrins*. Rapport au Parc national des Écrins. 15 p.
- 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>.
- Bouche, M., 1989. *Contribution à l'étude éco-éthologique du lièvre variable dans le massif des Écrins*. Document scientifique du Parc national des Écrins. 111 p.
- Bouche, M., Besnard, A. & Queney, G. 2017. Monitoring Écrins national Park mountain hares (*Lepus timidus*) population by non-invasive genetic sampling (NIGS) in winter. *33<sup>rd</sup> International Union of Game Biologists Congress, Montpellier (France)*,

22-25 august 2017. [http://iugb2017.com/wp-content/uploads/2017/09/BOUCHE\\_2308.pdf](http://iugb2017.com/wp-content/uploads/2017/09/BOUCHE_2308.pdf).

- Corti, R. 2008. Le lièvre variable (*Lepus timidus varronis*). Pp. 105-108, in: Vallance, M., Arnauduc, J.-P., Migot, P. & Iwach, B. (Eds.). *Atlas de la biodiversité de la faune sauvage. Tout le gibier de France*. Hachette, Paris. 508 p.
- Efford, M.G. 2011. Estimation of population density by spatially explicit capture-recapture analysis of data from area searches. *Ecology* 92: 2202-2207.
- Falush, D., Stephens, M. & Pritchard, J.K. 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164: 1567-1587.
- Johnson, N.C., Vernes, K. & Payne, A. 2005. Demography in relation to population density in two herbivorous marsupials: testing for source – sink dynamics versus

independent regulation of population size. *Oecologia* 143: 70-76.

- Letty, J., Beugin, M.-P., Kaerle, C., Queney, G., Pontier, D. & Guitton, J.-S. 2017. Des marqueurs génétiques adaptés au suivi des populations de lièvre d'Europe et de lièvre variable. Reconnaître les espèces, détecter les hybrides et recenser les individus. *Faune sauvage* n° 317 : 93-96.
- Rehnus, M. & Bollemann, K. 2016. Non-invasive genetic population density estimation of mountain hares (*Lepus timidus*) in the Alps: systematic or opportunistic sampling? *European Journal of Wildlife Research* 62(6): 737-747. <https://doi.org/10.1007/s10344-016-1053-6>.
- Thulin, C.-G., Stone, J., Tegelström, H. & Walker, C.W. 2006. Species assignment and hybrid identification among scandinavian hares *Lepus europaeus* and *Lepus timidus*. *Wildlife Biology* 12(1): 29-38. [https://doi.org/10.2981/0909-6396\(2006\)12\[29:SAAHIA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2981/0909-6396(2006)12[29:SAAHIA]2.0.CO;2).