

Génétique des populations et biologie de la conservation du Grand rhinolophe.

Par **Orianne Tournayre**
(orianne.tournayre@supagro.fr)



Cet article est extrait de la publication TOURNAYRE, O., PONS, J.-B., LEUCHTMANN, M., LOISEAU, A., LEBLOIS, R., PIRY, S., FILIPPI-CODACIONNI, O., DUHAYER, J., GARIN, I., MATHEWS, F., PUECHMAILLE, S., CHARBONNEL, N., PONTIER, D. 2019. Integrating population genetics to define conservation units from the core to the edge of *Rhinolophus ferrumequinum* Western range. <https://doi.org/10.1101/662643>

Résumé

Dans cette étude nous avons utilisé une approche de génétique des populations pour déterminer la diversité et la structure génétique ainsi que l'histoire démographique des populations du Grand rhinolophe (*Rhinolophus ferrumequinum*) dans l'Ouest de son aire de répartition. Nous avons mis en évidence une unique grande population à forte diversité génétique couvrant la France et le Pays basque espagnol, et de plus petites populations à moindre diversité génétique en périphérie de l'aire de répartition, en Angleterre et au Nord de la France. L'effectif de l'ensemble des populations identifiées est historiquement stable, voire en expansion pour la colonie Tunisienne. Nos résultats soulignent l'importance des collaborations nationales et internationales pour la conservation

du Grand rhinolophe - les frontières administratives régionales ne correspondant pas à la réalité biologique du fonctionnement des populations.

Introduction

Le Grand rhinolophe est une espèce de chiroptère insectivore particulièrement exigeante vis-à-vis de la configuration du paysage dans lequel elle se déplace. Sa feuille nasale concentre les ultrasons de hautes fréquences (environ 80 kHz) qu'il émet en un faisceau très étroit ce qui lui permet de détecter des détails très fins. Cette particularité lui confère de grands avantages pour la chasse, mais les hautes

fréquences s'atténuant rapidement dans l'air, le Grand rhinolophe possède une courte distance de détection, de l'ordre d'une dizaine de mètres. Il semble donc avoir besoin d'évoluer dans un paysage hétérogène et structuré, comme les bocages (champs ou prairies clos par des haies) où il utilise des points de repères pour se déplacer. PINAUD *et al.* (2018) ont ainsi récemment montré que le Grand rhinolophe ne franchissait pas une trouée de plus de 50 mètres durant ses activités de chasse. Un paysage tel qu'une grande zone agricole sans repères ou de grandes infrastructures de transport pourraient donc constituer des barrières à ses déplacements et engendrer un isolement des colonies. Les individus de différentes colonies ne pouvant plus se rencontrer et se

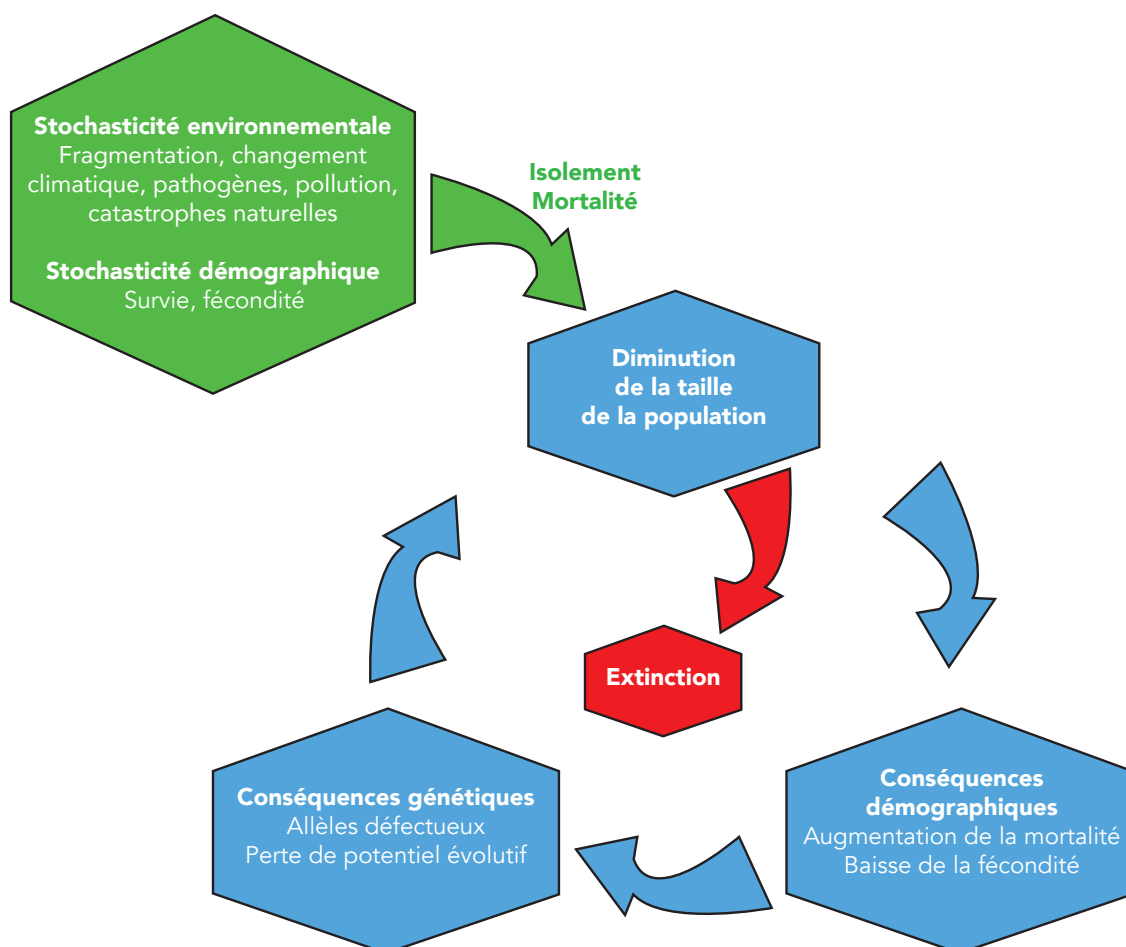


Figure 1.

Causes et conséquences principales de l'extinction des espèces. D'après la spirale d'extinction de GILPIN & SOULÉ (1986).

reproduire à cause de ces barrières, chaque colonie va constituer une population, plus petite que la population initiale. Or la taille de la population est un facteur primordial de la pérennité d'une population car plus elle diminue, plus le risque d'extinction augmente (FRANKHAM 1996 ; GILPIN & SOULÉ 1986) : c'est ce qu'on appelle le vortex d'extinction (**Figure 1**).

Une conséquence négative majeure est la perte de diversité génétique. Une perte de diversité génétique implique un risque plus élevé pour les nouveau-nés de recevoir des allèles récessifs délétères et ce risque est d'autant plus élevé lorsque la taille de la population est tellement réduite que les individus ne peuvent se reproduire qu'entre apparentés (consanguinité). Cela peut engendrer une baisse de fécondité ou/et une augmentation de la mortalité des juvéniles (KELLER & WALLER 2002). De plus, une perte de diversité génétique engendre une baisse, voire une disparition, du potentiel adaptatif nécessaire pour faire face aux changements globaux (FRANKHAM 2005). Il est donc essentiel d'identifier la structure génétique des populations, de déterminer leur diversité génétique et d'étudier leur

connectivité pour pouvoir mettre en place des programmes de conservation adaptés aux différents niveaux de vulnérabilité des populations. Les effectifs du Grand rhinolophe sont hétérogènes en France, avec une concentration importante dans l'Ouest de la France (Bretagne, Pays de la Loire, Centre-Val-de-Loire, Nouvelle-Aquitaine) qui regroupe 46 % des effectifs hivernaux et 37 % des effectifs estivaux (SFEPM 2014). La région Nouvelle-Aquitaine accueille ainsi l'une des plus importantes populations hibernantes (16200 individus, 22 % des effectifs nationaux) et estivantes (7400 individus, 15 % des effectifs nationaux) de France. Cette région porte donc une responsabilité importante dans la conservation du Grand rhinolophe à l'échelle nationale.

Dans ce contexte, l'objectif de notre étude est de mieux comprendre le fonctionnement de cette population en apportant des éléments sur (i) la santé génétique des colonies : quelle est la diversité génétique des colonies ? Trouve-t-on des signatures de consanguinité ? (ii) la connectivité des colonies : certaines colonies sont-elles isolées ? Si oui quelles sont les barrières

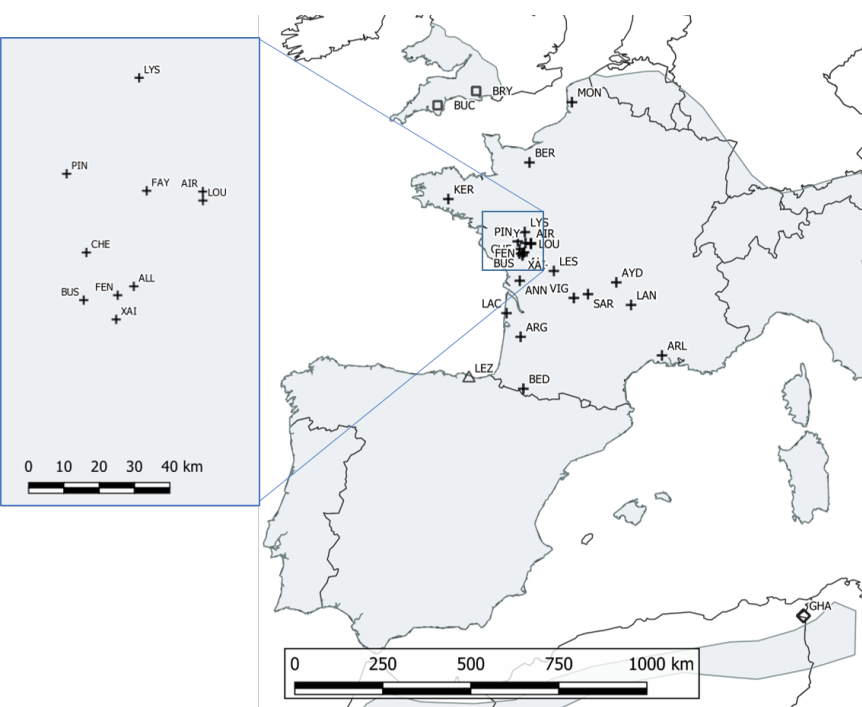


Figure 2.

Carte des colonies échantillonnées pour l'étude. L'aire de répartition du Grand rhinolophe est représentée en gris (IUCN, 2016). Chaque colonie est nommée par un code : Bryanston (BRY), Buckfastleigh (BUC), Montréuil-sur-mer (MON), Kernascleden (KER), Lys-Haut-Layon (LYS), Allonne (ALL), Le Busseau (BUS), Le Pin (PIN), La Chapelle-Saint-Etienne (CHE), Xaintray (XAI), Airvault (AIR), Saint-Loup-sur-Thouet (LOU), Faye l'Abesse (FAY), Fenioux (FEN), Lessac (LES), Annepont (ANN), Sarran (SAR), Vignols (VIG), Aydat (AYD), Langeac (LAN), Lacanau (LAC), Argelouse (ARG), Arles (ARL), Bedous (BED), Lezate (LEZ), GHA. Les symboles (croix, carré, triangle, losange) indiquent le pays d'échantillonnage.

aux déplacements des individus ? (iii) la taille des populations : quelle est la « taille génétique » (aussi appelée « taille efficace ») des populations de Grand rhinolophe ? Détecte-t-on des signatures de déclin ou d'expansion récents dans les données génétiques ? Ces éléments permettront d'apporter des informations pertinentes en terme de conservation des populations de Grand rhinolophe sur le territoire français.

Matériel et méthodes

Nous avons utilisé 864 prélèvements de patagium de Grand rhinolophe (**Encadré 1**) collectés dans 24 colonies de maternité en France (partenaires associatifs, LabEx Ecofect et LBBE, été 2016 à 2018), 28 d'une colonie de maternité du Pays Basque espagnol (INAZIO GARIN, 2012), 36 de deux colonies de maternité anglaises (FIONA MATHEWS, été 2018) et 22 d'une colonie de maternité tunisienne (SÉBASTIEN PUECHMAILLE, été 2012) (**Figure 2**).

Encadré 1 Choix du matériel biologique pour des analyses de génétique des populations de chiroptères.



Guano

ou

Patagium



?

Image chiroptère : pixabay.com

Bien que la cicatrisation soit rapide et ne mette pas en danger l'animal, l'utilisation de patagium pour les analyses de génétique est parfois controversée car elle nécessite la capture de l'individu ce qui lui induit du stress. Une méthode alternative consiste à travailler sur du guano collecté sous la colonie lorsque les individus sont sortis pour chasser. Cependant l'utilisation du guano possède de nombreux points faibles par rapport à l'utilisation du patagium. Tout d'abord, l'ADN de chauve-souris contenu dans le guano est dégradé à cause de son environnement (humidité, UV, champignons, ...). Pour éviter tout biais dû à cette dégradation, chaque échantillon doit être analysé trois fois a minima. De plus, comme il est impossible de distinguer si les guanos proviennent du même individu, il faut collecter et analyser beaucoup d'échantillons pour être sûr d'avoir échantillonné assez d'individus différents. L'utilisation de guano ne permet pas de savoir l'âge et la condition corporelle des individus, et connaître le sexe nécessite l'utilisation de marqueurs particuliers. Pour l'ensemble de ces raisons, le coût et le temps des analyses sont grandement augmentés. Ainsi, bien que très prometteuse, l'utilisation de guano reste encore limitée par rapport au patagium et dépend fortement des questions posées, du modèle étudié, du temps et du budget disponible.

Résultats

(i) - Diversité génétique, consanguinité et apparentements

Nos résultats montrent que la diversité génétique est élevée et homogène au Pays Basque espagnol et en France, à l'exception de la colonie de Montreuil-sur-Mer ('MON', Pas-de-Calais) où la diversité génétique est plus faible. Nous observons également que le niveau de diversité génétique des colonies anglaises et tunisiennes est plus faible que celui détecté sur les colonies continentales (**Figure 3**).

De plus, nous n'avons pas détecté de signature significative de consanguinité au sein des colonies étudiées.

Enfin, l'analyse de la distribution du coefficient d'apparentement r intra-colonie montre que chaque colonie est composée en très grande majorité d'individus non-apparentés ($r = 0$, **Figure 4**) et d'une proportion décroissante d'individus apparentés. Seule la colonie du Pas-de-Calais à Montreuil-sur-Mer ('MON') montre une proportion uniforme d'individus apparentés et non-apparentés (**Figure 4**).

Le coefficient d'apparentement r entre individus de colonies différentes nous indique de forts apparentements ($r > 0.5$) entre colonies éloignées de 2 à 861 km (**Figure 5**). Ces forts apparentements impliquent 537 femelles, 33 mâles et un individu dont le sexe n'a pas été déterminé. La majorité des femelles impliquées sont adultes (474 adultes, 59 juvéniles et 4 indéterminées), ce qui n'est pas le cas pour les mâles (12 adultes, 19 juvéniles, deux indéterminés).

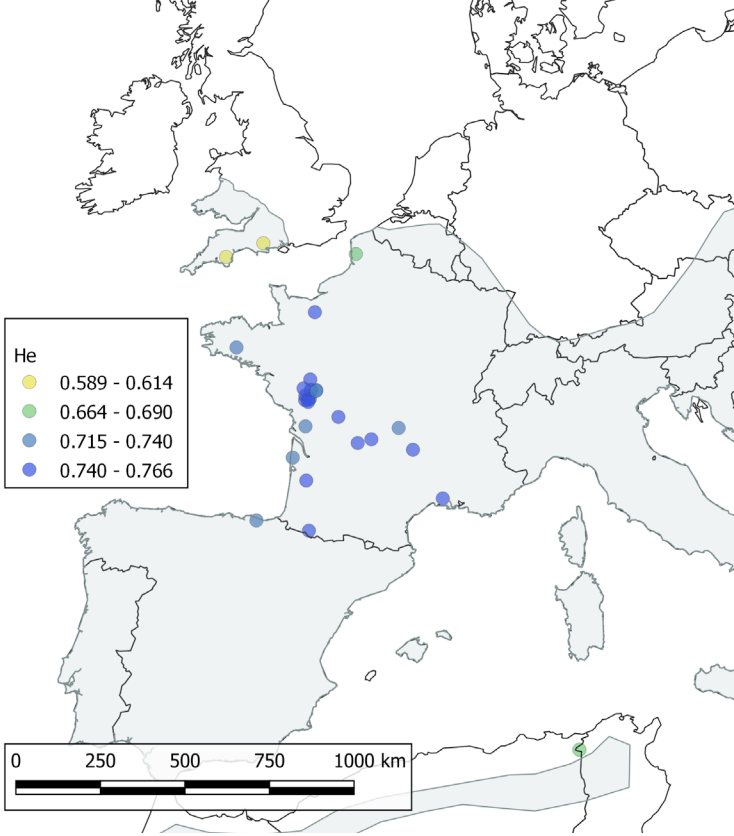


Figure 3

Estimation de la diversité génétique (indice d'hétérozygotie H_e) dans chaque colonie échantillonnée. L'aire de distribution du Grand rhinolophe d'après les données de l'UICN (2016) est représentée en gris.

Cet échantillonnage en cercles croissants permet de décrire la diversité et la structure génétique des populations de Grand rhinolophe à différentes échelles, locale, régionale et internationale, et d'inclure de potentielles barrières géographiques aux mouvements (zones agricoles, autoroutes, fleuve, montagne, mer).

Les chauves-souris ont été capturées à l'aide d'un « Harp-Trap », puis placées dans un sac de contention avant d'être identifiées, pesées, sexées, mesurées puis relâchées. L'échantillonnage comprend un individu dont le sexe et l'âge n'ont pas été reportés, 887 femelles (789 adultes, 91 juvéniles, sept dont l'âge n'a pas été déterminé), et 62 mâles (19 adultes, 39 juvéniles et quatre dont l'âge n'a pas été déterminé).

(ii) - Analyses démographiques

Nous n'avons pas détecté de changement démographique (déclin ou expansion) significatif dans les colonies étudiées de France et d'Angleterre. Ceci indique que les effectifs « génétiques » de ces colonies peuvent être considérés comme stables. Nous avons pu estimer les tailles génétiques de ces colonies, ce qui a révélé des « tailles efficaces » environ deux fois plus faibles en Angleterre et dans la colonie du Nord de la France (Montreuil-sur-Mer, 'MON') que sur le continent.

Nous avons mis en évidence une signature d'expansion démographique significative dans la colonie Tunisienne ('GHA'). Nous n'avons pas pu dater cette expansion par manque de puissance statistique car l'intervalle de confiance estimé varie de 1 à 11 000 générations, c'est-à-dire de quelques années au dernier maximum glaciaire environ.

(iii) - Différenciation génétique entre colonies

Nos résultats montrent l'existence de trois groupes génétiques : (i) les colonies de France et du Pays Basque espagnol (appelées 'continentales' par la suite), (ii) les colonies anglaises et (iii) la colonie tunisienne. La différenciation génétique (FST) entre les colonies anglaises, tunisiennes et les colonies continentales est très élevée (FST Angleterre- continent $\approx 10\%$, FST Tunisie-continent $\approx 12\%$).

La différenciation génétique est faible sur le continent (indices de différenciation FST inférieurs à 3%). Seule la colonie 'MON' (Montreuil-sur-Mer, Pas-de-Calais) montre une différenciation génétique forte avec les autres colonies continentales ($3.49\% < FST < 6.46\%$). Cette différenciation entre 'MON' et les autres colonies de France est aussi élevée que la différenciation

génétique observée entre les colonies d'Angleterre ($FST = 5.4\%$).

Nous avons réalisé une estimation plus fine des taux de migration génétique (mouvements ayant conduit à la reproduction d'individus provenant de

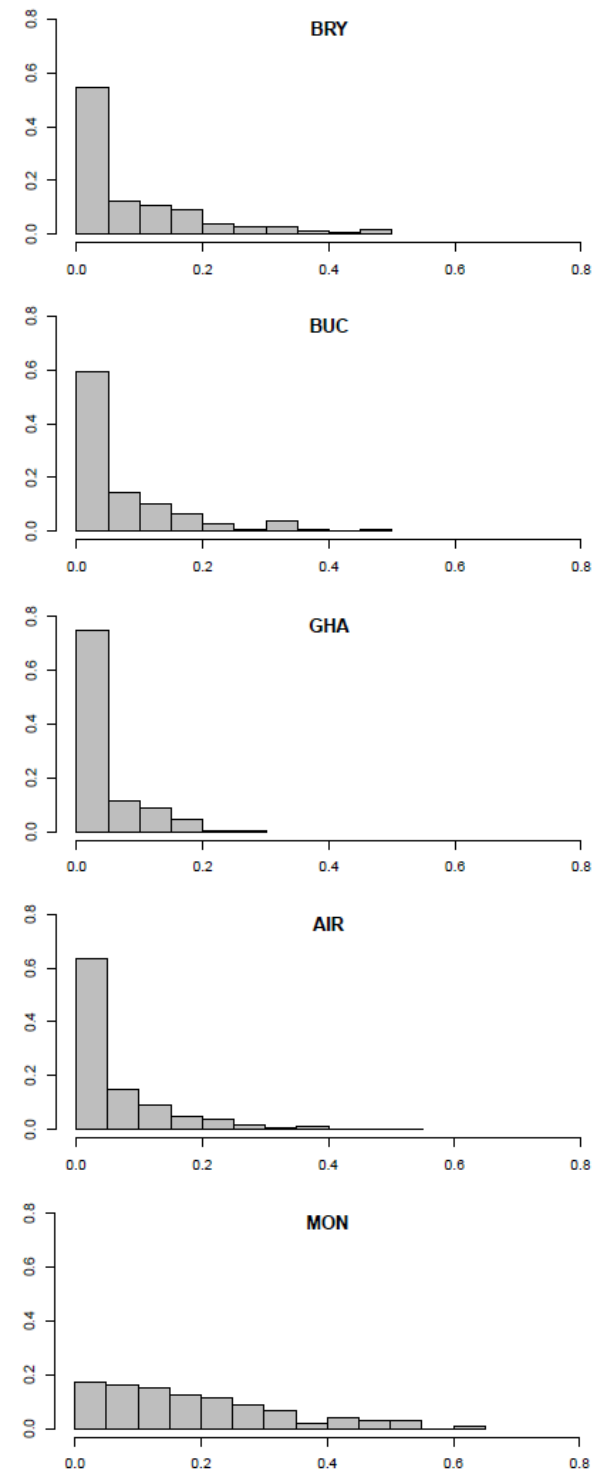


Figure 4

Distribution du degré d'apparentement r au sein de colonies françaises ('AIR', 'MON'), anglaises ('BRY', 'BUC') et tunisienne ('GHA').

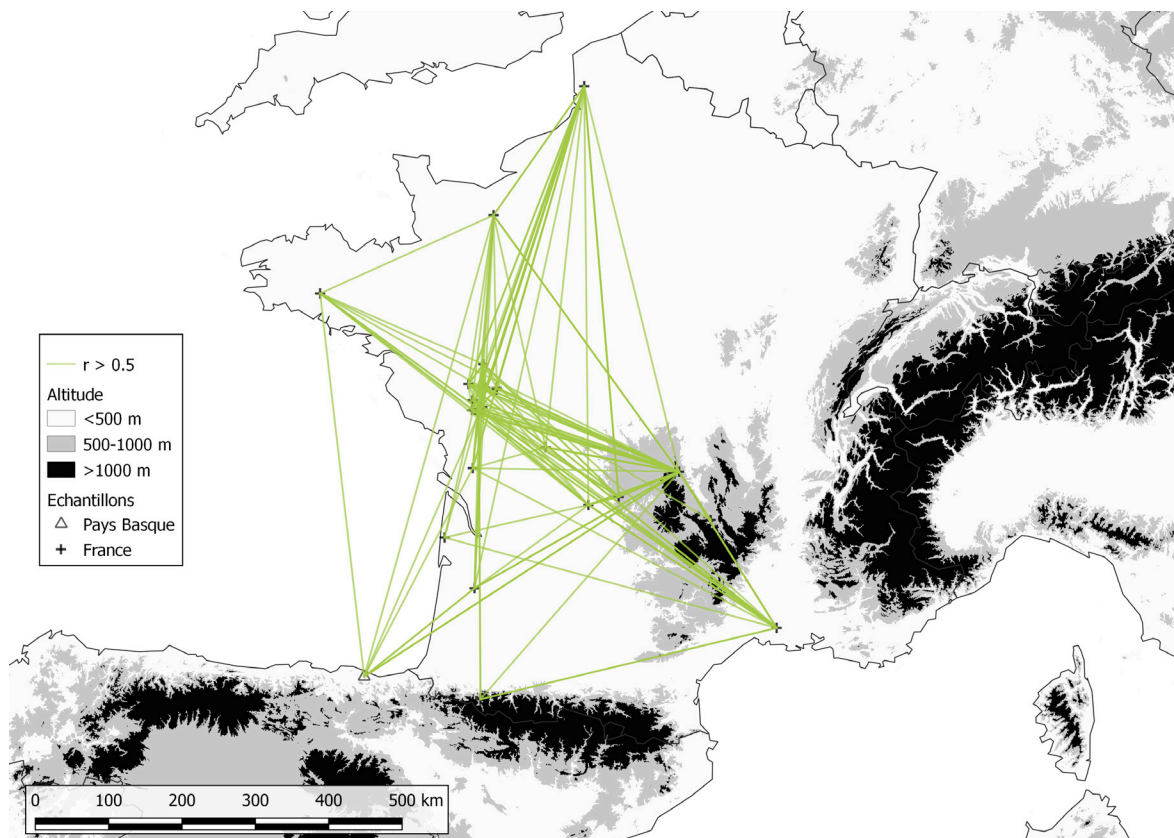


Figure 5
 Distribution géographique des fortes valeurs du coefficient d'apparentement r ($r > 0.5$) entre individus de colonies françaises et de la colonie basque espagnole.

colonies différentes). Cette analyse a révélé l'absence de migration génétique entre les trois groupes précédemment déterminés (Continent, Angleterre, Tunisie), et des événements de migration génétique unidirectionnels au sein du continent. La reproduction entre individus de colonies différentes semble se produire entre Grands rhinolophes migrant de la France vers le Pays Basque espagnol ('LEZ') ou des colonies françaises vers celle de Montreuil-sur-Mer ('MON') (Figure 6).

Discussion

Notre étude a révélé que les colonies de Grand rhinolophe échantillonnées en France et au Sud-Ouest des Pyrénées (Pays Basque espagnol) forment une unique et large population, malgré

les différentes potentielles barrières paysagères présentes (fleuve, montagne, fragmentation des surfaces boisées). Cette population est délimitée au nord par la Manche et très probablement au sud par la Mer Méditerranée, bien qu'un passage par le détroit de Gibraltar ne puisse pas être totalement exclu. Cette population montre une bonne santé génétique car la diversité génétique y est élevée et aucune signature de consanguinité n'y est observée, ce qui permet d'écartier un risque d'extinction dû à des phénomènes génétiques. Des échantillons dans l'Est de la France et pays limitrophes sont requis pour identifier la limite est de cette population, et pour déterminer si les massifs montagneux que l'on y rencontre (Vosges, Alpes, etc.) jouent un rôle de barrière avec les autres populations de l'Europe continentale. Grâce à ces résultats d'analyses génétiques

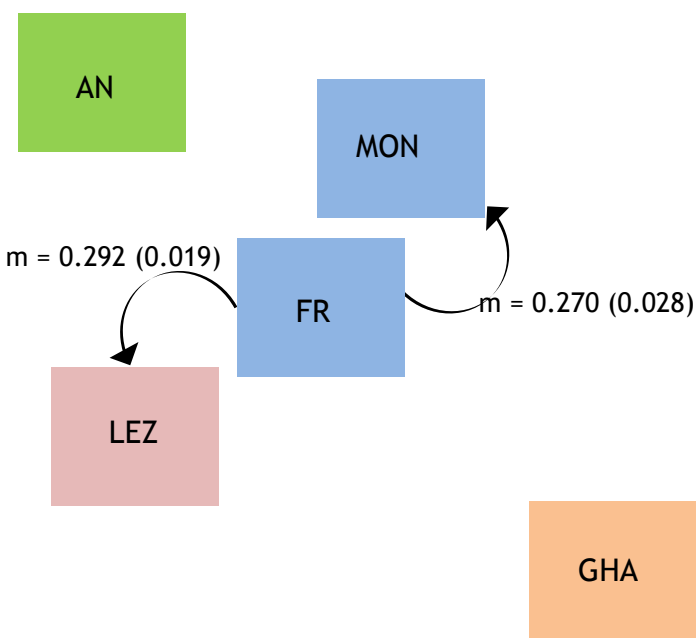


Figure 6

Taux de migration génétique entre les deux colonies d'Angleterre (AN), la colonie du Pays Basque espagnol (LEZ), la colonie de Tunisie (GHA), la colonie française de Montreuil-sur-Mer (MON) et les autres colonies de France (FR). Seuls les taux de migration génétiques significativement différents de zéro sont représentés. Les flèches indiquent la direction de la migration et « m » indique la valeur du taux de migration génétique et son écart-type entre parenthèses.

et aux analyses préliminaires des données de captures-recaptures des Grands rhinolopes transpondés en Nouvelle-Aquitaine et régions limitrophes, nous savons désormais que juvéniles, adultes, mâles et femelles se déplacent sur de longues distances au sein de cette région et dans les régions voisines (M. LEUCHTMANN & O. FILIPPI-CODACCIONI, 2019, comm.pers.). Ce résultat peut sembler contradictoire avec les précédentes données de PINAUD *et al.* (2018) qui montraient à l'échelle de la colonie une forte diminution de la probabilité de déplacement du Grand rhinolophe face à des ruptures de la connectivité paysagère – suggérant que les modalités de déplacement diffèrent selon les activités (chasse, reproduction, etc.). Ainsi, le Grand rhinolophe prendrait plus de risque face aux absences de « repères paysagers » structurants lors de ses grands déplacements inter-saisonniers que lors de ses déplacements vers ses terrains de chasse autour de la colonie. Toutefois, notre échantillonnage ne permet pas de tester l'hypothèse selon laquelle les Pyrénées constituent une barrière aux flux de gènes, du fait de l'utilisation possible de corridors sur les côtes Atlantiques et Méditerranéennes. Un meilleur échantillonnage de part et d'autre des Pyrénées permettrait d'obtenir

des éléments de réponse.

D'un point de vue démographique, nous avons montré que la taille génétique de cette population continentale Franco-Basque est stable. Cependant il est très délicat de convertir la « taille génétique efficace » en nombre total d'individus adultes du fait de nombreux biais (LUIKART *et al.*, 2010; VONHOF *et al.*, 2008). Selon les paramètres utilisés, nos estimations varieraient entre 4135 et 41352 individus adultes. Celles-ci sont inférieures aux estimations réalisées en période estivale en France – 47600 individus mais en prenant en compte adultes et juvéniles (VINCENT S. (Coord.), 2014). L'approche génétique est donc complémentaire de celle des suivis par comptage des individus et colonies et l'une ne peut pas se substituer à l'autre. Ainsi, nos résultats soulignent l'importance d'approfondir les connaissances sur la délimitation des populations du Grand rhinolophe, et plus généralement des chauves-souris, car celles-ci ne suivent pas les frontières administratives et leur conservation peut nécessiter des collaborations inter-régionales voire internationales. De plus, nous avons montré que la colonie du Pas-de-Calais Montreuil-sur-mer ('MON') - bien qu'intégrée dans la grande population continentale - possède un fonctionnement particulier. Sa diversité

génétique plus faible, sa différenciation génétique plus élevée et son niveau d'apparentement intra-colonie plus fort suggèrent que cette colonie est plus petite, plus isolée et donc plus vulnérable. Cette situation pourrait être due à un manque d'habitats favorables aux alentours de la colonie, et/ou à sa situation en limite d'aire de répartition de l'espèce (ECKERT *et al.*, 2008). Cette colonie nécessite donc une attention particulière en termes de conservation et l'étude des relations entre les colonies proches de 'MON' serait une piste intéressante à creuser.

Ces résultats montrent à nouveau l'importance de poursuivre les suivis des colonies à l'échelle locale. En effet, bien que la grande population soit stable grâce à la forte connectivité entre les colonies, on ne peut pas exclure que localement certaines colonies particulières soient vulnérables, d'autant plus avec la pression croissante des activités humaines et le changement climatique. Il nous paraît donc important de bien comprendre le fonctionnement de ces colonies isolées pour anticiper les mesures de conservation du Grand rhinolophe.

Bibliographie

ECKERT, C.G., SAMIS, K.E., LOUGHEED, S.C., 2008. Genetic variation across species' geographical ranges: the central–marginal hypothesis and beyond. *Molecular Ecology* 17, 1170–1188. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03659.x>

FRANKHAM, R., 2005. Genetics and extinction. *Biological Conservation* 126, 131–140. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.05.002>

FRANKHAM, R., 1996. Relationship of Genetic Variation to Population Size in Wildlife. *Conservation Biology* 10, 1500–1508. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1996.10061500.x>

GILPIN, M.E., SOULÉ, M.E., 1986. Conservation biology: the science of scarcity and diversity. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.

KELLER, L.F., WALLER, D.M., 2002. Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology & Evolution* 17, 230–241. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(02\)02489-8](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(02)02489-8)

LUIKART, G., RYMAN, N., TALLMON, D.A., SCHWARTZ, M.K., ALLENDORF, F.W., 2010. Estimation of census and effective population sizes: the increasing usefulness of DNA-based approaches. *Conserv Genet* 11, 355–373. <https://doi.org/10.1007/s10592-010-0050-7>

PINAUD, D., CLAIREAU, F., LEUCHTMANN, M., KERBIRIOU, C., 2018. Modelling landscape connectivity for greater horseshoe bat using an empirical quantification of resistance. *Journal of Applied Ecology* 0. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13228>

VINCENT S. (COORD.), 2014. Chiroptères de l'annexe II de la Directive Habitats-

Faune-Flore. Synthèse actualisée des populations en France – Bilan 2014. https://www.sfepm.org/pdf/poster_synt_eff_chiros_bourges_2014_maj_A3.pdf

VONHOF, M.J., STROBECK, C., FENTON, M.B., 2008. Genetic Variation and Population Structure in Big Brown Bats (*Eptesicus fuscus*): Is Female Dispersal Important? *Journal of Mammalogy* 89, 1411–1420. <https://doi.org/10.1644/08-MAMM-S-062.1>

Pour citer cet article :

TOURNAYRE O. 2019.

Génétique des populations et biologie de la conservation du Grand Rhinolophe.

Pour télécharger tous les articles de Plume de Naturalistes: www.plume-de-naturalistes.fr

ISSN 2607-0510

Remerciements

Ce projet initié par l'Université de Lyon (LabEx ECOFECT) et Poitou-Charentes Nature repose sur l'implication de nombreux bénévoles et associations qui ont permis l'élargissement géographique de l'échantillonnage organisé et réalisé par l'Université de Lyon et les associations membre de Poitou-Charentes Nature (Deux-Sèvres Nature-Environnement, Nature-Environnement 17, Charente Nature, Vienne Nature, LPO France) et le CREN Poitou-Charentes. Les autres associations sont : Groupe Chiroptères des Pays-de-la-Loire, Groupe Chiroptères Aquitaine, Groupe Chiroptères du Groupe Mammalogique et Herpétologique du Limousin, Chauves-Souris Auvergne, Groupe Chiroptères de Provence, Groupe Mammalogique Normand, Amikiro, Coordination Mammalogique du Nord de la France.

La capture des chauves-souris sur le terrain et les prélèvements biologiques sont réalisés dans le cadre du projet Feder "Grand rhinolophe et trame

verte bocagère : étude des facteurs environnementaux influant sur la dynamique des populations" porté par Poitou-Charentes Nature et le Labex EcOFECT.

Ce travail a été financé par le LabEx ECOFECT (ANR-11-LABX-0048) de l'Université de Lyon via le programme "Investissements d'Avenir" (ANR-11-IDEX-0007) opéré par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR), un financement interne du Centre de Biologie pour la Gestion des Populations et a reçu un soutien financier de la région Nouvelle-Aquitaine et de la DREAL Nouvelle Aquitaine. Ce travail est issu de la thèse d'Orianne Tournayre financée par le LabEx CeMEB (ANR «Investissements d'Avenir» program ANR-10-LABX-04-01) et co-encadrée par N. Charbonnel et D. Pontier.

Les données de génotypage obtenues dans cette étude ont été produites grâce aux installations du LabEx Centre Méditerranéen Environnement Biodiversité (LabExCeMEB, plateforme GenSeq). Les analyses ont été réalisées sur la plateforme de calcul CBGP HPC et sur la plateforme de calcul Genotoul.