

## Impact du paysage et des activités humaines sur la structuration génétique du chat forestier (*Felis silvestris*) en Wallonie et au Luxembourg

**Auteur :** Attaque, Alix

**Promoteur(s) :** Michaux, Johan; Plumier, Jean-Christophe; 8912

**Faculté :** Faculté des Sciences

**Diplôme :** Master en biologie des organismes et écologie, à finalité spécialisée en biologie de la conservation : biodiversité et gestion

**Année académique :** 2019-2020

**URI/URL :** <http://hdl.handle.net/2268.2/9851>

---

### Avertissement à l'attention des usagers :

*Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.*

*Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.*

---

# IMPACT DU PAYSAGE ET DES ACTIVITÉS HUMAINES SUR LA STRUCTURATION GÉNÉTIQUE DU CHAT FORESTIER (*FELIS SILVESTRIS*) EN WALLONIE ET AU LUXEMBOURG

Mémoire de fin d'études présenté par **Alix Attaque**  
en vue de l'obtention du grade de **Master en Biologie**  
**de la Conservation : Biodiversité et Gestion**



©Philippe Moës

**Septembre 2020**

GeCoLab, laboratoire de génétique de la conservation

Promoteur : **Johan Michaux**

Co-promoteur : **Jean-Christophe Plumier**

Encadrant externe : **Corentin Rousseau**

# REMERCIEMENTS

---

Je tiens tout d'abord à remercier mon promoteur, Johan Michaux pour m'avoir donné l'opportunité de travailler sur ce sujet. Etant une grande passionnée de félins, je n'aurais pas pu rêver mieux. Merci de m'avoir permis d'intégrer cette super équipe au sein du labo, merci pour les conseils, corrections et gentils commentaires qui m'ont permis de rester motivée tout au long de ce travail.

Une grande partie de ma gratitude au terme de ce mémoire va vers Lise-Marie Pigneur, merci mille fois d'avoir été si disponible, de m'avoir tout expliqué et de m'avoir accompagnée dans chaque étape de mon travail. Je n'aurais jamais pu m'en sortir sans ton aide ! Merci pour tes commentaires positifs qui ont su me conforter dans ce que je faisais et me motiver à avancer.

Un grand merci également à Corentin Rousseau d'avoir lancé ce projet d'étude génétique du chat forestier en Belgique, merci pour ta gentillesse, ta patience et tes conseils !

Je remercie les membres du WWF-Belgium et du DNF d'avoir récolté les précieux échantillons wallons qui ont permis la réalisation de ce mémoire. Je remercie également les agents du DNF qui ont accepté de répondre à mon questionnaire. Merci aux personnes du Luxembourg pour leur suivi de l'espèce depuis plusieurs années et pour les échantillons que j'ai pu étudier dans mon mémoire.

Merci à tous les membres du labo, Alice, Damien, Adrien, Chloé et à mes chères co-mémorantes Lise et Coline pour la constante bonne ambiance au B22. Dommage que notre temps ensemble ait été réduit par le confinement...

Merci à Alain Frantz de nous avoir aidé avec tant d'enthousiasme pour la partie génétique du paysage et pour ses rapides réponses à mes questions.

Merci aux p'tits chats qui se sont frottés sur les pièges à poils.

Merci à mes copines géniales de biologie qui m'accompagnent depuis le bloc 0 avec qui j'ai vécu tous les hauts et les bas de ces études, du stress des exams aux joies des stages. Merci aussi à mes amis de BCBG pour ces supers souvenirs de Roumanie et ces derniers mois de cours.

Merci à ma chère Fanette pour ces 3 merveilleuses années de colocation et ces milliers de conversations interminables et essentielles à mon moral.

Merci à Robin d'être toujours aussi rassurant et encourageant quand je perds confiance en moi, merci de me rendre chaque jour un peu plus heureuse et merci de me rappeler d'aller prendre l'air quand je reste enfermée des jours.

Pour finir (le meilleur pour la fin comme on dit), un immense merci à mes parents qui me soutiennent depuis toujours dans toutes mes décisions, merci pour votre amour, votre confiance, je vous dois toutes les bonnes choses qui sont arrivées dans ma vie. Merci également à mon beau-père pour le grand intérêt qu'il porte toujours à ce que j'entreprends et pour sa confiance en moi.

## RESUME

---

Le chat forestier (*Felis silvestris*), après avoir subi un important déclin au 19<sup>ème</sup> siècle, semble être actuellement en expansion dans certains pays. L'espèce reste toutefois vulnérable à plusieurs menaces liées à l'activité humaine. En effet, l'omniprésence de l'homme dans le paysage européen provoque une perte et une fragmentation de l'habitat du chat forestier, isolant ainsi des noyaux de population où la diversité génétique finira par diminuer. Cette proximité accrue avec les constructions anthropiques engendre un second problème : l'hybridation avec le chat domestique (*Felis catus*). Dans cette étude, nous cherchions à approfondir les connaissances concernant l'ampleur de ces menaces dans deux pays : la Belgique (Wallonie) et le Luxembourg. Pour ce faire, nous avons récolté des échantillons de poils grâce à des pièges à poils enduits de teinture de valériane. Ceux-ci ont ensuite été analysés à l'aide de la méthode SNP. Nous avons utilisé 96 SNPs sélectionnés spécifiquement pour le chat forestier et pour ce type d'analyse. Un des objectifs principaux était de vérifier la présence d'hybrides. Nous avons calculé un taux d'hybridation de 6% ( $N = 63$ ) en Wallonie (principalement la province de Liège) et de 8% ( $N = 117$ ) au Luxembourg. Ces taux relativement bas concordent avec les résultats de récentes études sur le sujet dans l'ouest de l'Europe. Nous avons également mis en évidence l'existence de deux groupes génétiques distincts au sein des chats forestiers dont nous ne connaissons pas encore l'origine. La faible différenciation génétique ( $D_{Jost} = 0.005$ ) entre ces groupes nous incite à penser qu'ils appartiennent effectivement à une même grande population d'Europe centrale occidentale. En analysant les coefficients de consanguinité, nous avons constaté un risque de dépression de consanguinité plus élevé en Wallonie ( $F_{IS} = 0.32$ ) qu'au Luxembourg ( $F_{IS} = 0.07$ ). Il convient de rester prudent quant à l'interprétation de ces résultats car les méthodes d'échantillonnage diffèrent dans les deux pays. Nous n'excluons pas la possibilité d'un biais d'échantillonnage en Wallonie. Le second objectif principal, centré sur le Luxembourg, consistait à identifier les éléments du paysage qui impactaient la connectivité des chats forestiers par une approche de génétique du paysage. Nous avons observé que les forêts et zones agricoles jouaient un rôle de corridor, tandis que les autoroutes et zones urbaines étaient des obstacles au flux génétique de l'espèce.

## ABSTRACT

---

The European wildcat (*Felis silvestris*), after having suffered a significant decline in the 19th century, seems to be currently expanding in some countries. However, the species remains vulnerable to several threats related to human activity. Indeed, the omnipresence of man in the European landscape is causing a loss and fragmentation of the European wildcat's habitat, thus isolating small populations where genetic diversity will eventually decrease. This increased proximity to man-made constructions creates a second problem: hybridization with the domestic cat (*Felis catus*). In this study, we wanted to improve our knowledge of the extent of these threats in two countries: Belgium (Wallonia) and Luxembourg. To do so, we collected hair samples using hair traps coated with valerian dye. These were then analysed using the SNP method. We used 96 SNPs selected specifically for the European wildcat and for this type of analysis. One of the main objectives was to check the presence of hybrids. We calculated a hybridization rate of 6% (N = 63) in Wallonia (mainly the province of Liège) and 8% (N = 117) in Luxembourg. These relatively low rates are in line with the results of recent studies on the subject in Western Europe. We have also highlighted the existence of two distinct genetic groups in European wildcats. However, we don't know their origin yet. The low genetic differentiation ( $D_{Jost} = 0.005$ ) between these groups leads us to believe that they do indeed belong to the same large population in Western Central Europe. By analysing the inbreeding coefficients, we found a higher risk of inbreeding depression in Wallonia ( $F_{IS} = 0.32$ ) than in Luxembourg ( $F_{IS} = 0.07$ ). We must be careful when interpreting these results as the sampling methods differ in the two countries. We do not exclude the possibility of sampling bias in Wallonia. The second main objective, focusing on Luxembourg, was to identify landscape elements that impacted European wildcat connectivity using a landscape genetics approach. We observed that forests and agricultural areas acted as corridors, while motorways and urban areas acted as barriers to the gene flow of the species.

## LEXIQUE DES ABREVIATIONS

---

<b>AFC</b>	Analyse factorielle des correspondances
<b>AIC<sub>c</sub></b>	Critère d'information d'Akaike corrigé
<b><math>\Delta</math>AIC<sub>c</sub></b>	Différence de critère d'information d'Akaike corrigé
<b>CITES</b>	Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction
<b>D<sub>Jost</sub></b>	Indice de différenciation de Jost
<b>DNF</b>	Département de la Nature et des Forêts
<b>F<sub>IS</sub></b>	Coefficient de consanguinité
<b>He</b>	Hétérozygotie attendue
<b>Ho</b>	Hétérozygotie observé
<b>HWE</b>	Equilibre de Hardy-Weinberg
<b>K</b>	Nombre de groupes génétiques
<b>k</b>	Nombre de paramètres
<b>LIST</b>	Luxembourg Institute of Science and Technology
<b>MCMC</b>	Chaine de Markov Monte Carlo
<b>MDDI</b>	Ministère du développement durable et des infrastructures du Grand-Duché du Luxembourg
<b>N</b>	Nombre d'individus analysés
<b>SNP</b>	Single-nucleotide polymorphism (Polymorphisme d'un seul nucléotide)
<b>UICN</b>	Union Internationale pour la Conservation de la Nature
<b>WWF</b>	World Wildlife Fund



## LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

---

Figure 1 : Ancien arbre phylogénétique du chat sauvage <i>Felis silvestris</i> avant la révision taxonomique (d'après Driscoll <i>et al.</i> , 2007) .....	6
Figure 2 : Caractéristiques du pelage du chat forestier (A) et du chat domestique (B) (Kitchener <i>et al.</i> , 2005).....	7
Figure 3 : Carte de répartition de <i>Felis silvestris</i> , adaptée d'après la carte de la liste rouge de l'UICN (Yamaguchi <i>et al.</i> , 2015).....	8
Figure 4 : Proportions des différents types d'occupation du sol composant l'habitat du chat forestier en Wallonie d'après le modèle Maxent (Delangre <i>et al.</i> , 2019) .....	10
Figure 5 : Carte d'habitat potentiel du chat forestier en Wallonie. Les zones bleues sont identifiées comme zones d'habitat (Delangre <i>et al.</i> , 2019).....	10
Figure 6 : Chat se frottant contre un piège à poils (image issue d'un piège photographique du WWF-Belgium).....	13
Figure 7 : Carte de répartition géographique des piquets visant à tester la méthodologie (bleu), des piquets placés en Province de Namur (vert), des piquets placés en forêt Saint-Hubert (rouge) et des placettes de la Province de Liège (orange) .....	14
Figure 8 : Répartition géographique des 44 carrés d'échantillonnage au Luxembourg.....	15
Figure 9 : Provenance géographique des 7 échantillons concernés par des cas de recapture. Les échantillons WF109 et WF114 appartiennent à l'individu 1 et ont été collectés sur le même piquet (vert) ; WF132 et WF134 appartiennent à l'individu 2 et ont été collectés sur le même piquet (rose) ; WF135, WF141 et WF143 appartiennent à l'individu 3 et ont été récoltés sur deux piquets différents (orange) au sein de la même placette.....	22
Figure 11 : Résultats de l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des génotypes de chat collectés en Wallonie pour K = 2. Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque génotype d'appartenir à chacun des clusters génétiques (chats forestiers en bleu ; chats domestiques en vert) .....	23
Figure 10 : Graphique représentant la valeur de delta K en fonction de K (K étant le nombre de groupes génétiques) selon la méthode d'Evanno <i>et al.</i> (2005) d'après l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des données de Wallonie. La valeur de delta K est la plus élevée lorsque K = 2 .....	23
Figure 12 : Résultats de l'analyse du logiciel NewHybrids sur l'ensemble des génotypes de chat collectés en Wallonie. Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque génotype d'appartenir à chacune des catégories génétiques (chats forestiers purs en bleu foncé ; chats	

domestiques purs en vert clair ; hybrides de 1<sup>ère</sup> génération en jaune ; hybrides de 2<sup>ème</sup> génération en orange ; backcross avec un chat forestier en bleu clair ; backcross avec un chat domestique en vert foncé) ..... 24

Figure 13 : Répartition géographique des chats forestiers (vert), domestiques (rouge) et hybrides (F1 bleu foncé ; F2 bleu clair ; backcross domestiques turquoise) en Wallonie d'après les piquets sur lesquels les échantillons ont été récoltés. Les chiffres indiquent le nombre de chats différents par piquet ..... 25

Figure 14 : Graphique représentant la valeur de delta K en fonction de K (K étant le nombre de groupes génétiques) selon la méthode d'Evanno *et al.* (2005) d'après l'analyse STRUCTURE sur les chats forestiers purs de Wallonie. La valeur de delta K est la plus élevée lorsque K = 2 ..... 26

Figure 15 : Résultats de l'analyse STRUCTURE sur les géotypes de chats forestiers purs collectés en Wallonie pour K = 2. Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque géotype d'appartenir à chacun des clusters génétiques (cluster 1 en bleu clair ; cluster 2 en bleu foncé)..... 26

Figure 16 : Répartition géographique des chats forestiers appartenant au cluster 1 (vert) et 2 (orange) identifiés via le programme STRUCTURE en Wallonie..... 27

Figure 17 : Graphique représentant la valeur de delta K en fonction de K (K étant le nombre de groupes génétiques) selon la méthode d'Evanno *et al.* (2005) d'après l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des données du Luxembourg. La valeur de delta K est la plus élevée lorsque K = 2..... 28

Figure 18 : Résultats de l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des géotypes de chat collectés au Luxembourg pour K = 2. Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque géotype d'appartenir à chacun des clusters génétiques (chats forestiers en bleu ; chats domestiques en vert) ..... 28

Figure 19 : Résultats de l'analyse du logiciel NewHybrids sur l'ensemble des géotypes de chat collectés au Luxembourg. Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque géotype d'appartenir à chacune des catégories génétiques (chats forestiers purs en bleu foncé ; chats domestiques purs en vert clair ; hybrides de 1<sup>ère</sup> génération en jaune ; hybrides de 2<sup>ème</sup> génération en orange ; backcross avec un chat forestier en bleu clair ; backcross avec un chat domestique en vert foncé) ..... **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 20 : Graphique représentant la valeur de delta K en fonction de K (K étant le nombre de groupes génétiques) selon la méthode d'Evanno *et al.* (2005) d'après l'analyse STRUCTURE



sur l'ensemble des chats forestiers purs de Wallonie et du Luxembourg. La valeur de delta K est la plus élevée lorsque $K = 2$ .....	30
Figure 21 : Résultats de l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des génotypes de chats forestiers purs pour $K = 2$ . Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque génotype d'appartenir à chacun des clusters génétiques (cluster 1 en bleu clair ; cluster 2 en bleu foncé) .....	31
Figure 22 : Répartition géographique des chats forestiers appartenant au cluster 1 (vert) et 2 (orange) identifiés via le programme STRUCTURE en Wallonie et au Luxembourg .....	31
Figure 23 : Représentations cartographiques des résistances optimisées des facteurs individuels .....	34
Figure 24 : Représentation cartographique des résistances optimisées issues du meilleur modèle combiné « mruf ».....	35
Figure 25 : Cartes de connectivité circuitscape illustrant la conductance du flux génétique basée sur la localisation des échantillons (à gauche) et la localisation simulée de 250 échantillons autour de la zone d'étude (à droite).....	36
Figure 26 : Répartition géographique des chats forestiers (vert), domestiques (rouge) et hybrides (F1 bleu foncé ; F2 bleu turquoise ; backcross domestiques bleu clair) en Wallonie d'après les piquets sur lesquels les échantillons ont été récoltés. Zoom sur les piquets visités par un hybride F1 et un hybride backcross domestique .....	39
Tableau 1 : Paramètres de diversité génétique des groupes de chats analysés : hétérozygotie attendue ( $H_e$ ) et observée ( $H_o$ ), équilibre d'Hardy-Weinberg (HWE), coefficient de consanguinité ( $F_{IS}$ ) et intervalles de confiance. N = nombre d'individus analysés .....	32
Tableau 2 : Estimations de l'indice de différenciation $D_{Jost}$ (et intervalles de confiance) entre différents groupes de chats analysés .....	32
Tableau 3 : Résultats après bootstrapping sur les sept facteurs environnementaux. L'analyse a été répétée deux fois, les résultats présentés ici sont ceux de l'analyse qui présentait le meilleur $AIC_C$ (la 1ère). Moyenne des valeurs d' $AIC_C$ obtenues (avg. $AIC_C$ ), nombre de paramètres (k), différence de valeurs moyennes d' $AIC_C$ entre le meilleur modèle (celui qui a l' $AIC_C$ le plus bas) et chaque modèle suivant ( $\Delta AIC_C$ ), moyenne des poids d' $AIC_C$ (avg.weight), moyenne marginale du $R^2$ (avg. $R^2_m$ ).....	33
Tableau 4 : Résultats après bootstrapping de chaque combinaison des facteurs environnementaux. Chaque facteur était ajouté au meilleur modèle individuel identifié précédemment (=	

« autoroutes »). Moyenne des valeurs d'AIC<sub>C</sub> obtenues (avg.AIC<sub>C</sub>), nombre de paramètres (k), différence de valeurs moyennes d'AIC<sub>C</sub> entre le meilleur modèle (celui qui a l'AIC<sub>C</sub> le plus bas) et chaque modèle suivant ( $\Delta$ AIC<sub>C</sub>), moyenne des poids d'AIC<sub>C</sub> (avg.weight), moyenne marginale du R<sup>2</sup> (avg.R<sup>2</sup>m)..... 35

# TABLE DES MATIERES

---

INTRODUCTION.....	1
1. La fragmentation du paysage et son impact sur la faune.....	1
2. La problématique de l’hybridation .....	2
3. La génétique du paysage : un outil pour la conservation des espèces .....	2
4. Le cas du chat forestier .....	3
5. Présentation de l’espèce.....	6
5.1. Taxonomie et phylogénie.....	6
5.2. Caractéristiques physiques .....	7
5.3. Statut de conservation .....	7
5.4. Distribution et habitat .....	8
5.5. Alimentation .....	11
5.6. Comportement social et reproducteur.....	11
6. Objectifs du mémoire.....	11
MATÉRIEL ET MÉTHODES .....	13
1. Echantillonnage .....	13
1.1. Wallonie.....	14
1.2. Luxembourg.....	15
2. Analyses génétiques en laboratoire.....	16
2.1. Extraction d’ADN.....	16
2.2. Génotypage .....	16
3. Analyse des données.....	17
3.1. Identification individuelle .....	17
3.2. Analyse des clusters.....	17
3.3. Analyse des hybrides .....	18
3.4. Paramètres de diversité génétique.....	18
3.5. Génétique du paysage .....	18
4. Aspect social .....	20
RÉSULTATS .....	21
1. Wallonie.....	21
1.1. Echantillonnage.....	21
1.2. Génotypage .....	21
1.3. Identification individuelle .....	21

1.4. Structure génétique .....	22
2. Luxembourg.....	27
2.1. Génotypage .....	27
2.2. Identification individuelle .....	27
2.3. Structure génétique .....	28
3. Wallonie et Luxembourg .....	30
3.1. Identification individuelle .....	30
3.2. Structure génétique .....	30
4. Diversité génétique .....	32
5. Génétique du paysage .....	33
5.1. Optimisation des résistances individuelles des facteurs environnementaux.....	33
5.2. Combinaison des facteurs environnementaux.....	34
DISCUSSION.....	37
1. Méthode et biais d'échantillonnage .....	37
2. Le problème de l'hybridation .....	38
3. Structure génétique : deux groupes au sein d'une grande population .....	40
4. Les risques de consanguinité .....	41
5. Les routes et zones urbanisées, des barrières pour les chats forestiers.....	42
6. Implication pour la conservation .....	43
CONCLUSION .....	46

# INTRODUCTION

---

## 1. La fragmentation du paysage et son impact sur la faune

La fragmentation du paysage se définit comme étant le processus par lequel un habitat continu est morcelé en plusieurs plus petits habitats isolés les uns des autres par une matrice de nature différente à celle de l'habitat d'origine (Fahrig, 2003 ; Mullu, 2016). La fragmentation est généralement associée à la perte d'habitat (Fahrig, 2003). Elle trouve son origine dans l'exploitation des terres par l'homme, notamment par l'intensification de l'agriculture, l'urbanisation et le développement d'infrastructures routières (Foley *et al.*, 2005). La fragmentation et la perte des habitats constituent les principales causes du déclin de la biodiversité et de l'extinction des espèces (Gu *et al.*, 2002). En effet, selon la théorie des métapopulations, plus les fragments d'habitat sont petits et isolés, plus les taux d'extinction locale de l'espèce y sont élevés et les taux d'immigration y sont faibles (Mullu, 2016 ; van Nouhuys, 2016).

La connectivité écologique est essentielle à la survie à long terme d'une espèce car elle induit la dispersion des individus dans l'espace et permet un flux génétique entre les populations, assurant ainsi le maintien d'une certaine diversité génétique (Beier & Noss, 1998 ; Liu *et al.*, 2018). Or, en modifiant la configuration du paysage, l'homme peut créer des barrières écologiques qui limiteront ou supprimeront cette connectivité entre les fragments d'habitat (Le Roux *et al.*, 2014 ; Liu *et al.*, 2018).

Dans le cadre de la conservation d'une espèce, il est donc primordial de connaître son écologie et son mode de déplacement mais aussi d'identifier les éléments et les modifications du paysage qui peuvent l'impacter. Ces connaissances permettront de maintenir ou mettre en place des corridors écologiques afin de conserver la connectivité entre les noyaux de population (Hartmann *et al.*, 2013 ; Mullu, 2016).

Dans des petites populations isolées, les individus peuvent rencontrer des difficultés pour trouver un partenaire et se reproduire. Si l'espèce en question se trouve à proximité d'une espèce suffisamment proche d'un point de vue génétique, un autre problème peut alors apparaître à la suite de la pression de l'homme sur l'environnement : l'hybridation.

## 2. La problématique de l'hybridation

L'hybridation est, par définition le croisement entre des individus génétiquement distincts, c'est-à-dire issus de différentes espèces, sous-espèces ou populations (Rhymer & Simberloff, 1996). Ce n'est pas un phénomène rare dans la nature. Lorsque l'hybridation est naturelle, elle peut se révéler bénéfique pour la biodiversité par le rôle qu'elle joue dans l'évolution (Rhymer & Simberloff, 1996). En revanche, lorsqu'elle résulte de l'activité humaine (introduction d'espèces, fragmentation et modification de l'habitat), elle devient une potentielle menace pour les espèces indigènes (Rhymer & Simberloff, 1996 ; Allendorf *et al.*, 2001 ; Beugin *et al.*, 2019 ; Tiesmeyer *et al.*, 2020). En effet, lorsque la population d'une des deux espèces est beaucoup plus grande (c'est souvent le cas des espèces introduites, notamment les domestiques) que celle de l'autre, les risques d'hybridation sont exacerbés (Rhymer & Simberloff, 1996 ; Tiesmeyer *et al.*, 2020).

L'hybridation peut mener à l'extinction d'une des espèces parentales par deux mécanismes (Todesco *et al.*, 2016). D'une part, il est possible que l'hybridation mène à des individus moins bien adaptés aux conditions environnementales locales dû à la dépression hybride, diminuant ainsi la fitness des descendants (Rhymer & Simberloff, 1996 ; Lozano & Malo, 2012 ; Mattucci, 2014). La dépression hybride pourrait être d'autant plus délétère dans les cas d'hybridation avec des espèces domestiques, ces dernières étant artificiellement sélectionnées pour des besoins humains et donc peu adaptées à la vie sauvage (Randi, 2008 ; Tiesmeyer *et al.*, 2020). Les efforts de reproduction de l'espèce seraient alors vains ce qui conduirait, à terme, à l'extinction (Todesco *et al.*, 2016). D'autre part, si la dépression hybride est moindre, l'espèce pourrait s'éteindre en étant remplacée par une population d'hybrides (Todesco *et al.*, 2016).

L'hybridation est rarement mentionnée comme une cause majeure d'extinction. Cependant, au vu de la pression grandissante de l'homme sur les espèces et leur habitat, elle pourrait prendre de l'ampleur. C'est une problématique qui doit donc être surveillée et évaluée de près chez les espèces touchées afin d'assurer leur conservation.

## 3. La génétique du paysage : un outil pour la conservation des espèces

Le concept de génétique du paysage est relativement récent puisque ce terme a été employé pour la première fois en 2003 par Manel *et al.*. Il est défini comme la fusion entre la génétique des populations et l'écologie du paysage et « vise à fournir des informations sur l'interaction entre les caractéristiques du paysage et les processus microévolutifs, tels que le flux génétique, la dérive génétique et la sélection » (Manel *et al.*, 2003). La génétique du paysage se concentre

typiquement sur la microévolution. C'est-à-dire que, contrairement à d'autres disciplines telles que la biogéographie qui s'appliquent plutôt à de larges échelles spatiales et temporelles, elle permet d'étudier l'évolution au niveau individuel ou populationnel et à fine échelle temporelle et spatiale (Manel *et al.*, 2003 ; Montgelard *et al.*, 2014). L'objectif de la génétique du paysage est de mieux comprendre comment les variations génétiques des organismes sont affectées par les éléments du paysage et quels éléments peuvent avoir un impact potentiel sur la capacité de dispersion des individus (Manel *et al.*, 2003 ; Montgelard *et al.*, 2014 ; Segelbacher *et al.*, 2010). Les éléments du paysage ayant potentiellement un impact sur les espèces peuvent être naturels (forêts, lacs, rivières, montagnes...) ou anthropiques (routes, chemins de fer...). L'impact peut être négatif (barrières) mais aussi positif (corridors) et peut également varier en fonction des espèces considérées (Montgelard *et al.*, 2014). Une étude de Frantz *et al.* (2012) a par exemple démontré qu'une autoroute belge constituait une barrière au flux génétique chez les cerfs élaphe mais pas chez les sangliers.

La génétique du paysage peut notamment être employée dans des problématiques de biologie de la conservation. Elle permet d'utiliser des données génétiques pour évaluer l'état de la population et identifier les éléments du paysage qui causent la fragmentation. De plus, grâce à ces connaissances, des corridors écologiques pour améliorer la connectivité afin de préserver l'espèce pourraient être mis en œuvre de manière plus efficace (Segelbacher *et al.*, 2010). Les efforts de conservation pourraient également être mieux localisés en repérant des zones d'intérêt pour l'espèce grâce aux données récoltées (Manel *et al.*, 2003). Etant donné le fait que les espèces ont des écologies différentes et répondent donc différemment aux éléments du paysage, il est intéressant de prendre en compte ces différences afin de maximiser les résultats des efforts de conservation.

Nombreuses sont les espèces qui souffrent de la pression anthropique croissante. Pour étudier cette problématique, le chat forestier constitue un modèle de choix puisqu'il subit actuellement les conséquences de cette pression étant donné sa présence dans des massifs forestiers fortement fragmentés en Europe, notamment en Belgique et au Luxembourg.

#### 4. Le cas du chat forestier

Le chat forestier présente une distribution fragmentée, composée de petits îlots de population isolés aussi bien au niveau régional que local (Lozano & Malo, 2012 ; Raydelet, 2009). Une étude de Mattucci *et al.* (2016) révèle que la séparation de l'espèce en populations distinctes à travers sa répartition serait cependant la conséquence d'événements datant du



Pléistocène supérieur plutôt que de la fragmentation anthropique récente. Cette dernière éroderait néanmoins la diversité au sein des différents clusters (Mattucci *et al.*, 2016).

La déforestation des forêts de feuillus et leur remplacement par des plantations d'espèces exotiques telles que le pin ou l'eucalyptus ; le retrait des broussailles pour ralentir les feux de forêt ; la construction d'infrastructures telles que les routes et canaux ou encore l'homogénéisation du paysage par l'agriculture intensive constituent des activités anthropiques qui participent à la destruction et à la fragmentation de l'habitat du chat forestier (Anile *et al.*, 2019 ; Mattucci, 2014 ; Lozano & Malo, 2012). Les zones alentour des constructions humaines peuvent également être des habitats perdus puisque, d'après différentes études, l'espèce évite de s'approcher de l'homme (Anile *et al.*, 2019 ; Klar *et al.*, 2008). Dans le passé, l'espèce était considérée comme nuisible comme beaucoup d'autres carnivores. Le chat forestier était donc couramment chassé et piégé, cette destruction directe de l'espèce a aussi probablement eu un impact sur la fragmentation des populations (Raydelet, 2009).

De plus, cette omniprésence de l'homme dans le paysage européen et la fragmentation qu'elle provoque mènent à deux autres des principales menaces pour le chat forestier. La première est celle des collisions routières. En effet, en plus de fragmenter le territoire, le réseau routier engendre une certaine mortalité chez le chat forestier par les collisions avec les véhicules. Les risques dépendent de divers facteurs : la densité de chats dans la région, la densité du trafic, mais aussi d'autres caractéristiques des routes ou des individus (Lozano & Malo, 2012).

La deuxième menace découlant de la fragmentation est l'hybridation avec le chat domestique. Les chats domestiques sont aujourd'hui omniprésents. Il existerait en effet 500 millions de chats de compagnie et probablement la même quantité de chats harets à travers le monde (Hunter, 2015). Ils peuvent être une source de problèmes pour la biodiversité par la prédation (sur les oiseaux, micromammifères et reptiles) mais aussi par ce phénomène d'hybridation. Dans le cas du chat forestier, l'hybridation concerne le croisement entre deux espèces différentes. La séparation relativement récente des deux espèces leur permet de procréer et de produire des hybrides fertiles. Les modifications anthropiques du paysage ont favorisé la proximité entre elles (Allendorf *et al.*, 2001 ; Lozano & Malo, 2012 ; Mattucci, 2014). Cette hybridation peut mener à l'introggression d'allèles domestiques dans le génotype du chat sauvage si les hybrides de première génération (F1) se rétrocroisent avec une des deux populations parentales, compromettant ainsi la pureté génétique de l'espèce (Lozano & Malo, 2012 ; Rhymer & Simberloff, 1996). D'après une étude de Germain *et al.* (2008), les barrières

comportementales qui pourraient empêcher les rétrocroisements entre chats forestiers et hybrides sont inexistantes dû à leurs similarités morphologiques et d'utilisation de l'espace, ce qui favorise l'introgression. La distinction d'un hybride par la morphologie étant incertaine, l'identification par analyse génétique est indispensable (Ruetten *et al.*, 2011). Des cas d'hybridation sont rencontrés sur la quasi totalité de la répartition du chat forestier et le taux d'hybridation a été étudié dans de nombreuses régions (e.g. Pierpaoli *et al.*, 2003 ; Hertwig *et al.*, 2009 ; Say *et al.*, 2012 ; Lambinet *et al.*, 2013 ; Nussberger *et al.*, 2014 ; Gil-Sánchez *et al.*, 2015 ; Steyer *et al.*, 2018 ; Beugin *et al.*, 2019 ; Tiesmeyer *et al.*, 2020). Pourtant, de nombreuses incertitudes existent encore sur le sujet. En effet, les taux d'hybridation varient non seulement entre régions en fonction des conditions environnementales, de la densité de chats forestiers et domestiques et du passé de la population mais aussi d'une étude à l'autre selon les marqueurs utilisés (microsatellites ou SNPs), le nombre d'individus étudiés ou la méthode d'échantillonnage (Steyer *et al.*, 2018). Ce manque de méthodologie systématique rend compliquée la comparaison entre les différentes données. Une récente étude menée par Steyer *et al.* (2018) suggère d'ailleurs que, en Europe Centrale, les taux d'hybridation étaient surestimés dû à l'utilisation de méthodes inadéquates dans de précédentes études.

Bien que l'UICN considère l'hybridation comme la plus grande menace pour le chat forestier (Yamaguchi *et al.*, 2015), plusieurs auteurs s'accordent à dire que les impacts seraient limités et ne représenteraient pas une menace pour la survie à long terme de l'espèce, même dans des paysages fragmentés avec de fortes densités de chats domestiques (Lozano & Malo, 2012 ; Steyer *et al.*, 2018 ; Tiesmeyer *et al.*, 2020). Il est possible que l'hybridation soit une conséquence du déclin des populations plutôt qu'une cause. Une faible densité de chats forestiers rendrait en effet plus difficile la recherche d'un partenaire. La reproduction avec des individus domestiques serait alors favorisée (Lozano & Malo, 2012). A ce jour, la plupart des populations de chats forestiers ne seraient donc pas menacées par l'hybridation, les taux étant globalement bas à modérés (Lozano & Malo, 2012 ; Steyer *et al.*, 2018 ; Tiesmeyer *et al.*, 2020). Seules l'Écosse et la Hongrie sont fortement affectées et comportent des « *swarm* » hybrides, c'est-à-dire des populations ne présentant plus de chat forestier pur (Beaumont *et al.*, 2001 ; Pierpaoli *et al.*, 2003 ; Senn *et al.*, 2018 ; Tiesmeyer *et al.*, 2020).

## 5. Présentation de l'espèce

### 5.1. Taxonomie et phylogénie

Le chat sauvage est issu de la divergence la plus récente de la famille des Felidae, il y a 3.4 millions d'années : le genre *Felis* (Hunter, 2015). Il descendrait probablement du chat de Martelli (*Felis silvestris lunensis*), la transition vers notre chat sauvage actuel daterait d'il y a 0.35-0.45 millions d'années (Macdonald *et al.*, 2010 ; Mattucci, 2014).

L'espèce d'intérêt, le chat forestier ou chat sauvage d'Europe est au cœur d'un débat de taxonomie. D'après certains auteurs, il serait l'une des cinq sous-espèce du chat sauvage *Felis silvestris* : *Felis silvestris silvestris* (Figure 1 ; Driscoll *et al.*, 2007). Plus récemment, d'autres auteurs considèrent que *Felis silvestris* inclut uniquement le chat forestier (Kitchener *et al.*, 2017). Le chat domestique est considéré comme une sixième sous-espèce du chat sauvage (*F. s. catus* ; Figure 1) pour certains ou comme une espèce à part entière (*F. catus*) pour d'autres (Macdonald *et al.*, 2010 ; Yamaguchi *et al.*, 2015 ; Kitchener *et al.*, 2017). Ce dernier est issu de la domestication de *F. s. lybica* (ou *F. lybica*) il y a environ 9-10.000 ans et proviendrait du Moyen-Orient ou d'Egypte (Driscoll *et al.*, 2007 ; Macdonald *et al.*, 2010).

Afin d'être en accord avec la récente révision de la taxonomie des félins, le chat forestier (*Felis silvestris*) et le chat domestique (*Felis catus*) seront considérés comme des espèces à part entière dans le présent travail.



Figure 1 : Ancien arbre phylogénétique du chat sauvage *Felis silvestris* avant la révision taxonomique (d'après Driscoll *et al.*, 2007)

## 5.2. Caractéristiques physiques

Concernant sa morphologie, le chat forestier est globalement similaire au chat domestique. Le poids moyen est de 5 kg pour les mâles et 3.5 kg pour les femelles pour une taille allant de 51 à 60 cm (Raydelet, 2009 ; Libois & Marechal, 1994). Son large crâne, ses membres robustes et son épaisse fourrure donnent cependant au chat forestier une allure plus trapue en comparaison au chat domestique (Libois & Marechal, 1994). Certaines caractéristiques du pelage permettent également de les différencier, celles-ci ont été listées par Kitchener *et al.* (2005 ; Figure 2). Le chat forestier a un pelage gris-brun, une queue touffue et cylindrique marquée d'anneaux noirs et terminée d'un manchon noir caractéristique et des poils blancs sur le menton et la poitrine (Hunter, 2015 ; Libois & Marechal, 1994).

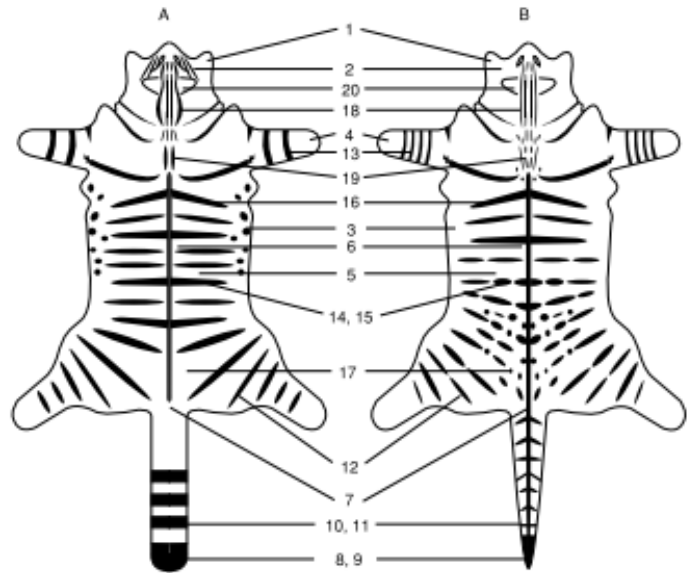


Figure 2 : Caractéristiques du pelage du chat forestier (A) et du chat domestique (B) (Kitchener *et al.*, 2005)

## 5.3. Statut de conservation

*Felis silvestris* est listé *Least Concern* (Préoccupation mineure) dans la liste rouge de l'UICN (Yamaguchi *et al.*, 2015). Il figure dans l'annexe II de la CITES qui stipule que le commerce de l'espèce est possible en possession d'un permis et s'il ne nuit pas à la survie de l'espèce (Raydelet, 2009). Dans la Convention relative à la conservation de la vie sauvage et du milieu naturel de l'Europe (ou convention de Berne), le chat forestier est inscrit à l'annexe II reprenant les espèces de faune strictement protégées (Raydelet, 2009). Enfin, il est inscrit dans l'annexe IV de la Directive « Habitat » (Directive 92/43/CEE) qui comprend les espèces animales et végétales d'intérêt communautaire qui nécessitent une protection stricte (Raydelet, 2009). L'espèce est donc intégralement protégée dans la plupart des pays européens, notamment en Belgique et au Luxembourg (Raydelet, 2009). La directive « Habitat » impose aux Etats membres de mettre en place un suivi précis et des mesures de protection strictes des espèces y figurant. Dans ce but, les recherches et travaux scientifiques sont encouragés. Des rapports regroupant les informations concernant les mesures de conservation mises en place sont réclamés aux Etats membres par la Commission tous les six ans (Directive 92/43/CEE).

#### 5.4. Distribution et habitat

La répartition du chat forestier s'étendait autrefois sur l'entièreté de l'Europe excepté la Suède, la Norvège et la Finlande et se prolongeait sur l'Asie Mineure et le Caucase (Raydelet, 2009 ; Yamaguchi *et al.*, 2015). Entre la fin du 18<sup>ème</sup> siècle et le début du 20<sup>ème</sup> siècle, l'espèce a fortement souffert de la fragmentation et destruction de son habitat, ainsi que de la chasse (Cat Specialist Group ; Raydelet, 2009). Le déclin d'individus engendré a résulté en sa disparition de plusieurs régions (Autriche, Pays-Bas, Angleterre, Pays de Galles, sud de l'Ecosse et République tchèque) et en une forte diminution de sa distribution dans certains pays (Cat Specialist Group ; Raydelet, 2009). A partir des années 1920, le chat forestier a recolonisé une partie de sa distribution passée à partir des noyaux de population restants. En effet, dans les pays touchés par les deux guerres, il est possible que la mobilisation des hommes ait eu un impact sur la diminution de la destruction directe de l'espèce. De plus, le reboisement et l'apparition de statuts de protection pour l'espèce ont grandement favorisé son expansion (Raydelet, 2009). Ainsi, la France, la Belgique, l'Allemagne, la Slovaquie, l'Ecosse et la Suisse ont assisté à une expansion de leurs populations et l'Autriche, les Pays-Bas et la République tchèque à un retour de l'espèce (Figure 3 ; Cat Specialist Group ; Raydelet, 2009). La présence et répartition exacte de l'espèce reste incertaine dans plusieurs régions dû à son caractère insaisissable, aux faibles densités de population et au manque d'études sur le sujet (Gil-Sanchez *et al.*, 2020).



Figure 3 : Carte de répartition de *Felis silvestris*, adaptée d'après la carte de la liste rouge de l'UICN (Yamaguchi *et al.*, 2015)

En Belgique, l'espèce se retrouve principalement en Wallonie (Annexe 1). Elle a recolonisé le pays via la Lorraine française, l'Eifel, la Gaume et les Hautes-Fagnes autour des années 1950 (Libois & Marechal, 1994). Sa répartition couvrait la Lorraine belge, le massif ardennais et jusqu'à la dépression de la Fagne-Famenne avant les années 2000 (Libois, 1991). Depuis le début des années 2000, une expansion de sa distribution a été constatée vers le nord (Condroz) et l'ouest (région de Chimay) (Lambinet *et al.*, 2013 ; Libois, 2006). D'après le WWF, l'espèce serait en danger critique en Flandre, éteinte à Bruxelles mais la population globale belge serait estimée à plus de 500 individus (Rousseau, 2018). Au Luxembourg, l'espèce se retrouve principalement au nord du pays dans la région de l'Oesling, et au sud, à la frontière de la France dans les anciennes mines à ciel ouvert (Pir *et al.*, 2011). La population de chats forestiers au Luxembourg est estimée entre 60 et 200 individus (Pir *et al.*, 2011).

Mattucci *et al.* (2016) ont mis en évidence l'existence d'au moins cinq groupes phylogéographiques de chat forestier en Europe distribués dans la péninsule ibérique, l'Europe centrale, le centre de l'Allemagne, les régions du nord des Balkans, la péninsule italienne et la Sicile ainsi que le nord-est de l'Italie. Les individus de Belgique et du Luxembourg font donc partie du groupe d'Europe centrale.

Comme son nom l'indique, le chat forestier a longtemps été associé aux milieux forestiers (Libois, 2006). D'après Libois (1991 ; 2006), il préférerait les grands massifs de peuplements feuillus ou mixtes aux peuplements de résineux. Les sous-bois denses composés de fourrés et de taillis sont également préférés aux futaies. Le chat forestier s'aventure dans les milieux ouverts pour chasser mais sans jamais s'éloigner fortement de la lisière (Delangre *et al.*, 2019 ; Libois, 2006). Des études récentes ont cependant démontré que le chat forestier était tout à fait capable de vivre dans des milieux plus ouverts (Jerosch *et al.*, 2017 ; Lozano *et al.*, 2003 ; Lozano, 2010 ; Monterroso *et al.*, 2009). D'après plusieurs études menées en Méditerranée, les paysages composés de mosaïques de broussailles et de prairies y seraient même préférés aux forêts lorsqu'ils sont disponibles (Lozano *et al.*, 2003 ; Monterroso *et al.*, 2009). Jerosch *et al.* (2017) ont également démontré que les chats forestiers pouvaient vivre et se reproduire dans des milieux dominés par l'agriculture tant qu'ils sont à proximité (dans les 6 km) d'une forêt d'au moins 100 ha. La présence du chat forestier dépendrait en fait d'avantage de la disponibilité en nourriture et en abris constituant des zones de repos que du type d'habitat (Jerosch *et al.*, 2018 ; Lozano, 2010 ; Monterroso *et al.*, 2009). Les zones de repos ou zones de gîte diurnes présentent des abris tels que des souches, des troncs creux, des terriers abandonnés, des anfractuosités rocheuses, des amas de branches, des fourrés épais, etc. (Jerosch *et al.*, 2010)

; Libois & Marechal, 1994 ; Raydelet, 2009). Le milieu type du chat forestier est composé d'habitats ouverts pour la chasse (durant la nuit) et d'un milieu fermé pour le repos (durant la journée) (Libois & Marechal, 1994 ; Raydelet, 2009). Les milieux optimaux pour l'espèce seraient donc des massifs forestiers associés à des prairies naturelles (Sordello, 2012) .

Dans plusieurs régions, notamment l'Allemagne (Klar *et al.*, 2008) et la Sicile (Anile *et al.*, 2019), il a été démontré que la probabilité d'occupation d'un habitat par le chat forestier diminuait quand la proximité des routes et villages augmentait. Cela a également été constaté en Wallonie par Delangre *et al.* (2019) où le chat forestier évite les zones avec une proportion supérieure à 5% de bâti et de routes dans un rayon de 1 km. Ces mêmes auteurs ont pu, à l'aide du modèle Maxent (Phillips *et al.*), calculer les proportions des différents types d'occupation du sol composant l'habitat du chat forestier en Wallonie (Figure 4). Comme attendu, les milieux privilégiés sont les forêts suivies par les milieux ouverts. Ces informations ont également permis la réalisation d'une carte d'habitat potentiel du chat forestier en Wallonie, révélant le massif ardennais comme étant la zone la plus favorable à la présence de l'espèce (Figure 5).

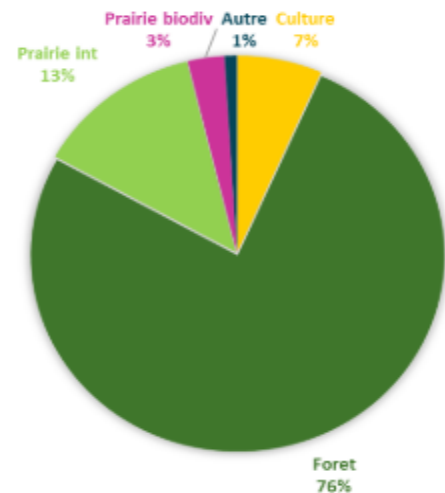


Figure 5 : Proportions des différents types d'occupation du sol composant l'habitat du chat forestier en Wallonie d'après le modèle Maxent (Delangre *et al.*, 2019)

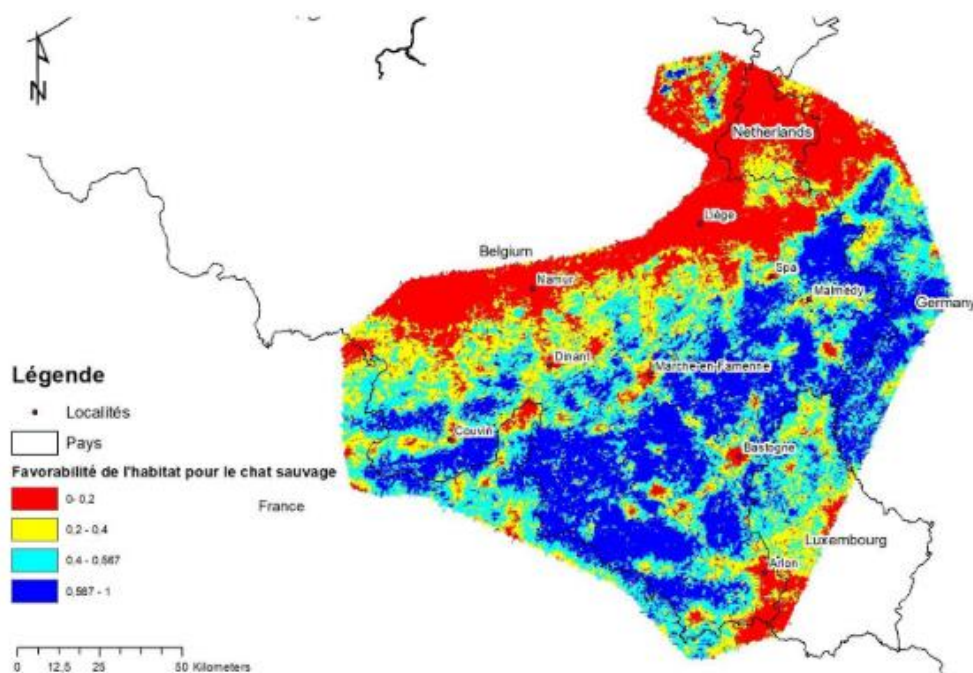


Figure 4 : Carte d'habitat potentiel du chat forestier en Wallonie. Les zones bleues sont identifiées comme zones d'habitat (Delangre *et al.*, 2019)



### 5.5. Alimentation

Le régime alimentaire du chat forestier se compose essentiellement de petits rongeurs (microtinés, murinés) ou de lapins de garenne (*Oryctolagus cuniculus*) dans les régions où l'espèce est abondante (Hunter, 2015 ; Raydelet, 2009). Les oiseaux et les reptiles constituent des proies occasionnelles du chat forestier (Hunter, 2015 ; Raydelet, 2009).

### 5.6. Comportement social et reproducteur

Comme beaucoup de félins, le chat forestier est solitaire, principalement nocturne et très territorial (Hunter, 2015). Les domaines vitaux des mâles sont généralement plus grands (200 à 1270 ha) que ceux des femelles (environ 200 ha) et chevauchent les domaines de plusieurs femelles (Libois & Marechal, 1994 ; Raydelet, 2009). Leur taille varie selon l'abondance de proies et selon la période de l'année (Cat Specialist Group ; Hunter, 2015). Le chat forestier marque son territoire par marquage olfactif (fèces et urine) (Hunter, 2015 ; Raydelet, 2009). Les vocalisations sont un autre moyen de communication et sont surtout employées lors de la période de reproduction (Cat Specialist Group ; Raydelet, 2009). Cette dernière se déroule vers la fin de l'hiver, de janvier à mars. La gestation dure une soixantaine de jours et les femelles mettent bas de mars à mai. Les portées sont en moyenne composées de deux à quatre chatons (Cat Specialist Group ; Hunter, 2015 ; Raydelet, 2009). Divers gîtes de mise bas peuvent être exploités : arbres et souches creuses, tas de bois, anfractuosités dans les rochers, amas de branches et terriers abandonnés (Libois, 2006 ; Raydelet, 2009). Le sevrage se fait entre trois et quatre mois, les jeunes deviennent indépendants entre cinq et dix mois et atteignent la maturité sexuelle entre neuf et douze mois (Cat Specialist Group ; Hunter, 2015). L'espérance de vie maximale est de 11 ans dans la nature et peut atteindre les 19 ans en captivité (Hunter, 2015).

## 6. Objectifs du mémoire

Ce mémoire se penchera sur différentes problématiques liées à la conservation du chat forestier sur base de deux jeux de données : l'un provenant de Wallonie (essentiellement de la province de Liège), l'autre du Luxembourg. L'intérêt de réunir l'étude de l'espèce dans ces deux régions au sein d'un même travail réside dans leur appartenance à la même grande population d'Europe Centrale. De plus, les connaissances sur l'espèce dans les deux pays restent réduites et des suivis n'y ont été mis en place que récemment. Ce mémoire contribue donc au suivi global du chat forestier dont l'objectif est d'évaluer son état de conservation et de le préserver.

L'étude en Wallonie a été effectuée en collaboration avec le WWF-Belgium, l'objectif est de vérifier la présence d'hybrides au sein de la zone étudiée et de comprendre leur origine d'après leur localisation géographique.

L'étude au Luxembourg a été réalisée avec la collaboration du Ministère du développement durable et des infrastructures du Grand-Duché du Luxembourg (MDDI), le Luxembourg Institute of Science and Technology (LIST) et le musée national d'histoire naturelle du Luxembourg. L'objectif est, par une approche de génétique du paysage, d'évaluer l'impact des éléments du paysage (barrières et corridors) sur la connectivité des chats forestiers. Tout comme en Wallonie, l'étude permettra également de mieux cerner l'impact de l'hybridation sur les populations de chats forestiers luxembourgeois.

Les résultats apporteront une meilleure connaissance de l'état des populations dans ces régions afin d'améliorer la mise en place de moyens de conservation adéquats.

Pour réaliser ces objectifs, des collectes de poils ont été réalisées à travers les territoires wallons et luxembourgeois. Une approche génétique a été utilisée, impliquant l'usage de SNPs, des marqueurs récents qui commencent à faire leurs preuves.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

---

Le présent travail regroupe deux études distinctes à partir de deux jeux de données différents : l'un provenant de la Belgique (Wallonie), l'autre du Luxembourg. Les données extraites et les analyses effectuées sur ces deux jeux de données étant différentes, dans un premier temps, chaque étude a son propre protocole. Par la suite, les deux études ont été combinées afin de fournir une analyse plus globale des données.

### 1. Echantillonnage

Les échantillons de poils de chat ont été récoltés à l'aide d'une méthode de monitoring non-invasive, les « pièges à poils » (Figure 6). Ces pièges sont des piquets de bois sur lesquels de la teinture de valériane est enduite. La valériane (*Valeriana officinalis*) est réputée pour attirer fortement les chats par son odeur et a été employée dans de nombreuses études visant le chat forestier (Beutel *et al.*, 2017 ; Jerosch *et al.*, 2017 ; Kuipers, 2017 ; Steyer *et al.*, 2013). Les piquets sont écorchés à l'aide d'une scie ou d'une brosse métallique afin que les poils s'y accrochent lorsque l'animal s'y frotte.



Figure 6 : Chat se frottant contre un piège à poils (image issue d'un piège photographique du WWF-Belgium)

### 1.1. Wallonie

L'échantillonnage en Wallonie a été réalisé sur base du protocole établi par le WWF-Belgium (Rousseau, 2018). Les pièges à poils ont été répartis par l'équipe du WWF dans 70 placettes sélectionnées aléatoirement dans les forêts publiques de plus de 20 hectares de la province de Liège (Figure 7, en orange). Trois pièges étaient placés dans un rayon de 500 m autour du point central de chaque placette par les agents du DNF. Des tests avaient préalablement été réalisés avec quelques piquets en province de Liège afin de vérifier la méthodologie (Figure 7, en bleu). En plus de la province de Liège, des pièges ont été placés en province de Namur au niveau de la botte de Givet et dans la forêt Saint-Hubert en province du Luxembourg (Figure 7, en vert et en rouge). Les endroits privilégiés pour placer les pièges étaient les zones buissonneuses denses ou sous couvert forestier avec des traces de passage régulier de mammifères. Les pièges étaient enduits de 10 ml de teinture de valériane répartie sur les quatre faces des piquets. Six contrôles ont été effectués sur une période de trois mois à intervalle de deux semaines entre janvier et avril 2019. Les échantillons étaient récoltés par des bénévoles, des agents du DNF ou des membres de l'équipe du WWF.

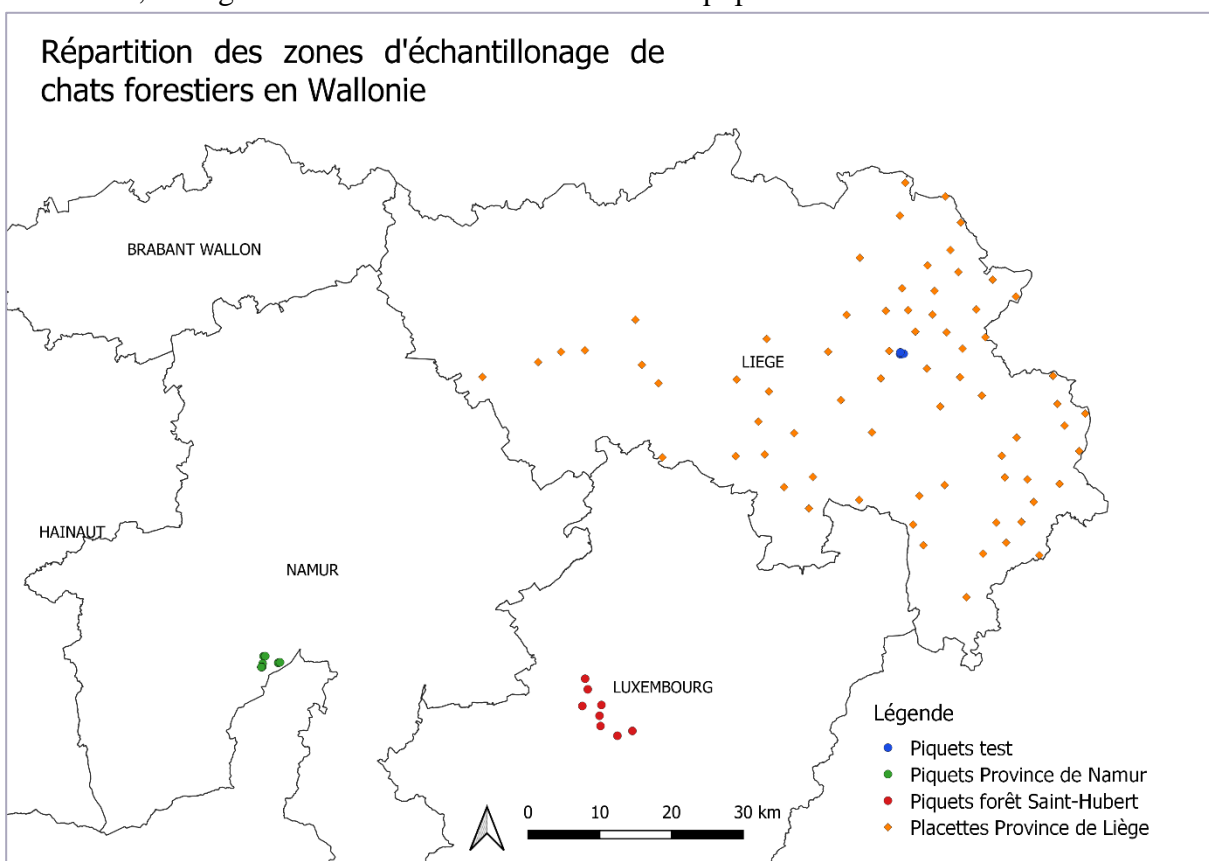


Figure 7 : Carte de répartition géographique des piquets visant à tester la méthodologie (bleu), des piquets placés en Province de Namur (vert), des piquets placés en forêt Saint-Hubert (rouge) et des placettes de la Province de Liège (orange)

## 1.2. Luxembourg

Plusieurs échantillonnages ont été réalisés dans 44 carrés d'échantillonnage (1 km<sup>2</sup>) répartis à travers le Luxembourg (Figure 8). Ces carrés ont été choisis de manière à assurer une couverture optimale du territoire tout en limitant les risques d'auto-corrélation géographique entre les carrés. Trois sites de prélèvement ont été définis au sein de chaque carré, un piège à poils a été placé dans chaque site. Les échantillons ont été prélevés à six reprises en 2017 puis en 2018.

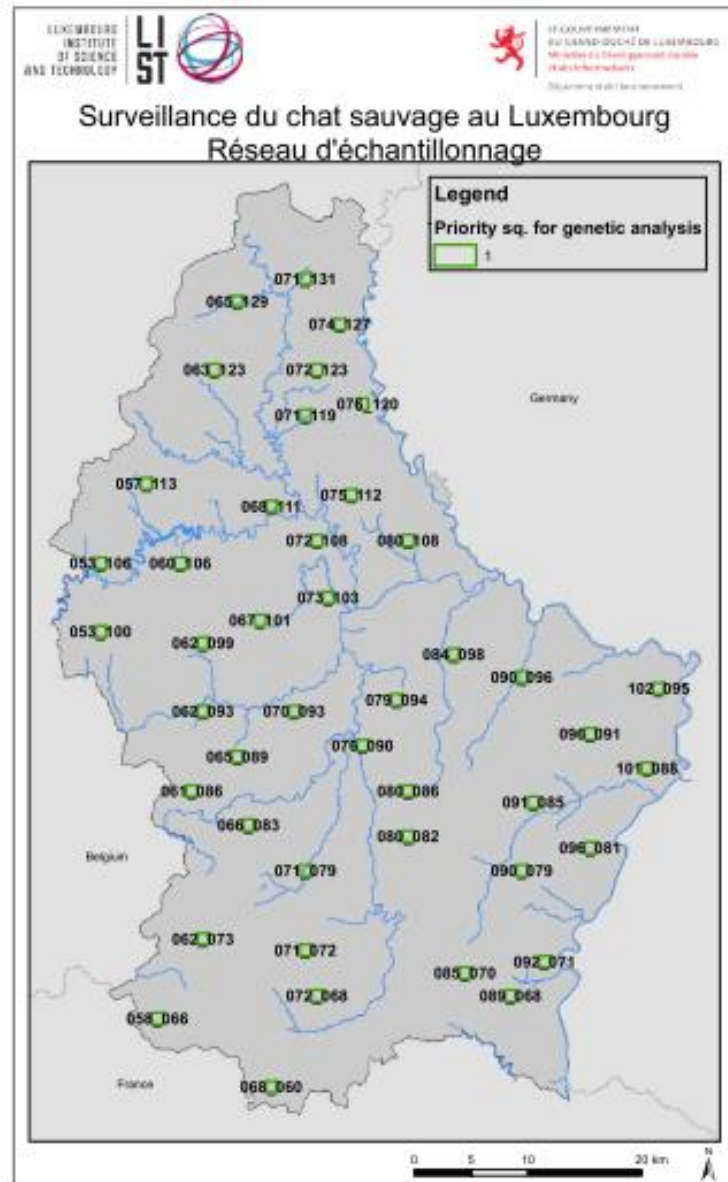


Figure 8 : Répartition géographique des 44 carrés d'échantillonnage au Luxembourg

## 2. Analyses génétiques en laboratoire

### 2.1. Extraction d'ADN

L'ADN des échantillons de poils a été extrait à l'aide du kit QIAamp DNA micro de Qiagen selon les recommandations du fabricant. Les échantillons étaient mélangés au buffer ATL et à la protéinase K et incubés toute une nuit à 56°C. Les étapes suivantes de l'extraction d'ADN sont détaillées dans le protocole du kit. Les échantillons ont ensuite été conservés à -20°C.

### 2.2. Génotypage

Les échantillons wallons ont été analysés par la méthode SNP (Single Nucleotide Polymorphism) par l'utilisation d'un « restricted SNP panel », une approche développée par von Thaden *et al.* (2020). Cette approche est adaptée pour le génotypage d'ADN de moindre qualité, comme celui issu des poils, dans le cadre d'analyses telles que l'identification individuelle, l'évaluation de l'hybridation et la détection de la structure de la population. Les marqueurs analysés étaient ceux issus de l'étude de Nussberger *et al.* (2014) et incluaient des marqueurs nucléaires SNP ainsi que des marqueurs d'ADN mitochondrial (mtDNA). Un total de 96 marqueurs a été utilisé : 75 SNPs pour évaluer le niveau d'introgression, 11 SNPs et 4 marqueurs de mtDNA pour distinguer les individus, 4 marqueurs de mtDNA pour évaluer la lignée maternelle et 2 marqueurs liés au chromosome Y pour la détermination du sexe (Annexe 2).

Les échantillons présentant plus de 30% de données manquantes ont été exclus de la matrice des données SNP obtenue.

Les échantillons du Luxembourg (récoltés en 2017 et 2018) ont également été analysés par la méthode SNP. Ces échantillons avaient déjà été analysés à l'aide des marqueurs microsatellites dans une précédente étude (Pigneur & Michaux, 2018). Les résultats des deux méthodes pourront ainsi être comparés et confirmés. Lors de cette précédente étude, 350 échantillons collectés en 2017 et 2018 ont été extraits et amplifiés. Certains échantillons n'ont permis aucune amplification, donné moins de six loci amplifiés ou donné trop d'incertitudes dans les résultats de génotypage. Il restait donc un total de 219 échantillons de poils de chats à exploiter pour les analyses génétiques. Ce sont ces mêmes 219 échantillons qui ont été analysés par SNP dans le présent travail.

### 3. Analyse des données

#### 3.1. Identification individuelle

Afin d'identifier les échantillons présentant des génotypes identiques ou similaires, le script ConGenR a été utilisé dans R (Lonsinger & Waits, 2015). Le nombre maximum de loci ne correspondant pas (*mismatch*) a été fixé à 6 sur base de l'étude de von Thaden *et al.* (2020). Ainsi, les échantillons présentant plus de 6 *mismatch* (au moins 88 loci devaient donc correspondre) entre eux n'étaient pas considérés comme appartenant à un même individu.

Après identification des individus, la matrice de données a été remise à jour en éliminant les doublons dus aux recaptures.

Cette analyse a été effectuée sur différents jeux de données : les échantillons de Wallonie, les échantillons du Luxembourg et l'ensemble de ces échantillons.

#### 3.2. Analyse des clusters

Le logiciel STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000) se base sur la méthode du *clustering* bayésien. Il permet de tester la vraisemblance pour différentes valeurs de K puis d'assigner chaque individu à un cluster. Il a été utilisé dans deux buts. Le premier visait à mettre en évidence l'appartenance des individus à l'une des deux espèces : *Felis silvestris* (chat forestier) et *Felis catus* (chat domestique) ainsi que les éventuels hybrides. Le second consistait à analyser la structure populationnelle au sein des chats forestiers purs et à identifier le nombre de populations (K). Les individus ayant été identifiés comme domestiques ou hybrides potentiels (pour lesquels la probabilité d'assignation au cluster « chat forestier »  $q^{(i)} \leq 0.85$ ) étaient exclus de cette deuxième analyse. Les paramètres appliqués étaient les mêmes que dans l'étude de von Thaden *et al.* (2020) pour les deux analyses : un *burn-in* de 250 000 itérations a été appliqué suivi de 500 000 itérations de MCMC. Pour chaque valeur de K (de 1 à 10), 10 répétitions ont été réalisées afin de vérifier la validité des résultats. La meilleure valeur de K a été déterminée via la plateforme CLUMPAK (Kopelman *et al.*, 2015) d'après la méthode d'Evanno (Evanno *et al.*, 2005). CLUMPAK a également permis de synthétiser et représenter graphiquement l'assignation de chaque individu aux différents clusters.

La première analyse a été menée sur les échantillons de Wallonie puis sur ceux du Luxembourg. La seconde a été effectuée sur les échantillons de chats forestiers de Wallonie et sur l'ensemble des chats forestiers de Wallonie et du Luxembourg.



### 3.3. Analyse des hybrides

L'utilisation du programme NewHybrids 1.1 (Anderson & Thompson, 2002) a permis de confirmer l'assignation des individus à l'une des deux espèces, d'identifier les éventuels hybrides et de déterminer leur degré d'hybridation. Ce programme fonctionne également d'après la méthode du *clustering* bayésien. Les individus hybrides peuvent avoir différents statuts : hybride F1, hybride F2 ou backcross (hybridation d'un hybride) avec un chat domestique (Bx dom.) ou avec un chat forestier (Bx for.). La simulation a été lancée avec les paramètres de l'étude de von Thaden *et al.* (2020) : un *burn-in* de 100 000 itérations suivi de 200 000 *sweeps* (chaque « *sweep* » correspondant à une itération de MCMC). Pour accepter l'assignation d'un individu à l'une des espèces ou à un statut d'hybride, la probabilité d'appartenir au cluster en question  $q^{(i)}$  devait être  $\geq 0.85$ .

### 3.4. Paramètres de diversité génétique

L'indice de différenciation ( $D_{Jost}$ ) et le coefficient de consanguinité ( $F_{IS}$ ) ont été calculés via le package *diveRsity* (Keenan *et al.*, 2013) sur R. L'analyse de ces indices permet de vérifier le taux de consanguinité des chats forestiers et de vérifier s'il existe une différenciation génétique entre les différentes populations. Ces analyses ont été effectuées avec 1000 répétitions de bootstrap.

### 3.5. Génétique du paysage

Cette analyse permet de vérifier les liens génétiques entre individus et de comprendre leur résistance face aux éléments du paysage. Elle consiste à corriger la distance géographique par la résistance qu'offre le paysage.

Etant donnée l'absence d'échantillon sur une distance géographique importante entre le Luxembourg et la Wallonie ainsi que la différence dans la méthode d'échantillonnage, il aurait été impossible d'effectuer l'analyse sur l'ensemble des données provenant des deux pays sans risque de biais. En comparaison à la Wallonie, le Luxembourg présentait un plus grand nombre d'échantillons et une meilleure répartition de ceux-ci sur l'ensemble du territoire. C'est donc sur les données issues du Luxembourg que nous avons décidé d'effectuer cette analyse.

#### 3.5.1. Mesure de la distance génétique

La première étape était de mesurer la distance génétique entre les individus. Pour ce faire, une AFC a été réalisée sur le programme GENETIX 4.05.2 (Belkhir *et al.*, 2004). Ce sont les dix premiers axes de l'AFC qui ont été testés. A l'issue de cette analyse, une matrice contenant les valeurs de position de chaque individu sur chaque axe de l'AFC a été obtenue.

Nous avons ensuite converti ces valeurs de position sur les axes en distances euclidiennes à l'aide du package R *Ecodist* (Goslee & Urban, 2007). Ces distances correspondaient aux distances génétiques entre individus.

### 3.5.2. Résistance du paysage

Pour calculer la résistance, nous avons utilisé le package R *resistanceGA* 3.1-3 (Peterman, 2018). Ce package est basé sur des algorithmes génétiques qui fonctionnent de manière stochastique en imitant les processus de sélection naturelle (Kimmig *et al.*, 2020).

Nous avons sélectionné sept éléments du paysage (facteurs environnementaux) qui pouvaient potentiellement influencer le flux génétique des chats forestiers au Luxembourg : (1) les zones urbanisées, (2) les zones agricoles, (3) les forêts, (4) les autoroutes, (5) les chemins de fer, (6) les grandes étendues d'eau (lacs et grandes rivières) et (7) la pente. Chaque couche a été convertie en grilles, chaque cellule de la grille possède une valeur de un ou zéro selon si elle présente ou non l'élément du paysage considéré. Les facteurs sont donc des variables binaires, seule la pente est continue. La taille des cellules des grilles était de 500x500m.

La sélection d'un modèle adéquat se faisait à l'aide des valeurs d'AIC<sub>c</sub>. Pour qu'un modèle soit considéré comme significativement mieux adapté en comparaison au modèle qui ne considère que la distance directe entre les individus, la différence d'AIC<sub>c</sub> ( $\Delta AIC_c$ ) devait être supérieure à 2.

La résistance des facteurs environnementaux a été optimisée à l'aide de la commande *ss\_optim()* du package *resistanceGA*. Afin de s'assurer de la convergence des résultats, chaque optimisation pour chaque élément du paysage a été effectuée deux fois. Un bootstrapping de 1000 itérations a ensuite été réalisé grâce à la commande *resist.boot()*. Ce processus permet d'éviter que quelques échantillons aient une influence disproportionnée sur les résultats.

La résistance des éléments du paysage a d'abord été optimisée de manière individuelle.

### 3.5.3. Combinaison des facteurs environnementaux

Les facteurs ont ensuite été combinés de manière à vérifier si les modèles à plusieurs facteurs fonctionnent mieux que ceux à un seul facteur. Cela permet également de mieux comprendre la connectivité au sein du paysage dans son entièreté. Les facteurs dont le modèle révélait une  $\Delta AIC_c < 2$  avec la distance n'étaient pas considérés comme significatifs et n'étaient donc pas pris en compte dans les modèles combinés.

Pour ce faire, le meilleur modèle était combiné au deuxième meilleur modèle. Si cette combinaison améliorait le modèle ( $\Delta AIC_C > 2$ ) après le bootstrap, ce modèle combiné était préservé et le troisième meilleur modèle y était ajouté. Si la combinaison n'améliorait pas le modèle individuel, le troisième meilleur modèle était ajouté au premier. Ces opérations continuaient jusqu'à ne plus avoir de modèles individuels à ajouter. Chaque analyse était effectuée deux fois.

Deux éléments pouvaient influencer les résultats : la valeur initiale des facteurs et le chevauchement des facteurs linéaires. Les valeurs attribuées aux facteurs dépendaient de leur résistance estimée lors de l'analyse individuelle. Ainsi, un facteur qui semble faciliter le flux génétique prenait une valeur de zéro, un facteur avec une grande résistance au flux génétique prenait une valeur de deux ou plus et la matrice restante prenait une valeur de un. Concernant le chevauchement, les deux facteurs linéaires susceptibles de se chevaucher étaient les autoroutes et les chemins de fer. Nous avons décidé que celui qui présentait le meilleur modèle individuel dominait l'autre. C'est-à-dire que, dans une cellule où les deux facteurs se chevauchaient, celui avec le meilleur modèle était mis en évidence.

Pour finir, le meilleur modèle combiné obtenu a été utilisé dans *circuitscape* v.4.0.5 (Shah & McRae, 2008) pour prédire les corridors facilitant le flux génétique. Ces corridors étaient déduits à partir des localisations des individus échantillonnés. Une deuxième carte a été déduite à partir de 250 localisations aléatoires ajoutées aux échantillons initiaux autour de la zone d'étude.

#### 4. Aspect social

A l'issue de la partie concernant les chats forestiers en Wallonie, une synthèse des résultats ainsi qu'un questionnaire ont été distribués aux agents du DNF ayant participé à la récolte des échantillons. Ce questionnaire avait pour objectif de connaître leur perception de l'espèce et de sa conservation. Le questionnaire complet se trouve en annexe de ce travail.

# RÉSULTATS

---

## 1. Wallonie

### 1.1. Echantillonnage

A l'issue de la période d'échantillonnage en Wallonie, 157 tubes d'échantillons avaient été récoltés par le WWF. Certains échantillons présentant très peu de poils ou des poils appartenant manifestement à une autre espèce n'ont pas été extraits. L'ADN a été extrait de 152 échantillons de poils.

### 1.2. Génotypage

A la suite de l'extraction et du génotypage de l'ADN de ces 152 échantillons, la matrice des données obtenue a été nettoyée en excluant les échantillons présentant plus de 30% de données manquantes. Ainsi, 83 échantillons (54.6%) ont été exclus, laissant un total de 69 échantillons (45.4%) pour les analyses suivantes.

### 1.3. Identification individuelle

En acceptant un maximum de 6 *mismatch* entre les génotypes pour être considérés comme appartenant au même individu, trois cas probables de recapture ont pu être mis en évidence parmi les 69 échantillons. Le premier cas concernait les échantillons WF109 et WF114, le deuxième WF132 et WF134 et le troisième concernait trois échantillons : WF135, WF141 et WF143. Ces recaptures ne sont pas surprenantes. En effet, nous avons constaté après vérification de la provenance des échantillons qu'ils ont été récoltés sur les mêmes piquets ou sur des piquets différents mais au sein de la même placette (Figure 9).

Après avoir mis la matrice des données à jour en regroupant les génotypes des mêmes individus, celle-ci présentait finalement 65 individus.

Grâce aux marqueurs liés au chromosome Y, le sexe des individus a pu être déterminé. Parmi les 65 individus, 18 étaient des femelles, 45 des mâles et deux étaient indéterminés.

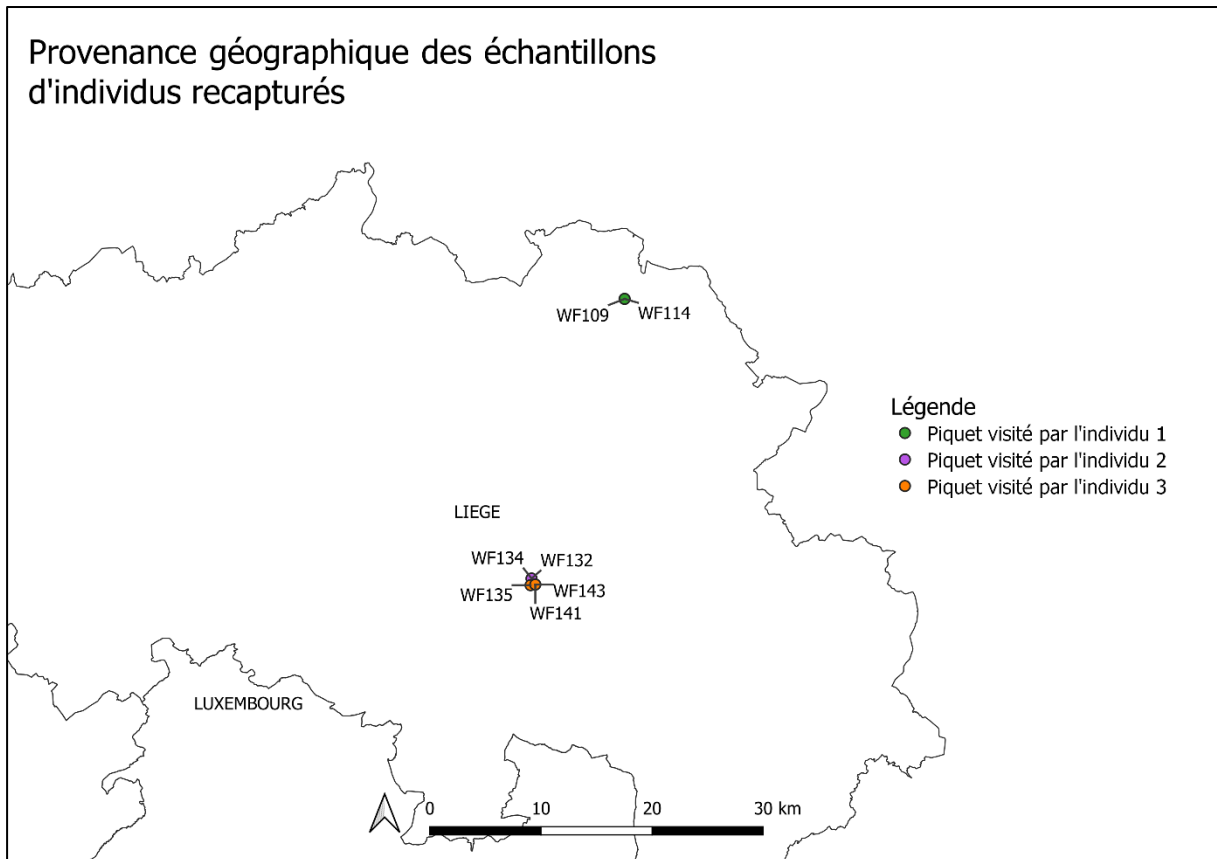
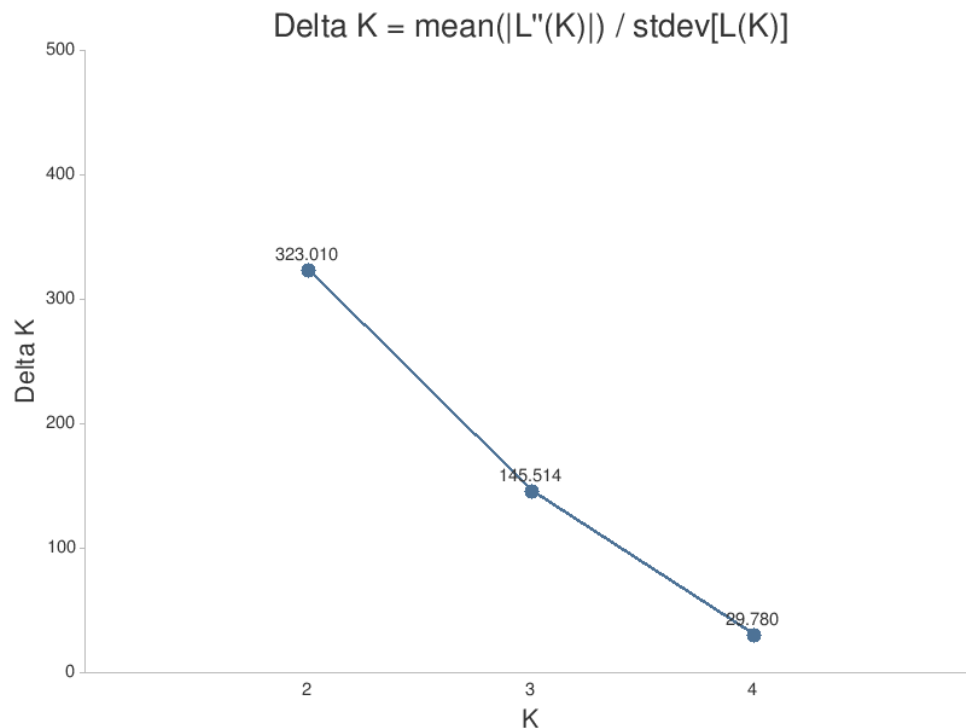


Figure 9 : Provenance géographique des 7 échantillons concernés par des cas de recapture. Les échantillons WF109 et WF114 appartiennent à l'individu 1 et ont été collectés sur le même piquet (vert) ; WF132 et WF134 appartiennent à l'individu 2 et ont été collectés sur le même piquet (rose) ; WF135, WF141 et WF143 appartiennent à l'individu 3 et ont été récoltés sur deux piquets différents (orange) au sein de la même placette

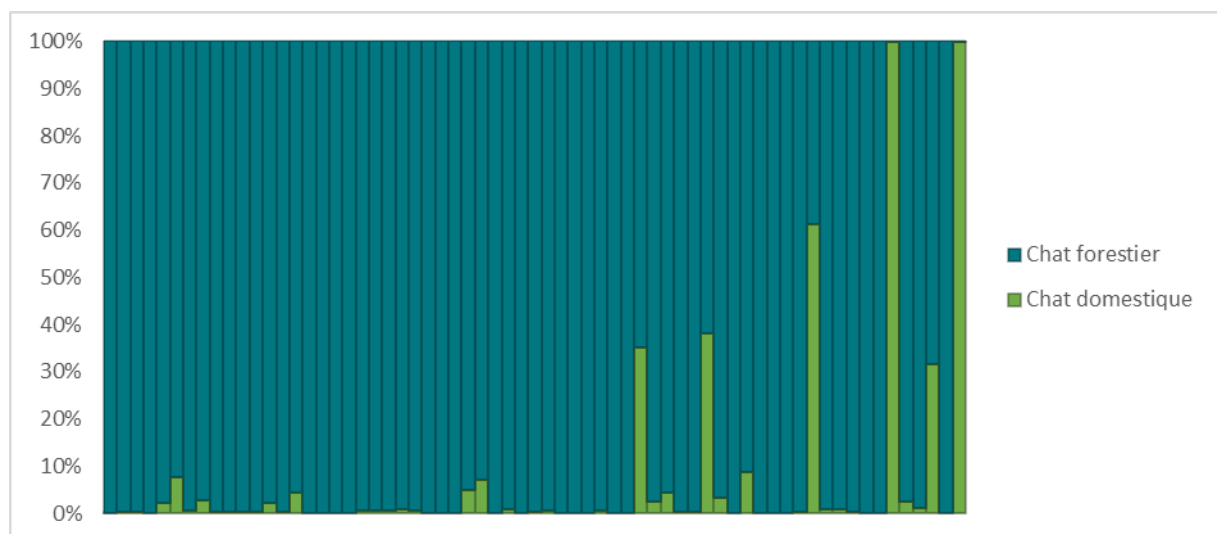
#### 1.4. Structure génétique

La première analyse via le logiciel STRUCTURE visait à mettre en évidence les individus forestiers, domestiques et potentiellement hybrides en Wallonie. Comme l'illustre la figure 10, le nombre de groupes génétiques le plus probable selon la méthode d'Evanno *et al.* (2005) était de deux (meilleure valeur de delta K pour  $K = 2$ ). Sur base de comparaison avec des échantillons de chats domestiques de référence issus de vétérinaires lors de précédents travaux, ces deux groupes génétiques ont pu être assignés aux espèces *Felis silvestris* (chat forestier) et *Felis catus* (chat domestique).



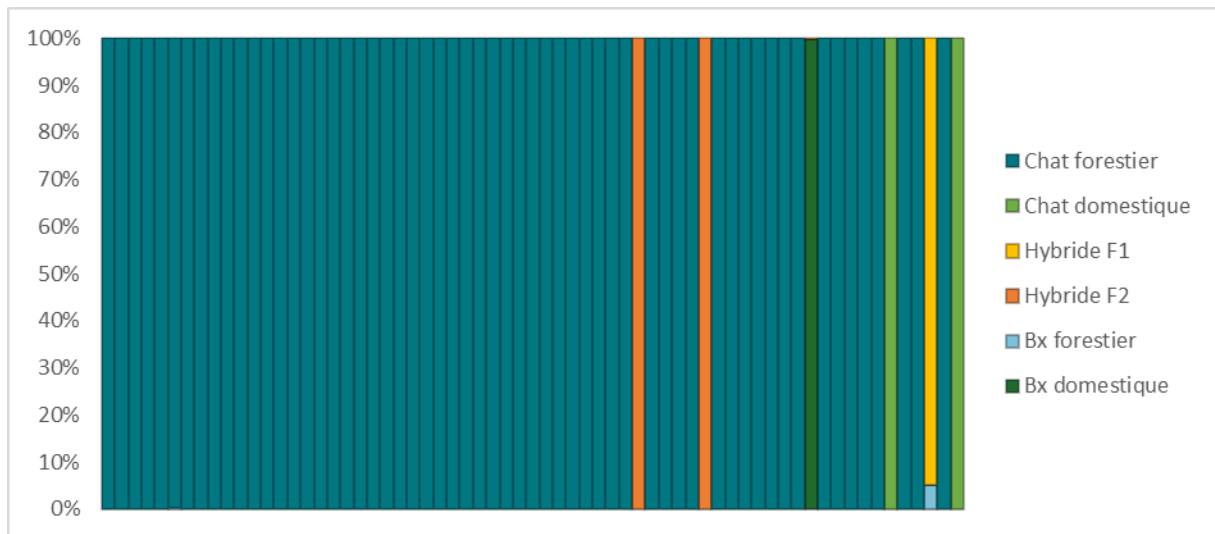
**Figure 11 : Graphique représentant la valeur de delta K en fonction de K (K étant le nombre de groupes génétiques) selon la méthode d'Evanno *et al.* (2005) d'après l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des données de Wallonie. La valeur de delta K est la plus élevée lorsque K = 2**

Les assignations de chaque individu à l'une des deux espèces sont représentées sur la figure 11. D'après cette analyse, 59 individus seraient des chats forestiers (90.7% des génotypes analysés) et deux (WF139 et WF147) seraient des chats domestiques (3.1%). Pour les quatre individus restants (6.2%), l'assignation n'était pas claire. Ces individus seraient potentiellement des hybrides.



**Figure 10 : Résultats de l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des génotypes de chat collectés en Wallonie pour K = 2. Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque génotype d'appartenir à chacun des clusters génétiques (chats forestiers en bleu ; chats domestiques en vert)**

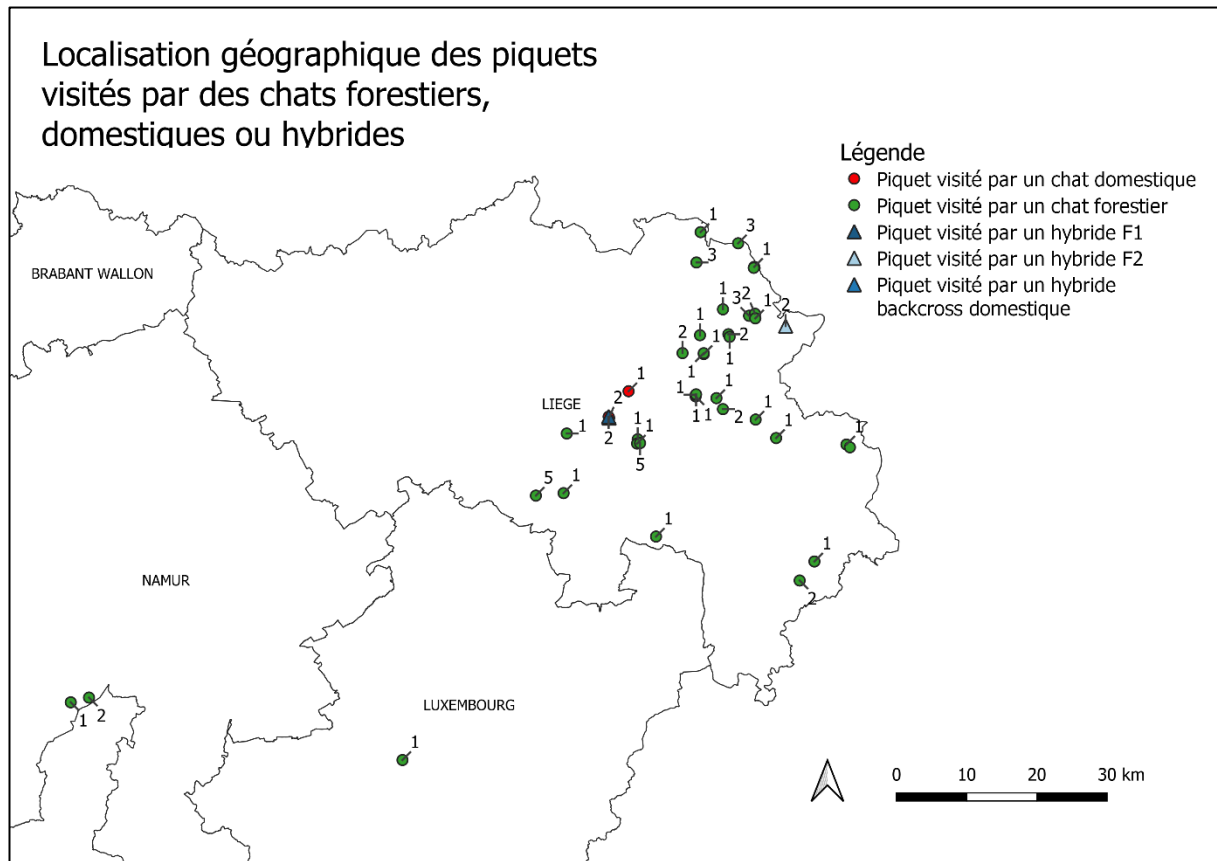
Afin d'étudier de manière plus précise les phénomènes d'hybridation entre les deux espèces et de détecter le niveau d'hybridation, une analyse avec le programme NewHybrids a été effectuée sur ces mêmes données. Cette analyse a abouti aux mêmes résultats (illustrés sur la figure 12) que ceux obtenus via STRUCTURE : 59 chats forestiers et deux chats domestiques. Les quatre potentiels hybrides ont pu être confirmés et assignés aux différentes catégories d'hybride. Nous avons donc identifié un hybride de type F1 (WF145), deux de type F2 (WF102 et WF108b) et un de type Bx dom, c'est-à-dire un backcross avec un chat domestique (WF128). Le taux d'hybridation a pu être calculé comme le nombre d'hybrides par nombre total d'individus (en excluant les chats domestiques purs). Ce taux était de 0.06 (4/63).



**Figure 12 : Résultats de l'analyse du logiciel NewHybrids sur l'ensemble des génotypes de chat collectés en Wallonie. Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque génotype d'appartenir à chacune des catégories génétiques (chats forestiers purs en bleu foncé ; chats domestiques purs en vert clair ; hybrides de 1<sup>ère</sup> génération en jaune ; hybrides de 2<sup>ème</sup> génération en orange ; backcross avec un chat forestier en bleu clair ; backcross avec un chat domestique en vert foncé)**

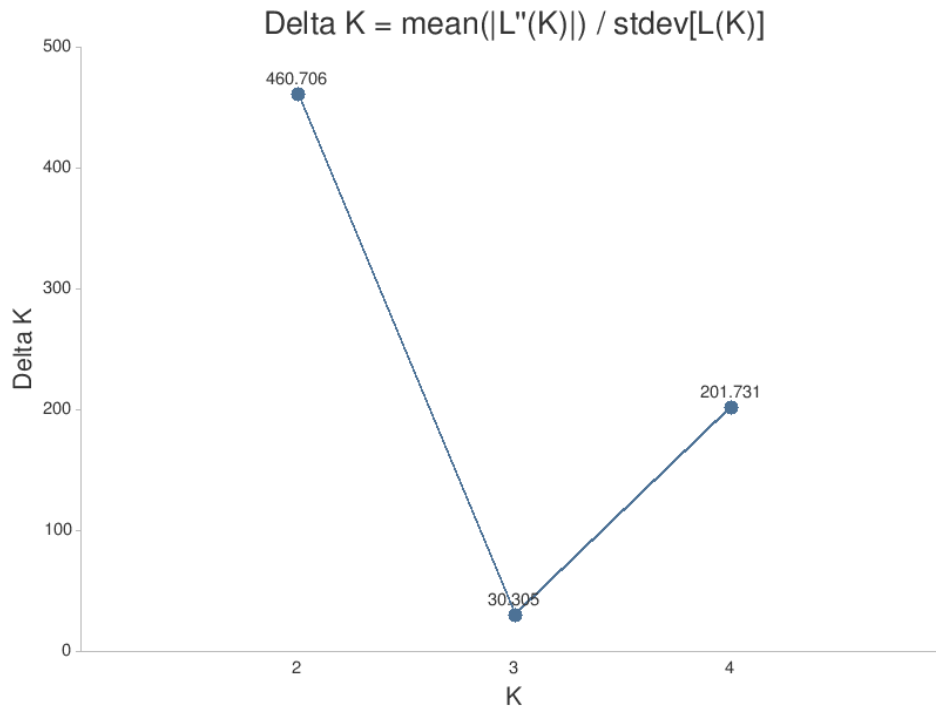
La répartition en Wallonie des chats forestiers, domestiques et hybrides identifiés par l'analyse génétique est représentée sur la figure 13.





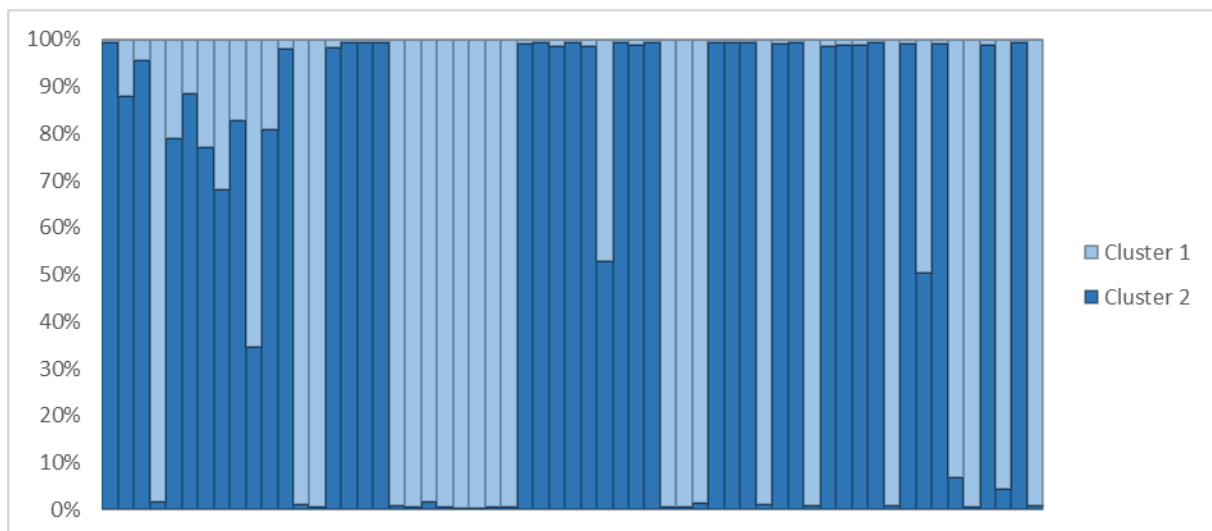
**Figure 13 : Répartition géographique des chats forestiers (vert), domestiques (rouge) et hybrides (F1 bleu foncé ; F2 bleu clair ; backcross domestiques turquoise) en Wallonie d’après les piquets sur lesquels les échantillons ont été récoltés. Les chiffres indiquent le nombre de chats différents par piquet**

Une nouvelle analyse sur STRUCTURE a été effectuée uniquement sur les individus identifiés comme chats forestiers purs ( $N = 59$ ) grâce aux deux analyses précédentes. Cette analyse avait pour objectif de mettre en évidence une éventuelle structure populationnelle. Le nombre de groupes génétiques le plus probable d’après la méthode d’Evanno *et al.* (2005) était de deux (Figure 14 ; meilleure valeur de delta K pour  $K = 2$ ).



**Figure 14 :** Graphique représentant la valeur de delta K en fonction de K (K étant le nombre de groupes génétiques) selon la méthode d'Evanno *et al.* (2005) d'après l'analyse STRUCTURE sur les chats forestiers purs de Wallonie. La valeur de delta K est la plus élevée lorsque K = 2

Parmi les chats forestiers purs (N = 59), 21 ont été assignés au cluster 1 (35.6%) et 30 au cluster 2 (50.8%). Huit individus (13.6%) n'ont pu être assignés à aucun des deux clusters car leur probabilité d'assignation  $q^{(i)}$  était  $\leq 0.85$  pour les deux clusters. Les assignations de chaque individu sont représentées sur la figure 15. La figure 16 illustre la répartition géographique des individus de ces deux clusters.



**Figure 15 :** Résultats de l'analyse STRUCTURE sur les génotypes de chats forestiers purs collectés en Wallonie pour K = 2. Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque génotype d'appartenir à chacun des clusters génétiques (cluster 1 en bleu clair ; cluster 2 en bleu foncé)

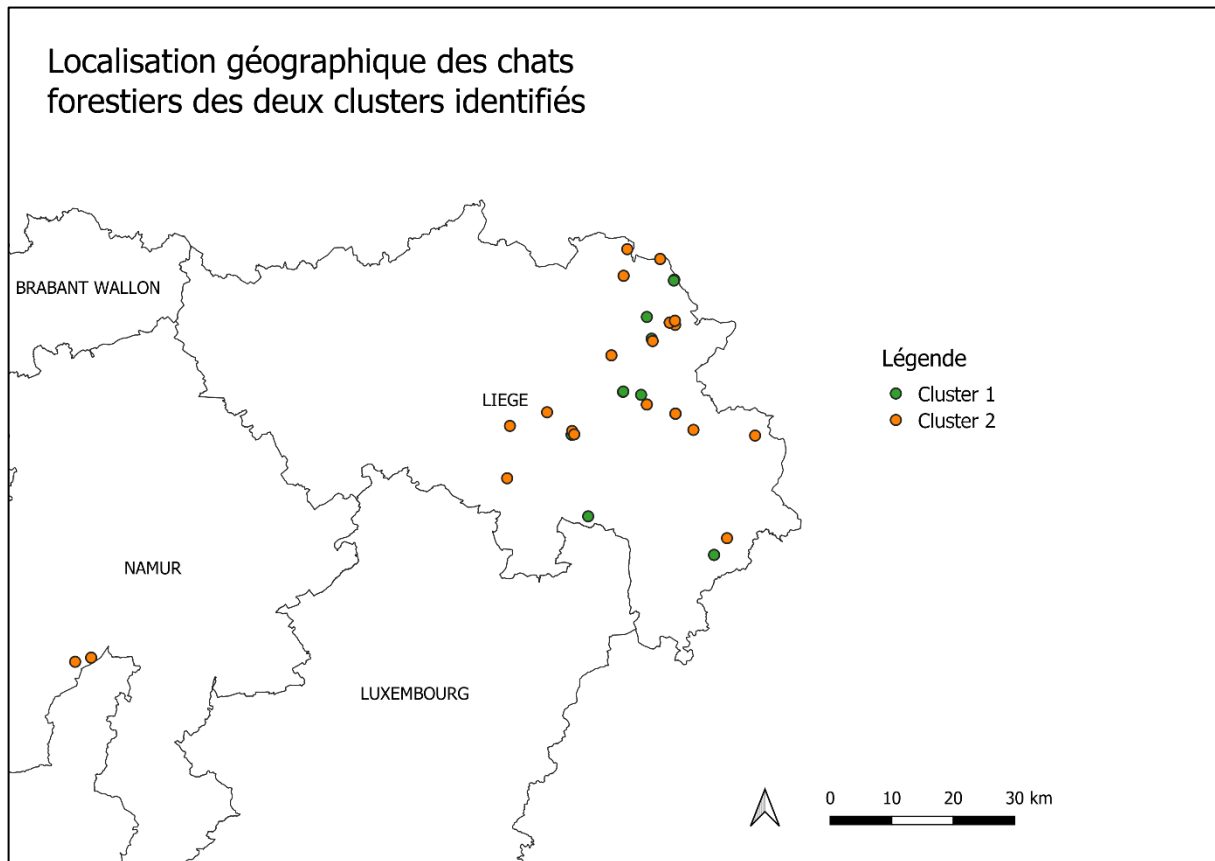


Figure 16 : Répartition géographique des chats forestiers appartenant au cluster 1 (vert) et 2 (orange) identifiés via le programme STRUCTURE en Wallonie

## 2. Luxembourg

### 2.1. Génotypage

A la suite du génotypage de l'ADN de ces 219 échantillons, 63 échantillons (29%) présentaient plus de 30% de données manquantes. Ces échantillons ont été exclus, laissant un total de 156 échantillons pour les analyses suivantes.

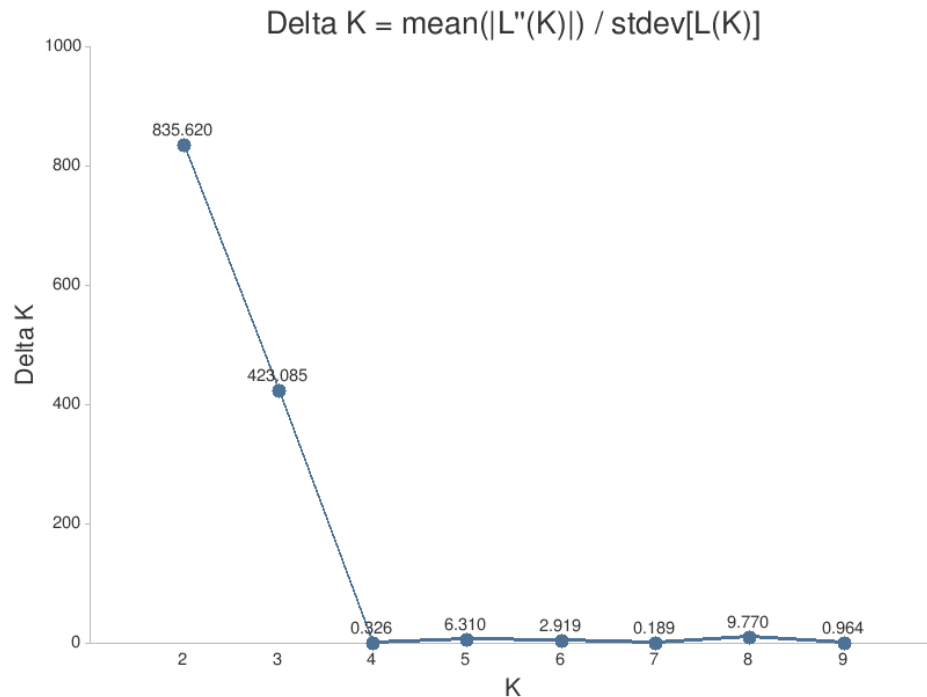
### 2.2. Identification individuelle

Avec un maximum de 6 *mismatch* accepté entre les génotypes pour qu'ils soient considérés comme appartenant au même individu, 18 cas probables de recapture ont pu être mis en évidence parmi les 156 échantillons. Dans l'étude de Pigneur & Michaux (2018), 15 cas de recapture avaient été constatés sur les données microsatellites via le logiciel GIMLET. Seuls six cas coïncident avec les résultats de la présente étude.

Après mise à jour de la matrice des données en regroupant les génotypes des mêmes individus, celle-ci présentait finalement 127 individus.

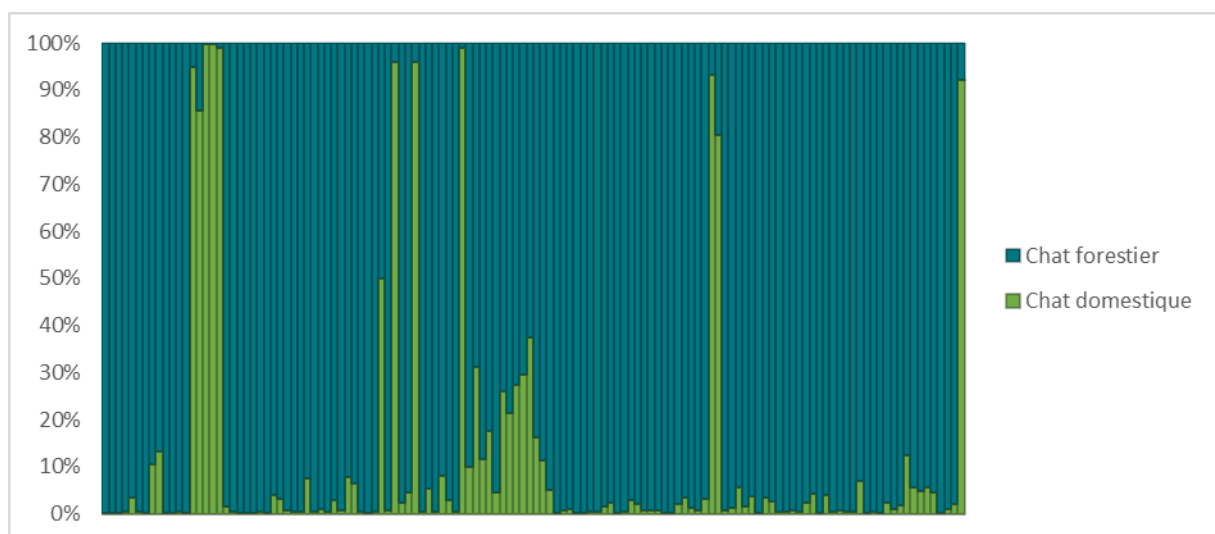
### 2.3. Structure génétique

Comme pour la Wallonie, une analyse STRUCTURE a été effectuée afin d'identifier les individus forestiers, domestiques et les potentiels hybrides. Le nombre de groupes génétiques le plus probable selon la méthode d'Evanno *et al.* (2005) était de deux (meilleure valeur de delta K pour K = 2 ; Figure 17).



**Figure 17 : Graphique représentant la valeur de delta K en fonction de K (K étant le nombre de groupes génétiques) selon la méthode d'Evanno *et al.* (2005) d'après l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des données du Luxembourg. La valeur de delta K est la plus élevée lorsque K = 2**

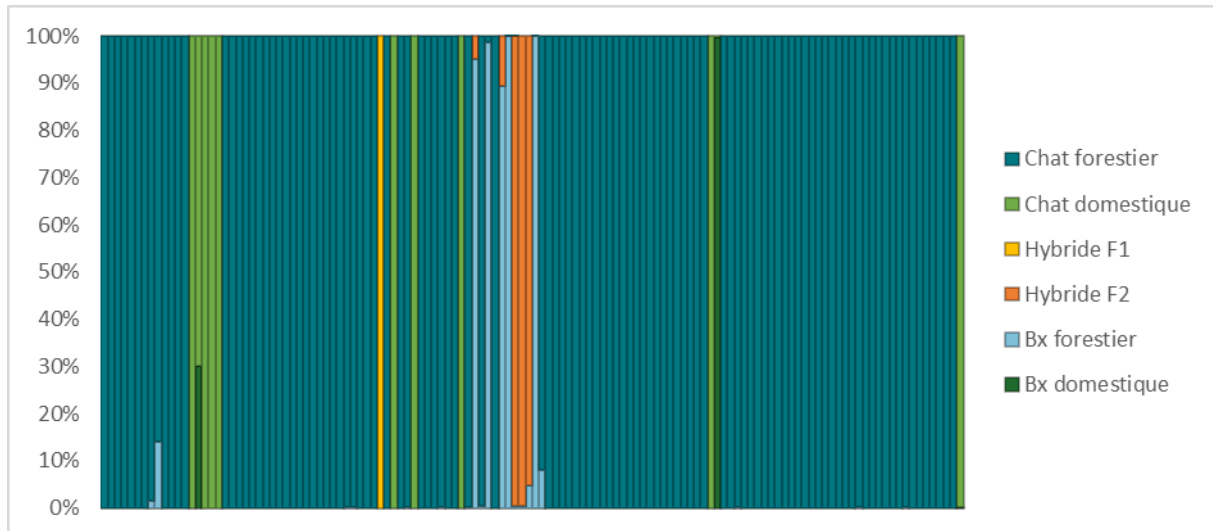
L'assignation des individus aux deux espèces est représentée sur la figure 18. Parmi les 127 individus, 107 se révélaient être des chats forestiers (84.3%) et dix des chats domestiques



**Figure 18 : Résultats de l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des génotypes de chat collectés au Luxembourg pour K = 2. Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque génotype d'appartenir à chacun des clusters génétiques (chats forestiers en bleu ; chats domestiques en vert)**

(7.8%). Les dix chats restants (7.8%) ne montraient pas une assignation claire à l'une des deux espèces et seraient donc potentiellement des hybrides.

Une analyse sur NewHybrids a été effectuée sur ces mêmes données afin de confirmer les résultats obtenus avec STRUCTURE et de détecter le niveau d'hybridation. Cette analyse aboutit aux mêmes résultats (illustrés sur la figure 19) que ceux obtenus via STRUCTURE : 107 chats forestiers et 10 chats domestiques. Les dix potentiels hybrides ont pu être confirmés et assignés aux différentes catégories d'hybride.



**Figure 19 : Résultats de l'analyse du logiciel NewHybrids sur l'ensemble des génotypes de chat collectés au Luxembourg.** Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque génotype d'appartenir à chacune des catégories génétiques (chats forestiers purs en bleu foncé ; chats domestiques purs en vert clair ; hybrides de 1<sup>ère</sup> génération en jaune ; hybrides de 2<sup>ème</sup> génération en orange ; backcross avec un chat forestier en bleu clair ; backcross avec un chat domestique en vert foncé)

Le taux d'hybridation (nombre d'hybrides/nombre total d'individus) était de 0.078 (10/127). Ce taux est similaire à celui calculé par Pigneur & Michaux (2018) sur les mêmes données (7%).

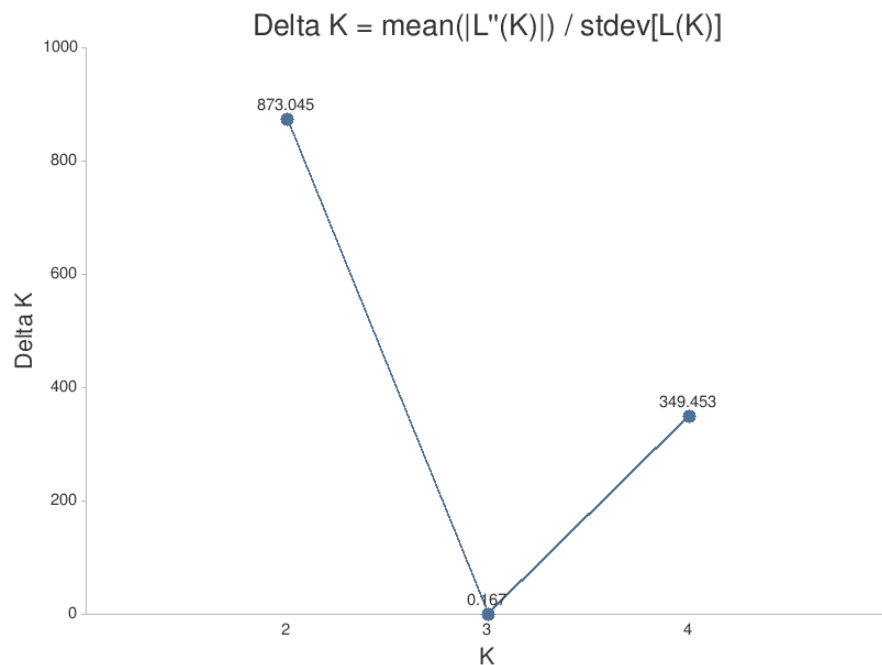
### 3. Wallonie et Luxembourg

#### 3.1. Identification individuelle

Aucun cas de recapture entre les deux pays n'a été mis en évidence par l'analyse.

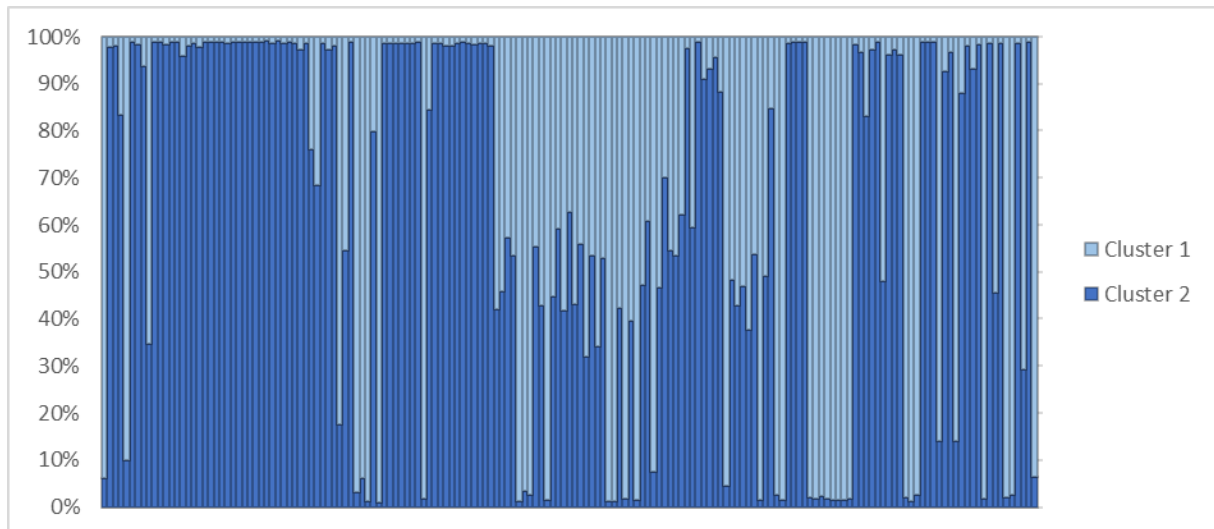
#### 3.2. Structure génétique

L'analyse via STRUCTURE sur les chats forestiers de Wallonie avait mis en évidence l'existence de deux groupes génétiques. Une nouvelle analyse incluant la totalité des chats forestiers purs (N = 166) provenant de Wallonie et du Luxembourg a été réalisée afin de vérifier si les mêmes clusters étaient identifiés ou si deux clusters différents apparaissaient pour chaque pays. Le nombre de groupes génétiques le plus probable d'après la méthode d'Evanno *et al.* (2005) était de deux (Figure 20 ; meilleure valeur de delta K pour K = 2).



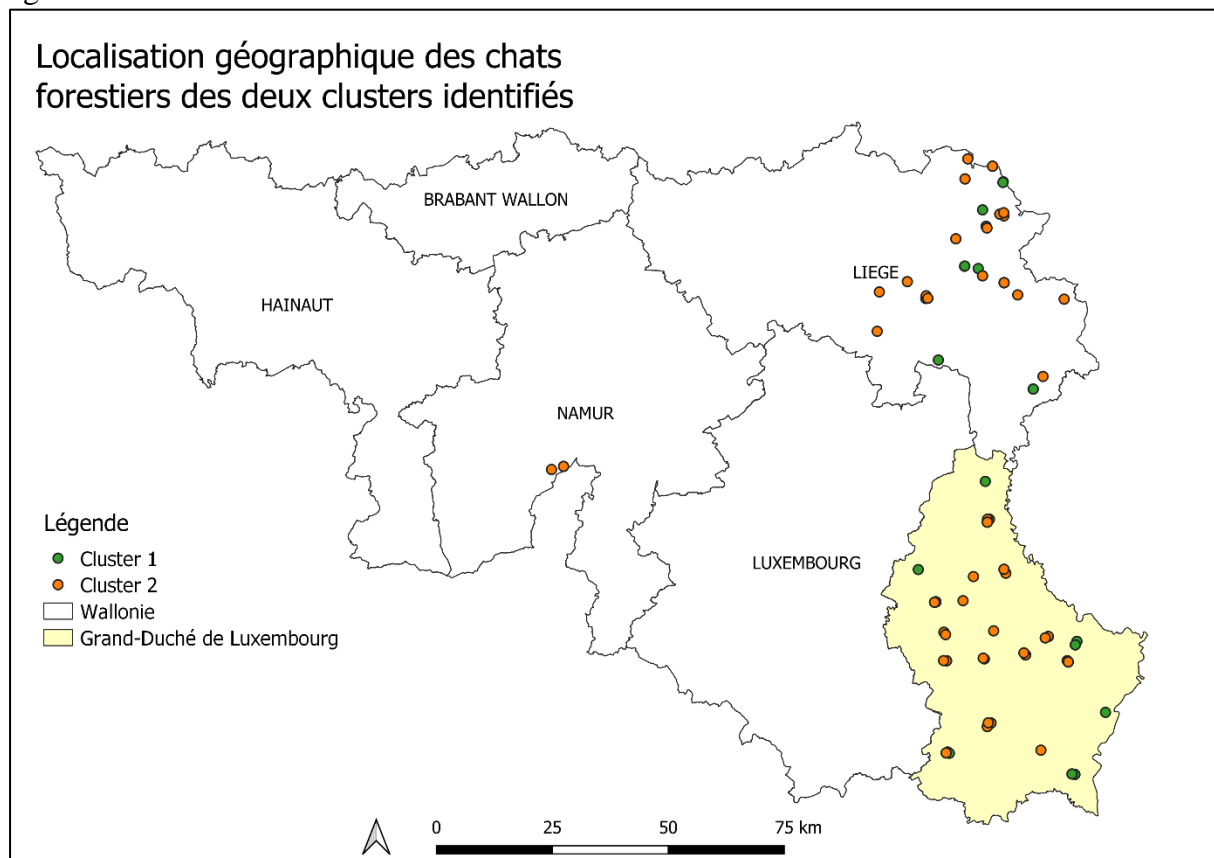
**Figure 20 :** Graphique représentant la valeur de delta K en fonction de K (K étant le nombre de groupes génétiques) selon la méthode d'Evanno *et al.* (2005) d'après l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des chats forestiers purs de Wallonie et du Luxembourg. La valeur de delta K est la plus élevée lorsque K = 2

Sur l'entièreté des chats forestiers purs (N = 166), 37 ont été assignés au cluster 1 (22.3%), 84 au cluster 2 (50.6%) et 45 (27.1%) n'ont pu être assignés à aucun des deux clusters car leur probabilité d'assignation  $q^{(i)}$  était  $\leq 0.85$  pour les deux clusters. Les assignations de chaque individu sont représentées sur la figure 21.



**Figure 22 : Résultats de l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des génotypes de chats forestiers purs pour  $K = 2$ . Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque génotype d'appartenir à chacun des clusters génétiques (cluster 1 en bleu clair ; cluster 2 en bleu foncé)**

Les deux clusters mis en évidence par l'analyse sont similaires à ceux obtenus uniquement à partir des données de Wallonie, les mêmes individus se retrouvent dans chaque cluster. La répartition géographique des individus de ces deux clusters est représentée à la figure 22.



**Figure 21 : Répartition géographique des chats forestiers appartenant au cluster 1 (vert) et 2 (orange) identifiés via le programme STRUCTURE en Wallonie et au Luxembourg**

#### 4. Diversité génétique

La valeur du coefficient de consanguinité  $F_{IS}$  pour les chats forestiers purs ( $N = 59$ ) de Wallonie était positive et relativement élevée : 0.32 [0.26-0.39]. De plus, le taux d'hétérozygotie observée était très faible (0.11). A l'inverse, le coefficient de consanguinité  $F_{IS}$  pour les chats forestiers purs ( $N = 107$ ) du Luxembourg était assez bas : 0.067 [0.02-0.11]. Les valeurs de  $F_{IS}$  des deux clusters sont assez proches avec des intervalles de confiance qui se chevauchent : 0.0729 [-0.0066-0.1498] pour le cluster 1 et 0.11 [0.0521-0.1662] pour le cluster 2.

**Tableau 1 : Paramètres de diversité génétique des groupes de chats analysés : hétérozygotie attendue ( $H_e$ ) et observée ( $H_o$ ), équilibre d'Hardy-Weinberg (HWE), coefficient de consanguinité ( $F_{IS}$ ) et intervalles de confiance.  $N$  = nombre d'individus analysés**

	N	$H_o$	$H_e$	$F_{IS}$
Chats forestiers (Luxembourg)	107	0.18	0.2	0.0674 [0.0242-0.1117]
Chats forestiers (Wallonie)	59	0.11	0.16	0.3233 [0.2564-0.3881]
Chats domestiques (Wallonie)	2	NaN	0.11	0.0476 [-0.3624-0.5423]
Hybrides (Wallonie)	4	NaN	0.35	-0.0404 [-0.4117-0.1685]
Cluster 1 (Wallonie + Luxembourg)	35	0.14	0.15	0.0729 [-0.0066-0.1498]
Cluster 2 (Wallonie + Luxembourg)	84	0.144	0.15	0.11 [0.0521-0.1662]

L'indice  $D_{Jost}$  mesure la différenciation génétique entre des populations. Les populations de chats forestiers et domestiques en Wallonie étaient donc bien isolées génétiquement l'une de l'autre car leur  $D_{Jost}$  supérieur à 0.25 ( $D_{Jost} = 0.54$ ) traduit une très grande différenciation génétique. Cette différenciation était modérée entre les populations de chats forestiers et d'hybrides ( $D_{Jost} = 0.07$ ) et les populations de chats domestiques et d'hybrides ( $D_{Jost} = 0.03$ ) en Wallonie. Concernant les deux clusters ainsi que les populations de Wallonie et du Luxembourg, la différenciation génétique était faible ( $D_{Jost} = 0.005$  et 0.0025).

**Tableau 2 : Estimations de l'indice de différenciation  $D_{Jost}$  (et intervalles de confiance) entre différents groupes de chats analysés**

Groupes comparés	$D_{Jost}$
Forestiers vs Domestiques (Wallonie)	0.5429 [0.4616-0.5883]
Forestiers vs Hybrides (Wallonie)	0.0663 [0.0359-0.1225]
Domestiques vs Hybrides (Wallonie)	0.0952 [0.0302-0.1704]
Cluster 1 vs Cluster 2 (Wallonie + Luxembourg)	0.0049 [0.0042-0.0059]
Wallonie vs Luxembourg	0.0025 [0.0013-0.0038]



## 5. Génétique du paysage

### 5.1. Optimisation des résistances individuelles des facteurs environnementaux

Nous avons constaté que les distances génétiques basées sur les deux premiers axes de l'AFC donnaient la plus grande différence d'AIC<sub>C</sub> entre le facteur distance et les autres facteurs pris individuellement.

Les résultats de l'analyse sur les facteurs pris individuellement après bootstrapping sont repris dans le tableau 3. Les résistances sont représentées cartographiquement sur la figure 23. Ces premières informations nous ont permis d'écarter les étendues d'eau des analyses suivantes, ce facteur n'étant pas significatif. En effet, l'AIC<sub>C</sub> de ce modèle était plus grand que celui du modèle ne considérant que la distance et la  $\Delta AIC_C$  entre ces modèles était inférieure à 2.

Le meilleur modèle étant celui avec le plus petit AIC<sub>C</sub>, il s'agissait ici des autoroutes. La figure 23 nous a déjà permis de constater que ce facteur constituait une barrière au flux génétique assez importante en comparaison au reste du paysage (la résistance était > 400). D'après cette figure, les zones urbaines et les chemins de fer avaient également une résistance importante au flux génétique. Les forêts et zones agricoles, à l'inverse, semblaient faciliter le flux génétique.

**Tableau 3 : Résultats après bootstrapping sur les sept facteurs environnementaux. L'analyse a été répétée deux fois, les résultats présentés ici sont ceux de l'analyse qui présentait le meilleur AIC<sub>C</sub> (la 1ère). Moyenne des valeurs d'AIC<sub>C</sub> obtenues (avg.AIC<sub>C</sub>), nombre de paramètres (k), différence de valeurs moyennes d'AIC<sub>C</sub> entre le meilleur modèle (celui qui a l'AIC<sub>C</sub> le plus bas) et chaque modèle suivant ( $\Delta AIC_C$ ), moyenne des poids d'AIC<sub>C</sub> (avg.weight), moyenne marginale du R<sup>2</sup> (avg.R<sup>2</sup>m)**

Facteur	avg.AIC <sub>C</sub>	k	$\Delta AIC_C$	avg.weight	avg.R <sup>2</sup> m
Autoroutes	41852.59	3	0	0.999	0.315
Chemins de fer	42052.48	3	199.89	< 0.001	0.298
Zones urbanisées	42218.66	3	365.89	< 0.001	0.128
Forêts	42307.1	3	454.51	< 0.001	0.189
Pente	42349.23	4	496.64	< 0.001	0.129
Zones agricoles	42353.31	3	500.72	< 0.001	0.100
Distance	42360.51	2	507.92	< 0.001	0.083
Etendues d'eau	42360.52	3	507.93	< 0.001	0.083

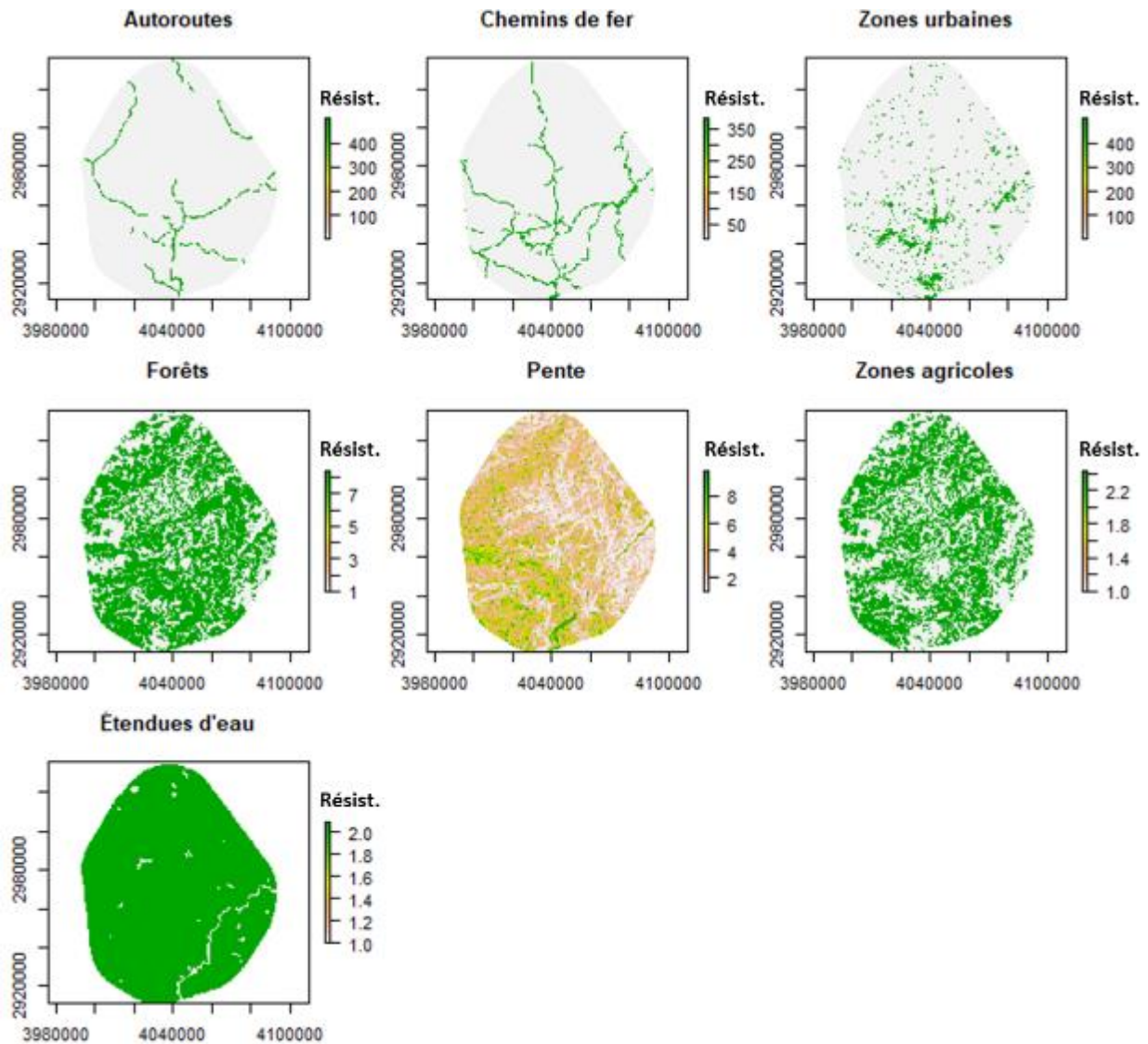


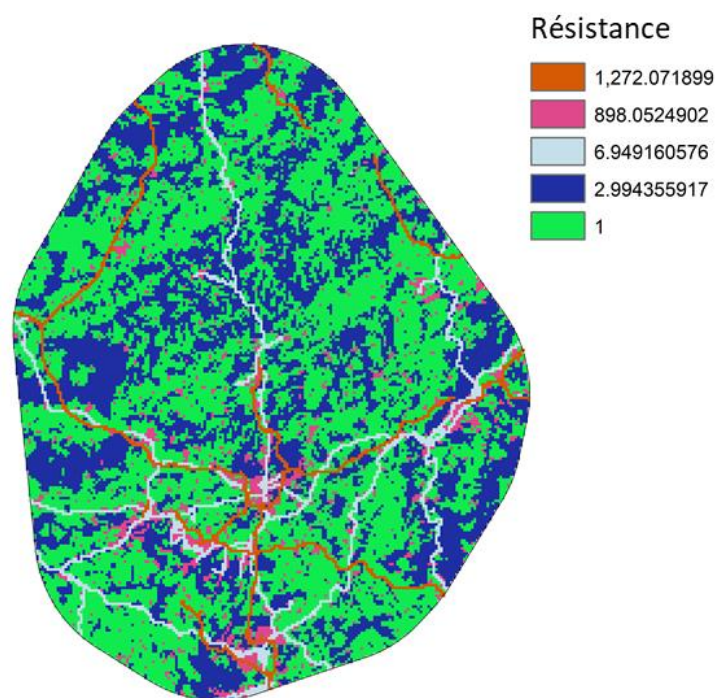
Figure 23 : Représentations cartographiques des résistances optimisées des facteurs individuels

## 5.2. Combinaison des facteurs environnementaux

A l'issue des différentes combinaisons de modèles (les résultats sont repris dans le tableau 4) et après bootstrapping, nous avons pu conclure que le meilleur modèle combiné était le modèle « mruf ». Ce dernier incluait les facteurs « autoroutes », « chemins de fer », « zones urbanisées », « forêts » et « zones agricoles ». L'ajout de la pente n'améliorait effectivement pas le modèle, l'AIC<sub>C</sub> étant plus grand que celui du modèle « mruf ». Dans ce modèle, les forêts (résistance = 3) et les zones agricoles (résistance = 1) facilitaient le flux génétique, tandis que les autoroutes (résistance = 1272) et les zones urbanisées (résistance = 898) constituaient des barrières importantes à ce flux génétique. Les chemins de fer (résistance = 7) avaient une résistance relativement négligeable en comparaison à ces derniers facteurs et auraient donc plutôt tendance à améliorer le flux génétique. La représentation cartographique de ce modèle est illustrée sur la figure 24.

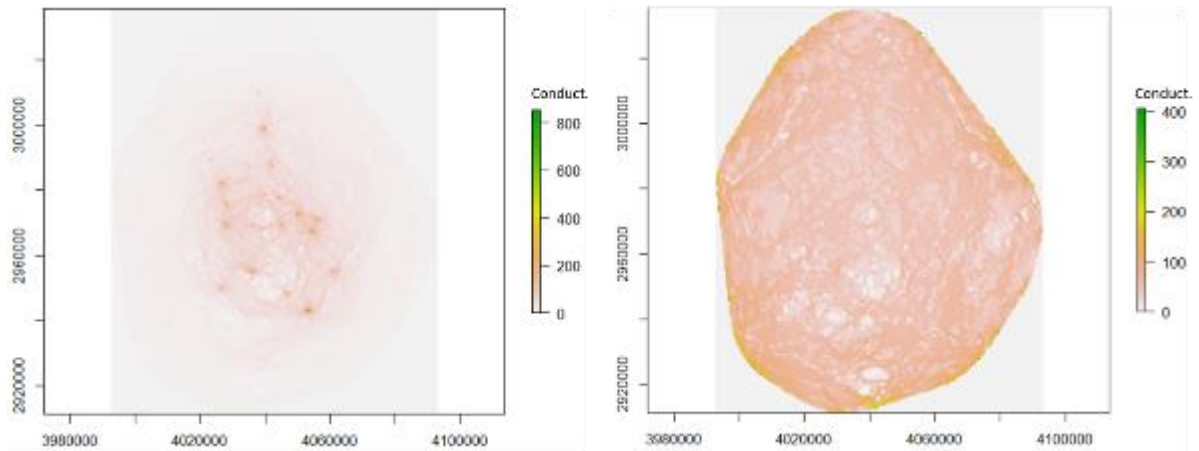
**Tableau 4 : Résultats après bootstrapping de chaque combinaison des facteurs environnementaux. Chaque facteur était ajouté au meilleur modèle individuel identifié précédemment (= « autoroutes »). Moyenne des valeurs d'AICc obtenues (avg.AICc), nombre de paramètres (k), différence de valeurs moyennes d'AICc entre le meilleur modèle (celui qui a l'AICc le plus bas) et chaque modèle suivant ( $\Delta AICc$ ), moyenne des poids d'AICc (avg.weight), moyenne marginale du  $R^2$  (avg. $R^2m$ )**

Facteur	avg.AICc	k	$\Delta AICc$	avg.weight	avg. $R^2m$
Mruf	41827.72	6	0	0.767	0.321
Mru	41837.21	5	9.49	0.123	0.312
mrufslope	41835.6	9	7.88	0.034	0.313
motorrail	41856.83	4	29.11	0.003	0.309
Autoroutes	41861.97	3	34.25	0.07	0.316
Chemins de fer	42060.02	3	232.3	< 0.001	0.299
Zones urbanisées	42227.53	3	399.81	< 0.001	0.128
Forêts	42316.72	3	489	< 0.001	0.189
Pente	42358.06	4	530.34	< 0.001	0.129
Zones agricoles	42362.26	3	534.54	< 0.001	0.100
Distance	42369.34	2	541.62	< 0.001	0.083
Etendues d'eau	42369.35	3	541.63	< 0.001	0.083



**Figure 24 : Représentation cartographique des résistances optimisées issues du meilleur modèle combiné « mruf »**

A l'aide de ce modèle « mruf » et des coordonnées des échantillons, des cartes représentant les corridors assurant le flux génétique des chats forestiers luxembourgeois ont pu être déduites via circuitscape (figure 25).



**Figure 25 : Cartes de connectivité circuitscape illustrant la conductance du flux génétique basée sur la localisation des échantillons (à gauche) et la localisation simulée de 250 échantillons autour de la zone d'étude (à droite)**

## DISCUSSION

---

### 1. Méthode et biais d'échantillonnage

L'analyse de la structure génétique des échantillons de Wallonie a permis de calculer un taux d'hybridation de 0.06 dans la zone échantillonnée, ce qui est relativement bas. Cependant, il est important de prendre en considération le fait que les pièges à poils étaient placés dans des lieux propices à la présence du chat forestier. En effet, les endroits privilégiés pour placer les pièges étaient les zones buissonneuses denses ou sous couvert forestier avec des traces de passage régulier de mammifères au sein de forêts de plus de 20 hectares. Ainsi, le choix des zones propices à la présence du chat forestier induit un possible biais d'échantillonnage. Les chances de récolter des échantillons d'individus hybrides dans les massifs forestiers où les chats domestiques s'aventurent probablement peu sont moindres. Le très faible nombre de chats domestiques échantillonnés ( $N = 2$ ) lors de cette étude atteste de l'absence d'individus domestiques dans les zones d'échantillonnage. Il serait intéressant de sélectionner des zones de façon aléatoire afin de disposer d'une certaine variété de milieux, et ce à l'échelle de l'aire de distribution du chat forestier en Wallonie. Cela permettrait de vérifier s'il existe un gradient d'hybridation entre les zones urbanisées et les milieux forestiers. C'est ce type d'échantillonnage qui était employé dans l'étude de Pigneur & Michaux (2016) au Luxembourg. Leurs résultats ont effectivement montré que les hybrides étaient plus présents lorsque l'on s'approchait des zones urbaines. Les zones les moins touchées étaient les massifs forestiers importants.

De plus, l'échantillonnage réalisé ne couvrait qu'une partie de la Wallonie. Les résultats obtenus ne peuvent donc pas nécessairement s'appliquer à l'entièreté de la Wallonie ou de la Belgique. Il convient ainsi de rester très prudent quant au taux d'hybridation observé au sein des zones étudiées. Pour confirmer de telles tendances, il conviendra d'effectuer une étude développée sur un territoire plus vaste incluant différents types d'habitats et de zones plus proches des habitations humaines.

Le dispositif d'échantillonnage en lui-même pourrait également être amélioré. En effet, bien que la méthode des pièges à poils enduits de valériane ait été employée et semblait adéquate dans de nombreuses études, son efficacité pourrait être remise en question. Dans l'étude de Velli *et al.* (2015), trois méthodes non-invasives de suivis ont été comparées : les pièges photographiques, les pièges à poils et les analyses de crottes. Les pièges à poils se révélaient être la méthode la moins efficace. D'après Steyer *et al.* (2013), les taux de capture via les pièges

à poils sont en effet bien plus bas en comparaison aux pièges photographiques. Il n'est pas exclu que l'intérêt des chats pour la valériane varie selon l'individu, mais aussi entre chats forestiers, domestiques et hybrides. Via le questionnaire distribué à la fin de l'étude, nous avons obtenu le témoignage d'un agent du DNF qui avait installé des pièges photographiques près des pièges à poils. D'après ses observations, des chats forestiers passaient deux à trois fois par semaine près des pièges sans montrer le moindre intérêt. Le sexe de l'animal pourrait également jouer un rôle dans l'intérêt qu'il porte à la valériane. En effet, ce possible biais avait déjà été mentionné dans l'article de Steyer *et al.* (2013) où les pièges à poils avaient permis de détecter cinq mâles et une seule femelle. Dans notre étude, nous avons également constaté un nombre de mâles ( $N = 45$ ) bien plus important que le nombre de femelles ( $N = 18$ ) en Wallonie. Il est cependant évident que les informations supplémentaires obtenues grâce aux analyses génétiques des poils collectés sont non-négligeables en comparaison aux pièges photographiques. De plus, dans le cadre de l'étude du degré d'hybridation, les critères morphologiques ne permettent pas de distinguer avec certitude un chat forestier d'un hybride, ce qui rend peu fiable leur identification par photographie (Ruelle *et al.*, 2011). Il serait donc judicieux de combiner ces deux méthodes de suivi afin de combler les lacunes de chacune et d'obtenir l'information la plus complète et fiable possible.

La partie de notre étude concernant la Wallonie est donc à considérer comme exploratoire. Elle nous a permis d'obtenir des premières données intéressantes et d'avoir une idée de l'état et de la répartition des populations wallonnes. Il sera néanmoins nécessaire, à l'avenir, d'approfondir la recherche en revoyant la méthode et en étendant la zone d'échantillonnage.

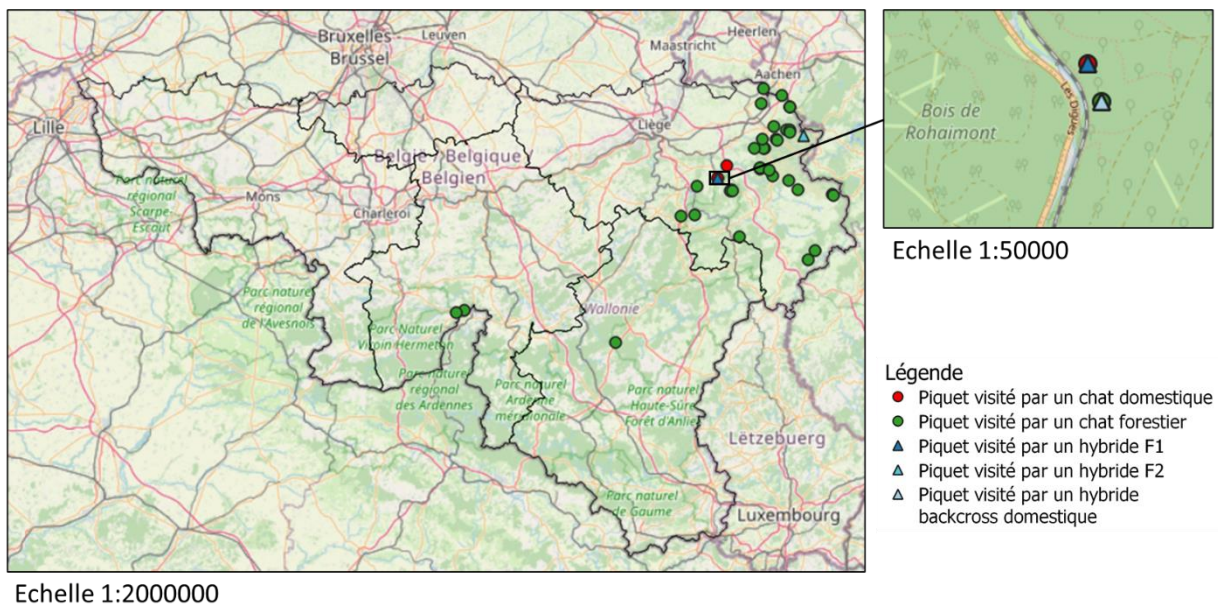
## 2. Le problème de l'hybridation

Bien qu'il soit nécessaire d'interpréter le taux d'hybridation de 6% avec prudence pour les raisons énoncées précédemment, ce résultat concorde avec le taux obtenu dans la récente étude de Tiesmeyer *et al.* (2020). Dans cette étude, le taux d'hybridation calculé sur base de données microsatellites pour la Belgique était de 5%. Il avait cependant été obtenu avec un échantillonnage très restreint ( $N = 19$ ). Ce même taux a été obtenu pour l'entièreté de la population de l'ouest de l'Europe sur des données SNPs où l'échantillonnage était bien plus large ( $N = 234$ ). Le taux d'hybridation obtenu pour les individus du Luxembourg dans le présent travail (8%) reste également proche de ces valeurs. Nos résultats soutiennent le fait que les taux d'hybridation dans l'ouest de l'Europe soient relativement bas (Pierpaoli *et al.*, 2003 ; Steyer *et al.*, 2018 ; Tiesmeyer *et al.*, 2020). Nous avons également constaté un nombre relativement bas d'hybrides de première génération F1 ( $N = 1$  en Wallonie ;  $N = 1$  au Luxembourg) en



comparaison aux autres types d'hybrides (N = 3 en Wallonie ; N = 9 au Luxembourg). Cela concorde avec les résultats obtenus par Tiesmeyer *et al.* (2020) pour lesquels les hybrides F1 représentaient < 1% des hybrides. Ces faibles taux d'hybridation et ce nombre bas d'hybrides F1 suggèrent l'absence de cas d'hybridation récent et l'existence d'une barrière reproductive entre les chats forestiers et les chats domestiques.

La fragmentation du paysage induite par l'homme a pour effet d'augmenter la proximité entre l'espace de vie des chats forestiers et domestiques, ce qui pourrait accentuer les risques d'hybridation. Nous avons en effet constaté la présence d'un chat forestier, d'un chat domestique et d'hybrides (de génération F1 et backcross avec domestique) sur une même parcelle en Wallonie (Figure 26). Cette parcelle se situait dans le bois de Rohaimont. Les piquets avaient été placés relativement proche des deux villes adjacentes (~ 2km de Spa et Spixhe) et à côté d'une ligne de chemin de fer et de la N62 (< 200m). Cette forte proximité avec des infrastructures humaines a pu augmenter le risque d'hybridation, les chances de rencontres avec des domestiques étant plus importantes. En France, une étude menée par Beugin *et al.* (2019) démontrait l'absence d'hybrides dans un milieu forestier continu en comparaison à une zone fortement fragmentée qui présentait des taux d'hybridation allant jusqu'à 9.5%. Il serait intéressant d'effectuer ce type de comparaison à l'échelle de la Belgique afin de vérifier si la tendance est la même.



**Figure 26 : Répartition géographique des chats forestiers (vert), domestiques (rouge) et hybrides (F1 bleu foncé ; F2 bleu turquoise ; backcross domestiques bleu clair) en Wallonie d'après les piquets sur lesquels les échantillons ont été récoltés. Zoom sur les piquets visités par un hybride F1 et un hybride backcross domestique**

Nos résultats suggèrent que, bien que le taux d'hybridation soit actuellement bas, l'hybridation est néanmoins bien présente et risque d'évoluer à l'avenir. En effet, les rencontres

entre les chats forestiers et les chats domestiques se produisent en bordure du territoire du chat forestier ou lors de rares excursions de l'une des deux espèces hors de son habitat (Germain *et al.*, 2008). Un paysage fortement fragmenté, composé de petits fragments d'habitat, augmenterait la proximité entre les habitats des deux espèces et les risques de rencontre. De plus, les barrières reproductrices entre les chats forestiers et les hybrides semblent inexistantes. Ces derniers occuperaient le même habitat que les chats forestiers et en partie le même habitat que les chats domestiques (Germain *et al.*, 2008). Il est donc probable que, si le nombre d'hybrides F1 vient à augmenter, les risques d'introgression liés aux rétrocroisements des hybrides avec les deux espèces parentales augmentent également. Dans le cas où l'expansion des populations de chats forestiers persisterait, les taux d'hybridation risqueraient également d'augmenter. Une plus grande densité de chats forestiers augmenterait en effet les chances de rencontre avec le chat domestique. Quelle que soit la situation, il est donc primordial de mettre en place des moyens de lutte contre l'hybridation avant que ce phénomène ne devienne une réelle menace.

### 3. Structure génétique : deux groupes au sein d'une grande population

Les analyses génétiques ont mis en évidence l'existence de deux groupes génétiques au sein des chats forestiers issus de la Wallonie et du Luxembourg. Ces groupes ne correspondent pas à une séparation entre les deux pays, ce qui signifie que les chats circulent naturellement d'un pays à l'autre, bien qu'aucun cas de recapture n'ait été observé dans notre étude. Lorsque les individus issus de ces groupes sont replacés sur une carte (figure 22), nous ne constatons pas de séparation géographique nette entre les deux groupes génétiques identifiés. De plus, la valeur de différenciation génétique était assez faible ( $D_{Jost} = 0.005$ ). L'explication pourrait résider dans l'appartenance de ces populations à une plus grande population englobant toute l'Europe centrale occidentale (incluant l'Allemagne occidentale, la Belgique, les Pays-Bas, le Luxembourg et la France) comme l'avaient déjà suggéré plusieurs études (Mattucci *et al.*, 2016 ; Tiesmeyer *et al.*, 2020). Des déplacements de chats forestiers existeraient alors au sein de ce grand complexe, assurant un brassage génétique. Il serait intéressant d'intégrer des échantillons issus de ces pays à nos données afin de mieux comprendre la population dans sa globalité. Un élargissement de la zone d'étude permettrait également de vérifier si les deux mêmes groupes génétiques existent aussi au sein des pays voisins et éventuellement d'identifier leur point d'origine.



#### 4. Les risques de consanguinité

Bien que la différenciation génétique entre les chats forestiers de Wallonie et ceux du Luxembourg soit faible ( $D_{Jost} = 0.0025$ ), les coefficients de consanguinité s'avèrent fortement différents d'un pays à l'autre. En effet, la valeur de ce coefficient en Wallonie était relativement élevée ( $F_{IS} = 0.32$ ) en comparaison au Luxembourg ( $F_{IS} = 0.067$ ). Il convient de rester prudent dans la comparaison de ces valeurs étant donnée la différence de nombre d'échantillons (59 chats forestiers en Wallonie contre 107 au Luxembourg) et de méthodologie d'échantillonnage expliquée ci-dessus. De plus, comme mentionné précédemment, les échantillons luxembourgeois étaient mieux répartis sur le territoire en comparaison à la Wallonie où la majorité des échantillons se limitaient à la province de Liège. Ainsi, il est possible que les individus provenant de cette zone restreinte biaisent les résultats et donnent une fausse idée des risques de consanguinité en Wallonie. L'élargissement de la zone d'échantillonnage sera définitivement primordial dans de futures recherches sur le territoire wallon. Concernant le coefficient de consanguinité calculé pour le Luxembourg, celui-ci s'avérait relativement plus élevé ( $F_{IS} = 0.22$ ) dans l'étude de Pigneur & Michaux (2018) basée sur les mêmes échantillons. Cette différence de valeurs pourrait être liée au nombre de chats forestiers utilisés dans l'analyse ( $N = 180$  pour Pigneur & Michaux ;  $N = 107$  dans la présente étude). Une autre raison probable pourrait être la différence des marqueurs utilisés : les microsatellites pour Pigneur & Michaux et ici les SNPs. La richesse allélique des SNPs est moindre en comparaison aux microsatellites. Cela est cependant compensé par la sélection de SNPs très adaptés aux objectifs et à l'espèce et par un nombre élevé de SNPs (von Thaden *et al.*, 2020). A priori, les marqueurs SNPs apporteraient donc des résultats plus fiables.

Ces résultats suggèrent toutefois la présence d'un risque de dépression de consanguinité chez les chats forestiers, menaçant leur survie à long terme. L'hypothèse d'un ancien goulot d'étranglement au sein des populations doit être prise en compte. La destruction et fragmentation du paysage issues des modifications anthropiques pourrait cependant de nouveau expliquer ce risque de dépression de consanguinité. Ces modifications créent des barrières qui empêchent la dispersion des chats forestiers, isolant des individus, menant à terme à un appauvrissement de la diversité génétique. Pour endiguer ce problème, il serait primordial de renforcer la connectivité entre les fragments d'habitats afin d'améliorer les déplacements des chats forestiers et d'ainsi assurer le brassage génétique.

## 5. Les routes et zones urbanisées, des barrières pour les chats forestiers

L'analyse de génétique du paysage nous a permis de mettre en évidence quelles sont ces supposées barrières qui posent problème au chat forestier. Ce type d'analyse pourrait être amélioré dans de futures études. En effet, une analyse plus fine aurait pu être mise en place en diminuant la taille des mailles de la grille utilisée. Cette diminution permettrait d'augmenter la précision, le temps d'analyse serait cependant plus long. La binarité des facteurs environnementaux limite également la précision des résultats, il serait intéressant d'ajouter certaines nuances à ces facteurs. Au lieu que chaque cellule donne l'information sur la présence ou l'absence de forêt, elle pourrait par exemple indiquer la distance par rapport à la forêt la plus proche. Malgré ces limitations et pistes d'amélioration, ces résultats sont néanmoins une première étape intéressante dans la compréhension des phénomènes de barrières et corridors chez le chat forestier.

Nos résultats indiquent que les forêts et les zones agricoles servent de corridors pour la dispersion des chats forestiers luxembourgeois. A l'inverse, les autoroutes et zones urbanisées constituent des barrières importantes qui limitent le flux génétique de l'espèce. Ces résultats concordent avec les connaissances sur l'écologie du chat forestier et avec les observations de Delangre *et al.* (2019) concernant ses préférences en termes d'habitat. En effet, cette étude montrait notamment le rôle négatif important de la lumière artificielle, des bâtiments et des routes sur la probabilité de présence de l'espèce. Cela rejoint nos résultats, les chats forestiers évitent les infrastructures urbaines. Dans cette étude, les zones d'habitat majoritaires se situaient en milieu forestier et en milieu ouvert (cultures et prairies), ce qui correspond à nos résultats. Les forêts avaient cependant une plus grande résistance au flux génétique que les zones agricoles. L'étude de Delangre *et al.* (2019) concernait cependant la Wallonie, il serait donc intéressant de réaliser la même analyse sur les préférences d'habitat et les corridors existant au Luxembourg pour vérifier la concordance avec nos résultats.

Notre étude n'est pas la première à mettre en avant l'impact négatif des autoroutes sur le flux génétique des chats forestiers. En 2013, Hartmann *et al.* montraient une différenciation génétique significative des chats forestiers de part et d'autre de l'autoroute A3 en Allemagne. D'après Klar *et al.* (2009), des routes plus petites traversées par quelques centaines de voitures par jour ne poseraient pas de problème de barrière mais seraient néanmoins une cause de mortalité. Les accidents de la route sont en effet une menace non négligeable. Cette même étude estimait que 30 à 40% des chats forestiers vivant dans les 6km autour des autoroutes étaient tués par an.

Nous n'avons malheureusement pas pu évaluer l'impact des étendues d'eau dans notre étude, deux études s'étaient cependant penchées sur le problème concernant le Rhin en Allemagne (Hartmann *et al.*, 2013; Würstlin *et al.*, 2016). Les résultats de chacune étaient contradictoires. L'une attribuait au Rhin un rôle de barrière importante, l'autre ne constatait aucune différenciation génétique de part et d'autre du Rhin. Il est probable que l'impact des rivières dépende grandement de leurs caractéristiques : largeur, profondeur, débit, présence de structures ou îlots facilitant la traversée... Inclure certaines de ces caractéristiques dans les analyses de génétique du paysage permettrait d'en apprendre plus sur l'impact des étendues d'eau.

### 6. Implication pour la conservation

Ce travail avait pour objectif de contribuer à l'amélioration de nos connaissances sur l'espèce afin notamment d'en assurer sa conservation. Tous ces résultats nous permettent d'avoir une vision plus claire de l'état des populations wallonnes et luxembourgeoises de chats forestiers, et ainsi d'envisager des actions de conservation à mettre en place. Dans tout projet de conservation, l'aspect social passant par la communication, la sensibilisation et la collaboration avec les acteurs locaux et le grand public est primordial. Le Département de la Nature et des Forêts est un allié important pour le chat forestier. Sur les treize agents ayant participé au questionnaire, tous ont déjà observé le chat forestier dans la nature et neuf considèrent sa conservation comme une priorité pour la conservation de la nature en Belgique. L'espèce n'est probablement pas aussi connue du grand public, il serait donc intéressant de mettre en place différents moyens de sensibilisation. Cela peut se faire via des organismes connus et impliqués dans la conservation tels que le WWF ou Natagora, la communication via les réseaux sociaux, l'organisation de campagnes de sensibilisation...

Un aspect particulièrement important à aborder avec le grand public est la problématique de l'hybridation. Tout le monde peut s'impliquer directement dans la diminution de l'ampleur de cette menace en stérilisant systématiquement ses chats domestiques. Depuis 2017, l'Arrêté du gouvernement wallon relatif à la stérilisation des chats domestiques a rendu obligatoire la stérilisation des chats en Wallonie. Malheureusement, il n'existe pas de moyens pour contrôler le respect de cette loi. De plus, cette obligation n'est pas présente sur l'ensemble de la zone de distribution du chat forestier, notamment dans de plus grands pays que la Belgique tels que la France ou l'Allemagne. Au Luxembourg, l'article 14 du Règlement grand-ducal du 5 décembre 2018 déterminant les conditions de détention des animaux stipule que les chats ayant accès à l'extérieur doivent être stérilisés. Cependant, ce même article accorde une dérogation

concernant les chats errants dans les exploitations agricoles. Ceci est un non-sens pour la problématique de l'hybridation puisque ces chats errants dans des zones agricoles ont une probabilité beaucoup plus importante de rencontrer des chats forestiers. Pour que la stérilisation puisse réellement faire la différence, les gouvernements des différents pays concernés devraient la rendre obligatoire et mettre en place des moyens pour vérifier son application. Ces mesures permettraient de diminuer le risque d'hybridation avec les chats forestiers, mais aussi de diminuer le nombre de chats harets présents dans la nature. Il serait également primordial d'envisager des moyens de gestion des chats harets et des hybrides dans les massifs forestiers. L'éradication des chats harets demeurerait difficile à mettre en place et poserait des questions éthiques évidentes. Une solution plus acceptable serait la stérilisation de ces individus et des hybrides, l'Écosse l'a déjà mise en place (Breitenmoser *et al.*, 2019). Même si cette solution s'avérerait couteuse en temps, en énergie et en argent, elle serait idéale. L'hybridation ne semble pas être actuellement un problème majeur pour le chat dans nos régions. Conjugué aux autres menaces, son impact prendra cependant de l'ampleur. C'est pourquoi chacune des menaces doit être prise en considération et doit inciter la mise en place de mesures de conservation dès maintenant. La mise en œuvre de mesures le plus tôt possible empêchera la nécessité de devoir, à l'avenir, appliquer des méthodes beaucoup plus difficiles et couteuses telles que la réintroduction.

Les stratégies de conservation doivent impérativement inclure la réalisation et le maintien de réseaux de corridors afin de diminuer l'impact des obstacles au flux génétique et ainsi d'assurer une bonne connectivité entre les noyaux de population. Cela permettra de maintenir une certaine diversité génétique chez les chats forestiers en évitant notamment une dépression de consanguinité. Pour ce faire, plusieurs actions avaient déjà été proposées en Wallonie par Delangre *et al.* (2019) : la construction d'écoducs, la renaturalisation des berges des cours d'eau et le développement du bocage (plantation de haies). Delangre *et al.* ont également cartographié le réseau écologique du chat forestier en Wallonie et sur une partie du Luxembourg. Ces résultats couplés à notre travail peuvent servir de base pour identifier les endroits qui nécessitent la mise en œuvre de ces actions. D'après des simulations effectuées par Landguth *et al.* (2010), les espèces ayant des distances de dispersion relativement importantes devraient voir les effets des barrières disparaître après 15 générations une fois les barrières supprimées. L'amélioration du réseau écologique des chats forestiers devrait donc être rapidement bénéfique pour l'espèce.

Les écoducs constituent un investissement important, les bénéfices pour le chat forestier et la faune en général en vaudront cependant la peine. En plus d'améliorer la connectivité en limitant l'effet fragmentant des routes, ils permettent la diminution des risque de collisions avec les voitures. Leur efficacité chez le chat forestier a été documentée dans plusieurs études. En 2011, Pir *et al.* attestaient que, sur 21 chats forestiers étudiés, neuf individus empruntaient l'écoduc construit au-dessus de l'autoroute A7 au Luxembourg. D'après des pièges photographiques posés par Janssen & Mulder (2013), l'écoduc situé sur l'autoroute E40 et la voie ferrée du TGV semble être utilisé par les chats forestiers et permettrait la connexion entre Aix-la-Chapelle et Liège. L'étude de Klar *et al.* (2009) suggérait une meilleure efficacité des passages inférieurs par rapport aux passages supérieurs. Cette même étude recommande de combiner les écoducs à l'installation de clôtures spécifiques pour les chats forestiers le long des autoroutes situées dans des zones de présence du chat. Ce dispositif a réduit la mortalité des chats forestiers due aux accidents de la route de 83% dans leur zone d'étude.

Favoriser la conservation du chat forestier permettra de protéger son habitat et toute la biodiversité qui y est liée. Le chat forestier peut être considéré comme une espèce parapluie, une multitude d'animaux bénéficieraient donc des corridors et autres moyens de conservation mis en place. Par son alimentation essentiellement composée de micromammifères, il peut également être considéré comme un bon auxiliaire de culture en régulant les rongeurs. De plus, c'est une espèce emblématique appréciée du grand public. Les mots employés par les agents du DNF concernant les raisons pour lesquelles ils considèrent la conservation du chat forestier comme essentielle attestent de l'affection et de la fierté qu'ils lui portent. Au-delà de la nécessité de protéger la biodiversité de manière générale, ils parlent d'une espèce « de chez nous », « indigène », « à intérêt patrimonial », « notre seul félin sauvage », « un caractère mythique ». Le rôle des prédateurs dans l'écosystème est crucial et nécessite d'être préservé.

## CONCLUSION

---

Ce travail visait à analyser différentes problématiques liées au chat forestier en Wallonie et au Luxembourg. Il contribue à l'enrichissement des connaissances sur l'espèce dans des régions encore peu étudiées et apporte des informations qui peuvent aider à la mise en place d'actions de conservation.

Concernant la problématique de l'hybridation, nous avons constaté que les taux d'hybridation dans les deux régions étudiées étaient relativement bas. Bien qu'ils soient à considérer avec précaution en raison d'éventuels biais dû à la méthode d'échantillonnage employée en Wallonie, ces résultats concordent avec ceux des récentes études dans l'ouest de l'Europe. La présence des chats domestiques, forestiers et d'hybrides au sein d'une même placette située à proximité d'infrastructures humaines suggère l'augmentation des risques d'hybridation près des zones urbanisées.

L'analyse de la structure génétique de nos chats forestiers a mis en évidence l'existence de deux groupes génétiques. L'origine de ces deux groupes reste inconnue. Nous avons cependant constaté qu'ils ne présentent pas de séparation géographique nette et leur différenciation génétique est faible. Nous rejoignons donc l'idée que les chats de Wallonie et du Luxembourg appartiennent à la même grande population d'Europe centrale occidentale.

Le coefficient de consanguinité apparaît élevé en Wallonie en comparaison au Luxembourg. Le risque de dépression de consanguinité est donc bien présent. Des biais d'échantillonnage possibles ainsi que des incohérences avec des données provenant d'autres études existent cependant. Ces résultats sont donc à interpréter prudemment.

Au Luxembourg, nous avons pu identifier les différents corridors et barrières jouant un rôle sur le flux génétique de l'espèce. Les résultats étaient en accord avec les connaissances actuelles sur l'écologie du chat forestier. En effet, les forêts et les zones agricoles servent de corridors à la dispersion des chats, tandis que les autoroutes et zones urbanisées agissent comme des barrières pour l'espèce.

Notre étude nous a permis d'avoir une vision très localisée du chat forestier et d'en apprendre plus sur l'état de l'espèce à petite échelle. Nos résultats suggèrent l'importance de mettre en œuvre des moyens de conservation dès maintenant pour contrer les principales menaces : la destruction et fragmentation de l'habitat et l'hybridation avec le chat domestique.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- Allendorf, F. W., Leary, R. F., Spruell, P., & K. Wenburg, J. (2001). The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *TRENDS in Ecology & Evolution*, 16(11), 613–622. [https://doi.org/10.1016/0305-4403\(79\)90038-4](https://doi.org/10.1016/0305-4403(79)90038-4)
- Anderson, E. C., & Thompson, E. A. (2002). A model-based method for identifying species hybrids using multilocus genetic data. *Genetics*, 160(3), 1217–1229. [https://doi.org/10.1175/1520-0442\(1992\)0052.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0442(1992)0052.0.CO;2)
- Anile, S., Devillard, S., Ragni, B., Rovero, F., Mattucci, F., & Valvo, M. Lo. (2019). Habitat fragmentation and anthropogenic factors affect wildcat *Felis silvestris silvestris* occupancy and detectability on Mt Etna. *Wildlife Biology*, 2019(1). <https://doi.org/10.2981/wlb.00561>
- Beaumont, M., Barratt, E. M., Gottelli, D., Kitchener, A. C., Daniels, M. J., Pritchard, J. K., & Bruford, M. W. (2001). Genetic diversity and introgression in the Scottish wildcat. *Molecular Ecology*, 10(2), 319–336. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2001.01196.x>
- Beier, P., & Noss, R. F. (1998). Do habitat corridors provide connectivity? *Conservation Biology*, 12(6), 1241–1252. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.1998.98036.x>
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., & Bonhomme, F. (2004). GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Retrieved from <https://kimura.univ-montp2.fr/genetix/>
- Beugin, M., Salvador, O., Leblanc, G., Queney, G., Natoli, E., & Pontier, D. (2019). Hybridization between *Felis silvestris silvestris* and *Felis silvestris catus* in two contrasted environments in France, (December). <https://doi.org/10.1002/ece3.5892>
- Beutel, T., Reineking, B., Tiesmeyer, A., Nowak, C., & Heurich, M. (2017). Spatial patterns of co-occurrence of the European wildcat *Felis silvestris silvestris* and domestic cats *Felis silvestris catus* in the Bavarian Forest. *Wildlife Biology*, (January), 1–8. <https://doi.org/10.2981/wlb.00284>
- Breitenmoser, U., Lanz, T., & Breitenmoser-würsten, C. (2019). Conservation of the wildcat (*Felis silvestris*) in Scotland: Review of the conservation status and assessment of conservation activities, 1–68.

- Cat Specialist Group. (n.d.). IUCN Species Survival Commission. Retrieved January 10, 2020, from <http://catsg.org>
- Delangre, J., Bourdouxhe, A., & Dufrière, M. (2019). Mise en place d'un réseau écologique pour le chat sauvage (*Felis silvestris*, Schreber 1777) Rapport final - Août 2019.
- Directive 92/43/CEE Du Conseil du 21 mai 1992 concernant la conservation des habitats naturels ainsi que de la faune et de la flore sauvages. (n.d.). *Journal Officiel Des Communautés Européennes*, 7–50.
- Driscoll, C. A., Menotti-Raymond, M., Roca, A. L., Hupe, K., Johnson, W. E., Geffen, E., ... Macdonald, D. W. (2007). The near eastern origin of cat domestication. *Science*, 317(5837), 519–523. <https://doi.org/10.1126/science.1139518>
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE : a simulation study. *Molecular Ecology*, 14, 2611–2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- Fahrig, L. (2003). Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 34, 487–515. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132419>
- Foley, J. A., DeFries, R., Asner, G. P., Barford, C., Bonan, G., Carpenter, S. R., ... Snyder, P. K. (2005). Global consequences of land use. *Science*, 309(5734), 570–574. <https://doi.org/10.1126/science.1111772>
- Frantz, A., Bertouille, S., Eloy, M., Licoppe, A., Chaumont, F., & Flamand, M. (2012). Comparative landscape genetic analyses show a Belgian motorway to be a gene flow barrier for red deer (*Cervus elaphus*), but not wild boars (*Sus scrofa*). *Molecular Ecology*, 21, 3445–3457. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05623.x>
- Germain, E., Benhamou, S., & Poulle, M. L. (2008). Spatio-temporal sharing between the European wildcat, the domestic cat and their hybrids. *Journal of Zoology*, 276(2), 195–203. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2008.00479.x>



- Gil-Sanchez, J. M., Barea-Azcon, J. M., Jaramillo, J., Herrera-Sanchez, F. J., Jiménez, J., & Virgós, E. (2020). Fragmentation and low density as major conservation challenges for the southernmost populations of the European wildcat. *PLoS ONE*, 15(1), 1–21. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227708>
- Gil-Sánchez, J. M., Jaramillo, J., & Barea-Azcón, J. M. (2015). Strong spatial segregation between wildcats and domestic cats may explain low hybridization rates on the Iberian Peninsula. *Zoology*, 118(6), 377–385. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2015.08.001>
- Goslee, S. C., & Urban, D. L. (2007). The ecodist package for dissimilarity-based analysis of ecological data. *Journal of Statistical Software*, 22(7), 1–19. <https://doi.org/10.18637/jss.v022.i07>
- Gu, W., Heikkilä, R., & Hanski, I. (2002). Estimating the consequences of habitat fragmentation on extinction risk in dynamic landscapes. *Landscape Ecology*, (17), 699–710.
- Hartmann, S., Steyer, K., Kraus, R., Segelbacher, G., & Nowak, C. (2013). Potential barriers to gene flow in the endangered European wildcat (*Felis silvestris*). *Conservation Genetics*, 14(2), 413–426. <https://doi.org/10.1007/s10592-013-0468-9>
- Hertwig, S. T., Schweizer, M., Stepanow, S., Jungnickel, A., Böhle, U.-R., & Fischer, M. S. (2009). Regionally high rates of hybridization and introgression in German wildcat populations (*Felis silvestris*, Carnivora, Felidae). *Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 47(3), 283–297. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0469.2009.00536.x>
- Hunter, L. (2015). *Wild cats of the world*. Bloomsbury.
- Janssen, R., & Mulder, J. (2013). Aanvullende cameravalzoektocht naar wilde kat en boommarter in Zuid-Limburg (NL) en de Voerstreek (B) in 2012-2013., 31.
- Jerosch, S., Götz, M., Klar, N., & Roth, M. (2010). Characteristics of diurnal resting sites of the endangered European wildcat (*Felis silvestris silvestris*): Implications for its conservation. *Journal for Nature Conservation*, 18(1), 45–54. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2009.02.005>

- Jerosch, S., Götz, M., & Roth, M. (2017). Spatial organisation of European wildcats (*Felis silvestris silvestris*) in an agriculturally dominated landscape in Central Europe. *Mammalian Biology*, 82, 8–16. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2016.10.003>
- Jerosch, S., Kramer-schadt, S., Götz, M., & Roth, M. (2018). The importance of small-scale structures in an agriculturally dominated landscape for the European wildcat (*Felis silvestris silvestris*) in central Europe and implications for its conservation. *Journal for Nature Conservation*, 41, 88–96. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2017.11.008>
- Keenan, K., McGinnity, P., Cross, T. F., Crozier, W. W., & Prodöhl, P. A. (2013). DiveRsity: An R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(8), 782–788. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12067>
- Kimmig, S. E., Beninde, J., Brandt, M., Schleimer, A., Kramer-Schadt, S., Hofer, H., ... Frantz, A. C. (2020). Beyond the landscape: Resistance modelling infers physical and behavioural gene flow barriers to a mobile carnivore across a metropolitan area. *Molecular Ecology*, 29(3), 466–484. <https://doi.org/10.1111/mec.15345>
- Kitchener, A., Breitenmoser-Würsten, C., Eizirik, E., Gentry, A., Werdelin, L., Wilting, A., ... Tobe, S. (2017). A revised taxonomy of the Felidae. The final report of the Cat Classification Task Force of the IUCN/ SSC Cat Specialist Group. *Cat News Special Issue*, (11), 1–80.
- Kitchener, A. C., Yamaguchi, N., Ward, J. M., & Macdonald, D. W. (2005). A diagnosis for the Scottish wildcat (*Felis silvestris*): A tool for conservation action for a critically-endangered felid. *Animal Conservation*, 8(3), 223–237. <https://doi.org/10.1017/S1367943005002301>
- Klar, N., Fernández, N., Kramer-Schadt, S., Herrmann, M., Trinzen, M., Büttner, I., & Niemitz, C. (2008). Habitat selection models for European wildcat conservation. *Biological Conservation*, 141, 308–319. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.10.004>
- Klar, N., Herrmann, M., & Kramer-Schadt, S. (2009). Effects and Mitigation of Road Impacts on Individual Movement Behavior of Wildcats. *Journal of Wildlife Management*, 73(5), 631–638. <https://doi.org/10.2193/2007-574>

- Kopelman, N. M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N. A., & Mayrose, I. (2015). CLUMPAK: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Mol Ecol Resour*, 15(5), 1179–1191. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12387>.CLUMPAK
- Kuipers, L. (2017). Ontwikkeling van de wilde katpopulatie in Zuid- Limburg.
- Lambinet, C., Schockert, V., & Libois, R. (2013). Evaluation of the hybridization between the domestic cat and the European wildcat in the Walloon region. In *31st Congress of the International Union of game biologists (IUGB)*. Liège.
- Landguth, E. L., Cushman, S. A., K., S. M., McKelvey, K. S., Murphy, M., & Luikart, G. (2010). Quantifying the lag time to detect barriers in landscape genetics. *Molecular Ecology*, 19, 4179–4191. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04808.x>
- Le Roux, M., Luque, S., Vincent, S., & Planckaert, O. (2014). Intégration de la connectivité dans la gestion et la conservation des habitats. *Sciences Eaux & Territoires, Numéro 14(2)*, 20. <https://doi.org/10.3917/set.014.0020>
- Libois, R. (1991). Atlas des mammifères sauvages de Wallonie (suite). *Cahiers d’Ethologie*, 11 (1), 81:90.
- Libois, R. (2006). Les mammifères non volants de la Région wallonne : tendances des populations.
- Libois, R., & Marechal, C. (1994). Le chat forestier ou chat sylvestre (*Felis silvestris silvestris*).
- Liu, C., Newell, G., White, M., & Bennett, A. F. (2018). Identifying wildlife corridors for the restoration of regional habitat connectivity : A multispecies approach and comparison of resistance surfaces. *PLoS ONE*, 13(11), 14. <https://doi.org/10.17632/5tg7yj92wv.1>
- Lonsinger, R. C., & Waits, L. P. (2015). ConGenR: rapid determination of consensus genotypes and estimates of genotyping errors from replicated genetic samples. *Conservation Genetics Resources*, 7(4), 841–843. <https://doi.org/10.1007/s12686-015-0506-7>

- Lozano, J., Virgós, E., Malo, A. F., Huertas, D. L., & Casanovas, J. G. (2003). Importance of scrub-pastureland mosaics for wild-living cats occurrence in a Mediterranean area: Implications for the conservation of the wildcat (*Felis silvestris*). *Biodiversity and Conservation*, 12(5), 921–935. <https://doi.org/10.1023/A:1022821708594>
- Lozano, Jorge. (2010). Habitat use by European wildcats (*Felis silvestris*) in central Spain: What is the relative importance of forest variables? *Animal Biodiversity and Conservation*, 33(2), 143–150.
- Lozano, Jorge, & Malo, A. (2012). *Conservation of the European wildcat (Felis silvestris) in mediterranean environments: A reassessment of current threats*.
- Macdonald, D. W., Yamaguchi, N., Kitchener, A. C., Daniels, M., Kilshaw, K., & Driscoll, C. (2010). Reversing cryptic extinction: the history, present, and future of the Scottish wildcat. In *Biology and Conservation of Wild Felids* (pp. 471–491).
- Manel, S., Schwartz, M. K., Luikart, G., & Taberlet, P. (2003). Landscape genetics : combining landscape ecology and population genetics. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 18(4), 8–9. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00008-9](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00008-9)
- Mattucci, F. (2014). Conservation genetics of European wildcat (*Felis silvestris silvestris*): a wide and integrating analysis protocol for admixture inferences and population structure, 212. <https://doi.org/10.6092/unibo/amsdottorato/6459>.
- Mattucci, Federica, Oliveira, R., Lyons, L. A., Alves, P. C., & Randi, E. (2016). European wildcat populations are subdivided into five main biogeographic groups: Consequences of Pleistocene climate changes or recent anthropogenic fragmentation? *Ecology and Evolution*, 6(1), 3–22. <https://doi.org/10.1002/ece3.1815>
- Monterroso, P., Brito, J. C., Ferreras, P., & Alves, P. C. (2009). Spatial ecology of the European wildcat in a Mediterranean ecosystem: dealing with small radio-tracking datasets in species conservation. *Journal of Zoology*, 279, 27–35. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2009.00585.x>
- Montgelard, C., Zenboudji, S., Ferchaud, A. L., Arnal, V., & Van Vuuren, B. J. (2014). Landscape genetics in mammals. *Mammalia*, 78(2), 139–157. <https://doi.org/10.1515/mammalia-2012-0142>

- Mullu, D. (2016). A Review on the Effect of Habitat Fragmentation on Ecosystem. *Journal of Natural Sciences Research*, 6(15), 1–15.
- Nussberger, B., Wandeler, P., Weber, D., & Keller, L. F. (2014). Monitoring introgression in European wildcats in the Swiss Jura. *Conservation Genetics*, 15(5), 1219–1230. <https://doi.org/10.1007/s10592-014-0613-0>
- Nussberger, Beatrice, Wandeler, P., & Camenisch, G. (2014). A SNP chip to detect introgression in wildcats allows accurate genotyping of single hairs. *European Journal of Wildlife Research*, 60(2), 405–410. <https://doi.org/10.1007/s10344-014-0806-3>
- Peterman, W. E. (2018). ResistanceGA: An R package for the optimization of resistance surfaces using genetic algorithms. *Methods in Ecology and Evolution*, 9(6), 1638–1647. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12984>
- Phillips, S. J., Dudík, M., & Schapire, R. E. (n.d.). Maxent software for modeling species niches and distributions (Version 3.4.1). Retrieved April 7, 2020, from [https://biodiversityinformatics.amnh.org/open\\_source/maxent/](https://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/)
- Pierpaoli, M., Birò, Z. S., Herrmann, M., Hupe, K., Fernandes, M., Ragni, B., ... Randi, E. (2003). Genetic distinction of wildcat (*Felis silvestris*) populations in Europe, and hybridization with domestic cats in Hungary. *Molecular Ecology*, 12(10), 2585–2598. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01939.x>
- Pigneur, L.-M., & Michaux, J. (2016). Rapport scientifique concernant l'étude génétique d'échantillons de chats forestiers (*Felis silvestris silvestris*) collectés au Grand-Duché de Luxembourg.
- Pigneur, L.-M., & Michaux, J. (2018). *Rapport scientifique concernant l'étude génétique d'échantillons de chats forestiers (Felis silvestris silvestris) collectés au Grand-Duché de Luxembourg en 2017 et 2018*. Liège.
- Pir, J. B., Schauls, R., Dietz, M., & Simon, O. (2011). Bedeutung von Wildbrücken zur Vernetzung von Wanderkorridoren für die Europäische Wildkatze (*Felis silvestris silvestris* Schreber, 1777) am Beispiel von Pettingen / Mersch (Luxemburg). *Bulletin Société Des Naturalistes Luxembourgeois*, 112(January), 59–72.

- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data.
- Randi, E. (2008). Detecting hybridization between wild species and their domesticated relatives. *Molecular Ecology*, 17(1), 285–293. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03417.x>
- Raydelet, P. (2009). *Le chat forestier* (Delachaux). Paris.
- Rhymer, J. M., & Simberloff, D. (1996). Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27, 83–109. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.27.1.83>
- Rousseau, C. (2018). *Etude génétique pour la conservation du chat forestier (Felis silvestris silvestris) en Belgique : matériel et méthode.*
- Ruette, S., Germain, E., Léger, F., Say, L., & Devillard, S. (2011). Identification du chat forestier en France : Apport de la génétique pour détecter les “hybrides.” *Faune Sauvage*, (292), 10–16.
- Say, L., Devillard, S., Léger, F., Pontier, D., & Ruette, S. (2012). Distribution and spatial genetic structure of European wildcat in France. *Animal Conservation*, 15, 18–27. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2011.00478.x>
- Segelbacher, G., Cushman, S. A., Epperson, B. K., Fortin, M. J., Francois, O., Hardy, O. J., ... Manel, S. (2010). Applications of landscape genetics in conservation biology: Concepts and challenges. *Conservation Genetics*, 11(2), 375–385. <https://doi.org/10.1007/s10592-009-0044-5>
- Senn, H., Ghazali, M., Kaden, J., Barclay, D., Harrower, B., Campbell, R., ... Kitchener, A. (2018). Distinguishing the victim from the threat: SNP-based methods reveal the extent of introgressive hybridisation between wildcats and domestic cats in Scotland and inform future in-situ and ex-situ management options for species restoration. *Evolutionary Applications*, 12(3). <https://doi.org/10.1111/eva.12720>
- Shah, V. B., & McRae, B. (2008). Circuitscape : A Tool for Landscape Ecology. In *7th Python in Science Conference* (pp. 62–65).

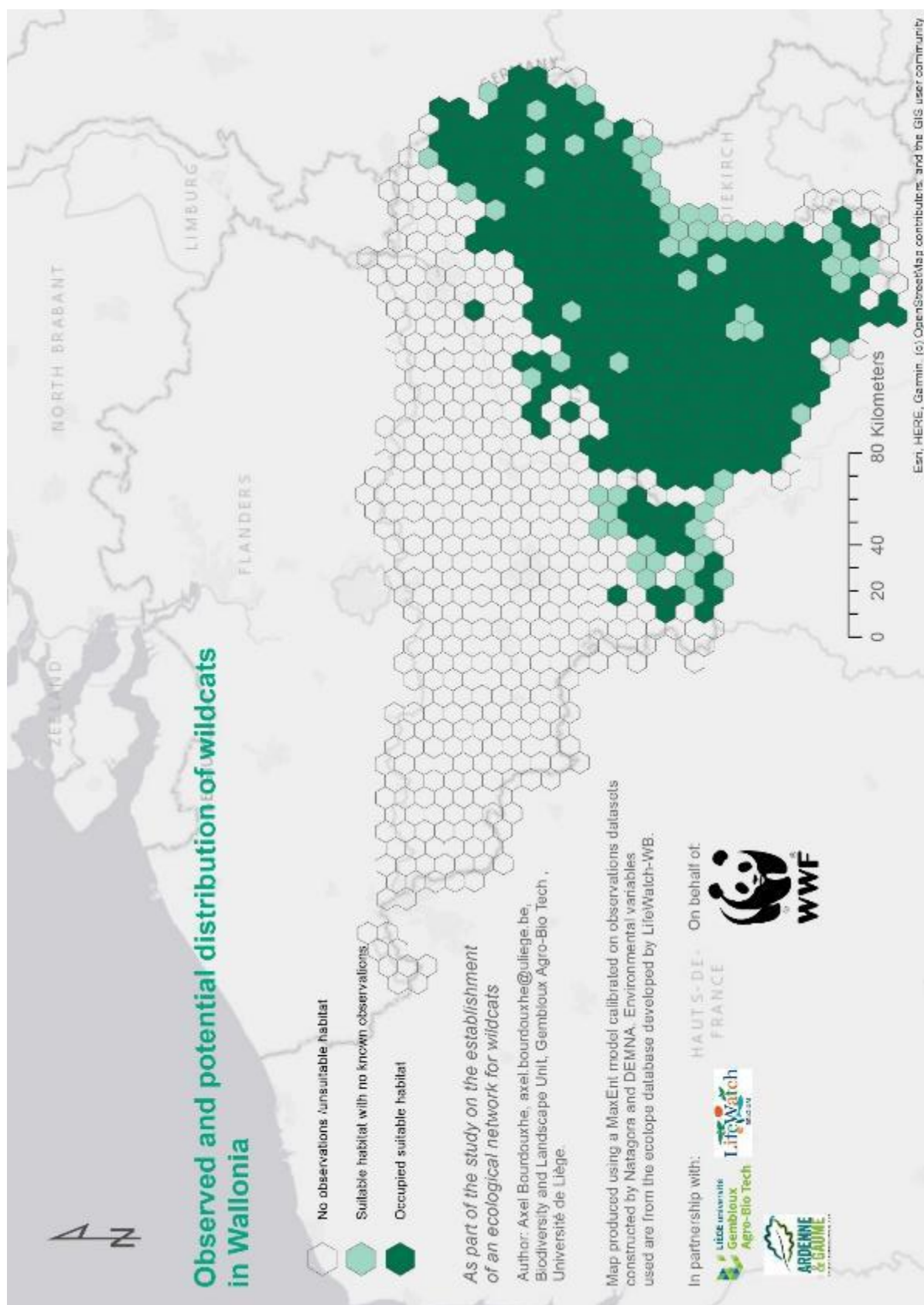
- Sordello, R. (2012). Synthèse bibliographique sur les traits de vie du chat forestier (*Felis silvestris* Schreber, 1775) relatifs à ses déplacements et à ses besoins de continuités écologiques. Service du patrimoine naturel du Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.
- Steyer, K., Simon, O., Kraus, R. H., Haase, P., & Nowak, C. (2013). Hair trapping with valerian-treated lure sticks as a tool for genetic wildcat monitoring in low-density habitats. *European Journal of Wildlife Research*, 59, 39–46. <https://doi.org/10.1007/s10344-012-0644-0>
- Steyer, K., Tiesmeyer, A., Muñoz-Fuentes, V., & Nowak, C. (2018). Low rates of hybridization between European wildcats and domestic cats in a human-dominated landscape. *Ecology and Evolution*, 8(4), 2290–2304. <https://doi.org/10.1002/ece3.3650>
- Tiesmeyer, A., Ramos, L., Manuel Lucas, J., Steyer, K., Alves, P. C., Astaras, C., ... Nowak, C. (2020). Range-wide patterns of human-mediated hybridisation in European wildcats. *Conservation Genetics*, 21(2), 247–260. <https://doi.org/10.1007/s10592-019-01247-4>
- Todesco, M., Pascual, M. A., Owens, G. L., Ostevik, K. L., Moyers, B. T., Hübner, S., ... Rieseberg, L. H. (2016). Hybridization and extinction. *Evolutionary Applications*, 9(7), 892–908. <https://doi.org/10.1111/eva.12367>
- van Nouhuys, S. (2016). Metapopulation Ecology. *ELS*, (2009), 1–9. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0021905.pub2>
- Velli, E., Bologna, M. A., Silvia, C., Ragni, B., & Randi, E. (2015). Non-invasive monitoring of the European wildcat (*Felis silvestris silvestris* Schreber, 1777): comparative analysis of three different monitoring techniques and evaluation of their integration. *European Journal of Wildlife Research*, 61(5), 657–668. <https://doi.org/10.1007/s10344-015-0936-2>
- von Thaden, A., Nowak, C., Tiesmeyer, A., Reiners, T. E., Alves, P. C., Lyons, L. A., ... Cocchiararo, B. (2020). Applying genomic data in wildlife monitoring: Development guidelines for genotyping degraded samples with reduced single nucleotide polymorphism panels. *Molecular Ecology Resources*, (December 2019), 1–19. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13136>

- Würstlin, S., Segelbacher, G., Streif, S., & Kohnen, A. (2016). Crossing the Rhine: a potential barrier to wildcat (*Felis silvestris silvestris*) movement? *Conservation Genetics*, 17(6), 1435–1444. <https://doi.org/10.1007/s10592-016-0874-x>
- Yamaguchi, N., Kitchener, A., Driscoll, C., & Nussberger, B. (2015). *Felis silvestris*. The IUCN Red List of Threatened Species. <https://doi.org/10.1136/emj.8.2.158>



# ANNEXES

## Annexe 1 : Distribution du chat forestier en Wallonie (Axel Bourdouxhe)



## Annexe 2 : Liste des SNP employés

Fst01_SNP033	Fst33_SNP152	mtDNA_SNPID1
Fst02_SNP138	Fst34_SNP127	mtDNA_SNPID2
Fst03_SNP149	Fst35_SNP106	mtDNA_SNPID3
Fst04_SNP018	Fst36_SNP021	mtDNA_SNPID4
Fst05_SNP032	Fst37_SNP066	mtDNA_SNPn
Fst06_SNP133	Fst38_SNP177	mtDNA_SNPu
Fst07_SNP148	Fst39_SNP007	mtDNA_SNPx
Fst08_SNP192	Fst40_SNP038	mtDNA_SNPz
Fst09_SNP193	Fst41_SNP114	SNP012
Fst10_SNP184	Fst42_SNP090	SNP014
Fst11_SNP195	Fst43_SNP027	SNP049i
Fst12_SNP028	Fst44_SNP143	SNP062
Fst13_SNP041	Fst45_SNP153	SNP065c
Fst14_SNP048	Fst46_SNP036	SNP093
Fst15_SNP057	Fst47_SNP017	SNP101
Fst16_SNP058	Fst48_SNP095	SNP102
Fst17_SNP060	Fst49_SNP089	SNP105b
Fst18_SNP088	Fst50_SNP084	SNP107
Fst19_SNP146	Fst51_SNP019	SNP109
Fst20_SNP176	Fst52_SNP010	SNP115
Fst21_SNP190	ID01_SNP134i	SNP129
Fst22_SNP020	ID02_SNP016i	SNP139
Fst23_SNP026	ID03_SNP029i	SNP141
Fst24_SNP030	ID04_SNP047i	SNP144_Fst1
Fst25_SNP159	ID05_SNP034i	SNP155
Fst26_SNP166	ID06_SNP112i	SNP158
Fst27_SNP050	ID07_SNP144i	SNP162
Fst28_SNP098	ID08_SNP111i	SNP178
Fst29_SNP001	ID09_SNP185i	SNP187
Fst30_SNP064	ID10_SNP110i	SNP194
Fst31_SNP126	Male_SNP_SRY1	SNP196
Fst32_SNP067	Male_SNP_SRY2	SNP198

4 mtDNA lignée maternelle
2 marqueurs pour déterminer le sexe
75 avec valeur de $F_{ST}$ entre 0.6 et 1 (pour évaluer l'introgression)
11 avec valeur de $F_{ST}$ <0.5 pour distinguer les individus
4 mtDNA pour distinguer les individus

**Annexe 3 :** Liste reprenant le type et le nombre de chat ayant visité chaque piquet en Wallonie

Piquet	Type de chat	Nombre total d'individus
P1B	Forestier	5
P2C	Domestique	1
P3A	Forestier	3
P3B	Forestier	2
P3C	Forestier	1
P4B	Forestier	2
P9C	Forestier	1
P12C	Forestier	1
P12A	Forestier	1
P15A	Forestier	3
P18B	Forestier	1
P18A	Forestier	2
P21A	Forestier	2
P21B	Forestier	1
P23B	Forestier	2
P27C	Forestier	1
P30B	Hybride F2	2
P31A	Forestier	3 (dont 1 capturé 2x)
P34A	Forestier	1
P36C	Forestier	1
P36B	Forestier	1
P39C	Forestier	1
P42B	Forestier	1
P50B	Forestier	2
P51A	Forestier	1
P55A	Forestier	1
P63A	Forestier	1 (capturé 2x)
P63B	Forestier	1 (recapturé au P63C)
P63C	Forestier	5 (dont 1 capturé 2x et 1 recapturé au P63B)
P69C	Forestier	1
P70B	Forestier	1
P99A	Forestier et hybride backcross domestique	2
P99B	Domestique et hybride F1	2
Chaton de Malmedy	Forestier	1
Test de la méthode P1	Forestier	1
Test de la méthode P2	Forestier	1
Test de la méthode P3	Forestier	1
Doische PBN	Forestier	2
Doische PTG	Forestier	1
Tenneville	Forestier	1
Piège à raton	Forestier	1

#### **Annexe 4 : Questionnaire fourni aux agents du DNF via Google Forms**

Dans le cadre de mon mémoire concernant la structure génétique du chat forestier en Wallonie, j'ai participé à l'analyse des échantillons récoltés pour le WWF-Belgium. Dans le milieu de la conservation, l'aspect social par la communication avec les différents acteurs concernés est primordial. C'est pourquoi j'ai réalisé ce questionnaire afin de récolter les avis des personnes ayant récolté les échantillons et leur perception de l'espèce et sa conservation après avoir participé à cette récolte.

Si vous avez des questions, vous pouvez me contacter à l'adresse suivante :  
alix.attaque@student.uliege.be

Merci pour votre participation.

#### **Concernant la conservation du chat forestier :**

1. Avez-vous déjà observé le chat forestier en Belgique ? (Oui/Non)
2. Pensez-vous que la conservation du chat forestier soit une priorité pour la conservation de la nature en Belgique ? (Oui/Non)
3. Pour quelle(s) raison(s) ? (Réponse libre)
4. Dans votre quotidien, avez-vous modifié certaines de vos pratiques pour prendre en compte les besoins du chat forestier ? (Oui/Non)
5. Si oui, comment ? (QCM)
  - Laisser les ronces pousser librement sur le sol
  - Laisser le lierre pousser librement sur les arbres
  - Favoriser la présence de fourrés et de taillis
  - Favoriser la présence de souches, troncs creux ou amas de branches
  - Autres (précisez)
6. Quels sont les éventuels freins qui pourraient empêcher le maintien du chat forestier dans les forêts belges ? (QCM)
  - Exploitation forestière importante
  - Proximité des villages - présence de nombreux chats domestiques et hybridation
  - Proximité des routes - mortalité due aux collisions routières
  - Autres (précisez)
7. Avez-vous des remarques/suggestions ?

#### **Concernant la récolte de poils :**

1. Les documents fournis étaient-ils clairs et utiles ?
2. Participeriez-vous à nouveau à des récoltes de ce type ?
3. Quelles améliorations pourraient être apportées ?