

Diversité génétique et problème de conservation des populations de Putois d'Europe *Mustela putorius* dans le Morvan

Thierry LODÉ

Laboratoire d'Écologie Animale, Faculté des Sciences, Université d'Angers Belle-Beille
2 boulevard Lavoisier - 49045 ANGERS thierry.lode@univ-angers.fr

La biodiversité peut s'appréhender à différentes échelles d'analyse mais le niveau le plus pertinent reste probablement celui de la population. Selon la définition de la biologie évolutive (MAYR, 1974), une espèce est constituée d'un ensemble de populations réellement ou potentiellement fécondes. Selon la formule de Hull, « les gènes subissent les mutations, l'individu est sélectionné et la population évolue ». La génétique de la conservation est une discipline croissante de l'écologie évolutive qui a renouvelé les problématiques de la sauvegarde des espèces. L'usage des marqueurs moléculaires caractérisant la structure génétique des populations est associé à des descripteurs écologiques pour mettre en évidence les grands traits d'histoire de vie des espèces.

Plus que tout autre taxon, c'est sur les Mammifères (15 %), et sur les Mustélidés en particulier (38 %), que pèsent les plus grandes menaces d'extinction spécifique (SCHREIBER et al., 1989). Ce phénomène est d'autant plus alarmant que les mustélidés sont des carnivores dont la prédation joue un rôle décisif dans la structuration des systèmes écologiques.

Fréquentant des habitats très diversifiés, les populations de Putois d'Europe *Mustela putorius* sont confrontées à des contraintes écologiques variées. L'espèce fréquente plus volontiers les marais, les boisements caducifoliés et les berges des cours d'eau, mais peut occuper une grande variété d'habitats depuis la steppe continentale aux zones périurbaines (BLANDFORD 1987 ; LODÉ, 1994). À partir d'une alimentation fondée sur l'alternance saisonnière de l'exploitation des Amphibiens et des Rongeurs, le Putois montre cependant un certain éclectisme dans ses choix alimentaires et peut compléter son régime de Lagomorphes, de charognes, de Reptiles et même de Poissons. L'ampleur de sa niche alimentaire témoigne principalement de l'ajustement des stratégies trophiques aux disponibilités de proies qui prévalent temporairement (LODÉ, 1997).

L'organisation sociale basée sur des moeurs très individualistes (LODÉ, 1993) réduit les échanges entre unités de populations et favorise leur diversification. Aussi, les différentes populations ne présentent pas une diversité génétique uniforme. Du point de vue de la biologie de la conservation, cette variabilité constitue un bon indice de l'état des populations et permet de déceler les pressions qui viennent encore altérer les flux de gènes, c'est-à-dire les stratégies de reproduction.

Les résultats d'une analyse génétique préliminaire de quelques échantillons prélevés sur des Putois d'Europe occupant le PNR du Morvan sont ici présentés et fournissent quelques éléments indicatifs sur l'état de la diversité génétique de ce Mustelidae dans cette région.

Tableau I. Caractéristiques génétiques des Putois *Mustela putorius* du Morvan.

Locus	Fréquences alléliques			Hétérozygotie		HW	
	A	B	C	Ho	Shannon I	G square	p =
Ada	0,550	0,450		0,100	0,688	8,14	0,004
G6pdh	0,312	0,688		0,125	0,621	4,89	0,027
Mdh 1	0,750		0,250	0,300	0,562	0,62	0,429
Me 1	0,750	0,250		0,100	0,562	5,90	0,015
Pgm 2	0,750	0,250		0,100	0,562	5,90	0,015
Pnp	0,750		0,250	0,300	0,562	0,62	0,429
Sdh	0,300	0,700		0,200	0,611	3,25	0,071
Tyr 1	0,889	0,111		0,000	0,349	7,67	0,006
	Hétérozygotie moyenne :			0,0322	0,119		



Méthodes

Pour favoriser les comparaisons entre espèces, les descripteurs génétiques utilisés sont principalement les variants allozymiques codant pour des gènes de structure. L'analyse repose sur l'électrophorèse des protéines sur gel d'amidon permettant de détecter les différents allozymes en considérant plusieurs loci à la fois. Des échantillons de tissus musculaires ont été prélevés chez chaque individu à partir de la collecte d'animaux victimes de collisions routières ($n=10$). Les extraits bruts de protéines sont macérés dans de l'eau distillée additionnée de solution tampon et centrifugés à 10 000 g durant 15 minutes à 4°C. Les électrophorèses sont menées sur un substrat en gel d'amidon purifié en utilisant trois systèmes de solutions tampons (Tris-citrate pH6, Tris-citrate pH8 et Tris-EDTA-borate pH8). Le gel tranché est ensuite révélé par réaction au substrat spécifique pour 27 enzymes codées par 40 gènes de structure en suivant les procédures décrites par PASTEUR et al. (1987), ROTHE (1994) et MURPHY et al. (1990). Les loci analysés avec succès sont Aat-1 et Aat-2 (E.C. 2.6.1.1), Aco-1 et Aco-2 (4.2.1.3), Ada (3.5.4.4), Ak (2.7.4.3), Ck-1 et Ck-2 (2.7.3.2), Ddh-1 et Ddh-2 (1.8.1.4), Est-1 et Est-2 (3.1.1.1), Fumh (4.2.1.2), Gly2dh (1.1.1.29), G6pdh (1.1.1.49), Gpi (5.3.1.9), Hk-1, Hk-2 et Hk-3 (2.7.1.1), Idh-1 et Idh-2 (1.1.1.42), Ldh-1 et Ldh-2 (1.1.1.27), Mdh-1 et Mdh-2 (1.1.1.37), Me-1 et Me-2 (1.1.1.40), Mpi (5.3.1.8), Pep-1 et Pep-2 (3.4.11.1), Pgdh (1.1.1.44), Pgm-2 (2.7.5.1), Pnp (2.4.2.1), Sdh (1.1.1.14), Sod (1.15.1.1), Tpi (5.3.1.1), Tyr1 et Tyr2 (1.14.18.1) et deux protéines non spécifiques. Pour chaque locus, les variants allozymiques sont numérotés selon la mobilité de leurs produits par rapport à l'anode. Les fréquences génotypiques pour chaque locus ont été estimées et testées à l'équilibre de Hardy Weinberg (Genetix, Genepop

3.1d et Popgen32). Le nombre effectif d'allèles est évalué selon la méthode proposée par KIMURA & CROW (1964) revue par NEI (1987). Les niveaux d'hétérozygotie observée (H_0) et théorique (H_E) (NEI, 1978) ont été estimés ainsi que le calcul d'identité génétique de Shannon et le calcul de déficience des hétérozygotes est basé sur l'indice FIS (WRIGHT, 1978).

Résultats

Les putois du Morvan montrent un taux de 21,05% de *loci* polymorphes au niveau 0,01 de signification pour 40 *loci* étudiés chez 10 individus. Le nombre effectif d'allèles atteint en moyenne 1,134 (sd 0,278) et varie de 1,00 (pep-2) à 1,98 (ada). Le locus Tyr-1 révèle un important déséquilibre pour les allèles rares dans ces populations (tableau I). Contrairement à ce que l'on trouve ailleurs, le locus Pep apparaît ici monomorphe.

La population est en déséquilibre d'Hardy Weinberg ($\chi^2=38,4$ df 16 $p<0,0013$) pour l'ensemble des *loci*. Les niveaux d'hétérozygotie restent faibles atteignant en moyenne $H_0=0,032$ (sd=0,078) alors que les niveaux théoriques sont estimés à $H_E=0,085$ révélant un déficit des hétérozygotes. L'homozygotie moyenne observée est de $H_m=0,968$ et l'hétérozygotie attendue 0,916.

Sans surprise, le calcul de l'indice FIS multi locus montre une forte déficience de l'hétérozygotie moyenne des populations avec $FIS=0,6318$. L'importance de cet indice indique que l'équilibre reproducteur est altéré par une fragmentation des populations. À l'échelle étudiée, ce morcellement signalé par l'indice FIS ne peut concerner que des sous-unités de très petite taille et révèle la perturbation des échanges reproducteurs.

Discussion

La variation génétique des Mustélidés résulte de faibles remaniements chromosomiques du type fusions robertsoniennes et de nombreuses espèces identifiées présentent des affinités systématiques. Dès le début des années 80, O'BRIEN a émis l'hypothèse que la faible diversité génétique des populations de Guépard devait affecter la survie de l'espèce et a montré qu'il existait une relation entre le bas niveau d'hétérozygotie, le faible polymorphisme et des altérations des spermatozoïdes. Cependant, à la même époque, on a déduit que les Mammifères et plus particulièrement les Mustélidés ne présentaient qu'une très faible variabilité génétique en se fondant presque uniquement sur les travaux de SIMONSEN (1982) qui n'avait observé aucune variabilité génétique au sein de 20 espèces de carnivores au Danemark.

Cette apparente absence de diversité génétique des populations a conduit MEROLA (1994) à remettre en cause les hypothèses d'O'BRIEN en utilisant l'argumentation d'une faible diversité génétique naturelle chez les populations de Carnivores et d'un artefact concernant les modifications spermatiques. Ce raisonnement a abouti à nier l'influence de l'hétérozygotie pour la conservation d'espèces.

Néanmoins, cette thèse a principalement reposé sur un ensemble d'erreurs et une mauvaise connaissance de la littérature. HARTL *et al.* (1988) puis MITTON & RAPHAEL (1990) avaient déjà pu découvrir d'importantes valeurs d'hétérozygotie chez l'Hermine, la Belette ou encore la Martre américaine. De même, les analyses effectuées chez le Putois d'Europe ont montré un polymorphisme atteignant 25,8 % et un niveau d'hétérozygotie de $H_0=0,057$ pour plus de 30 *loci* étudiés (LODÉ, 1998a). Ces variations sont donc très supérieures à ce qui avait été estimé. De plus, les faibles niveaux d'hétérozygotie découverts chez des espèces rares ou en déclin comme le Vison d'Europe (LODÉ, 1999) sont tout à fait conformes aux hypothèses que les mesures génétiques puissent constituer un témoin de l'état des populations. Chez le Putois, cette variabilité génétique est associée à la variabilité des contraintes écologiques auxquelles est confrontée l'espèce capable d'habiter une grande diversité d'habitats naturels (LODÉ, 1997).

Exploitant des habitats très diversifiés, les populations de Putois d'Europe ne présentent pas une diversité génétique uniforme. L'organisation sociale établie sur des moeurs territoriales et individualistes diminue les échanges entre sous-unités de populations. Énoncée par WRIGHT (1978) puis développée par MILLS & ALLENDORF (1997), la règle de 1 migrant par génération affirme que même un échange réduit de reproducteurs peut suffire à contrer la dérive génétique (LODÉ, 1998b). Cette assertion mathématique doit pourtant être nuancée dans les populations naturelles. Le comportement individualiste des Putois entraîne une répartition très discontinue des unités de populations. Les mâles et les femelles montrent une ségrégation spatio-temporelle de l'usage de l'espace et s'évitent le plus souvent (LODÉ, 1993 ; 1996). Cet individualisme constitue un avantage adaptatif pour une espèce exploitant jusqu'à l'épuisement des ressources éparpillées de manière contrastée dans un paysage hétérogène (LODÉ, 1994). Les Mustélidés sont individuellement dispersés sur de grands territoires et le piégeage continu auquel ils sont soumis perturbe à la fois les possibilités de déplacements et amoindrit sévèrement les effectifs. Les émigrants manifestent généralement un désavantage reproducteur, c'est-à-dire une fitness minimale.

En fait, les analyses montrent que les populations de Putois du Morvan présentent une forte fragmentation des ensembles populationnels. Ainsi, les caractéristiques génétiques et la faiblesse des niveaux d'hétérozygotie restent particulièrement remarquables, témoignant de la sensibilité des populations. Cette situation génétique peut résulter de l'occupation de milieux plutôt oligotrophes offrant des disponibilités trophiques plus dispersées. Mais, la faiblesse des niveaux d'hétérozygotie suggère aussi que les densités s'affaiblissent influençant considérablement l'effectif efficace.

La biodiversité ne se compose pas seulement d'espèces mais doit se lire à l'échelle de populations distinctes. Chaque population possède son histoire propre et se différencie par un patrimoine particulier. La mesure des indices de diversité génétique constitue un indicateur extrêmement précieux de la perturbation des échanges reproducteurs et du degré de morcellement des unités de populations. La déficience de degré d'hétérozygotie atteste clairement de l'isolement des populations fournissant un indice des menaces qui pèsent et altèrent la contribution reproductrice. Le maintien de la biodiversité génétique des populations de Putois d'Europe dans le Morvan constitue déjà un enjeu important en terme de biologie de la conservation.



Les animaux trouvés morts sur les routes après un choc avec une voiture sont une ressource malheureusement abondante pour les études génétiques. Ici un putois écrasé à Chaumard, au bord du lac de Pannecière.

Bibliographie

- BLANDFORD P.R.S. 1987. Biology of the Polecat *Mustela putorius* : a literature review. *Mammal Rev.* **17**: 155-198.
- HARTL G.B., WILLING R., GRILLITSCH M. & KLANSEK E. 1988. Biochemical variation in Mustelidae : are carnivores genetically less variable than other mammals. *Zoo. Anz.* **221**: 81-90.
- KIMURA M. & CROW J.F. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* **49**:725-738.
- LODÉ T. 1993. Stratégies d'utilisation de l'espace chez le Putois européen *Mustela putorius* L. dans l'ouest de la France. *Rev. Ecol.Terre Vie* **48**:305-322.
- LODÉ T. 1994. Environmental factors influencing habitat exploitation by the polecat *Mustela putorius* in western France. *J. Zool.*, London **234**:7588.
- LODÉ T. 1996. Conspecific tolerance and sexual segregation in European polecat. *Acta Theriol.* **41**:171-176.
- LODÉ T. 1997. Trophic status and feeding habits of the European Polecat *Mustela putorius* L., 1758. *Mammal Rev.* **27**: 177-184.
- LODÉ T. 1998a. Genetic heterozygosity in polecat *Mustela putorius* populations from western France. *Hereditas* **129**: 259-261.
- LODÉ T. 1998b. Cours de génétique des populations. Éd. Ellipses, Paris.
- LODÉ T. 1999. Genetic bottleneck in the threatened western population of European mink *Mustela lutreola*. *Ital. J. Zool.* **66**:351-353.
- MAYR E. 1963. Animal species and evolution. Harward Univ Press, Cambridge Mass.
- MEROLA M. 1994. A reassessment of homozygosity and the case for inbreeding depression in the Cheetah *Acinomyx jubatus* : implications for conservation. *Conserv. Biol.* **8**:961-971.
- MILLS L.S. & ALLENDORF F.W. 1997. The one-migrant-per-generation rule in conservation and management. *Conservation Biology*.
- MITTON J.B. & RAPHAEL M.G. 1990. Genetic variation in the marten, *Martes americana*. *J. Mammal.* **71**:195-197.
- MURPHY R.W., SITES J.W. & HAUFLE C.H. 1990. Proteins. I : Isozyme electrophoresis, p 45-126. In :
- HILLIS & MORITZ (éd.) *Molecular systematics*, Sinauer Press, Sunderland, MA.
- NEI M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* **89**: 583-590.
- NEI M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York.
- PASTEUR N., PASTEUR G., BONHOMME F., CATALAN J. & BRITTONDAVIDIAN J. 1987. Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines. Éd. Lavoisier, Paris.
- ROTHE G.M. 1994. *Electrophoresis of enzymes, laboratory methods*. Springer Verlag, London.
- SCHREIBER A., WIRTH M., RIFFEL, M. & ROMPAEY H. 1989. Weasels, Civets, Mongooses and their relatives. An action plan for the conservation of mustelids and Viverrids. IUCN & NR, Gland.
- SIMONSEN V. 1982. Electrophoretic variation in large mammals. II. The red fox, *Vulpes vulpes*, the stoat, *Mustela ermina*, the weasel, *Mustela nivalis*, the pole cat, *Mustela putorius*, the pine marten, *Martes martes*, the beech marten, *Martes foina*, and the badger, *Meles meles*. *Hereditas* **96**:299-305.
- WRIGHT, S. 1978. *Evolution of the genetics of populations*. Univ. Chicago Press, Chicago.

Remerciements

Cette étude n'aurait pu avoir lieu sans la collaboration de D. SIRUGUE et l'aide de D. LE JACQUES. Le site du laboratoire est <http://sciences.univ-angers.fr/ecologie>