

Evaluation du statut spécifique du Chat forestier de Corse, par les méthodes des pièges à poils et photographiques



Fanny DENS



Maître de stage : Sandrine Ruette
Chef de projet « Petits carnivores »
Office National de la Chasse et de la Faune
Sauvage
CNERA PAD
Montfort
01330 BIRIEUX

Tuteur pédagogique : Sébastien Devillard
Maître de conférences
Université Claude Bernard Lyon 1

Résumé

En Corse, la présence d'une sous-espèce de Chat sauvage a fait l'objet de nombreux témoignages mais reste largement débattue. Dans la continuité du programme de recherche mis en place en 2011 par l'Office National de Chasse et de la Faune Sauvage, l'Office de l'Environnement de la Corse, la DREAL de Corse et l'Université Lyon 1 – CNRS, un protocole de récolte de prélèvements de poils de Chat forestier par la méthode des pièges à poils a été mis en œuvre cette année, afin de pouvoir placer cet animal dans la phylogénie des petits félidés. Déjà mis en place les années précédentes, il a été étendu en 2014 à 11 sites en Corse et a permis la récolte de 17 échantillons de poils de Chat. En parallèle, des pièges photos ont été mis en place et des échantillons de poils de chats domestiques de Corse ont également été récupérés afin de comparer leurs génotypes à ceux des individus sauvages. Les premiers résultats des analyses génétiques sur ADN mitochondrial (sur 1 fragment de 200 à 300 paires de base) suggèrent que le Chat forestier de Corse serait rattaché au Chat forestier d'Europe continentale, *Felis silvestris silvestris*. De plus, une première analyse du pelage des individus photographiés pencherait également pour la présence d'un phénotype plutôt sauvage, ce qui est encourageant pour la suite des recherches.

Mots-clés : Chat forestier, *Felis silvestris silvestris*, Corse, échantillonnage non invasif, pièges à poils, pièges photos, ADN mitochondrial.

Abstract

Since 2011, the ONCFS in France has been working with the Office de l'Environnement de la Corse, the DREAL and the University of Lyon 1-CNRS in order to characterize the presence in Corsica of a sub-species of Wildcat. A non-invasive sampling method to collect cat hair for genetic studies is implemented every year. This year, the sampling was extended to 11 areas in Corsica and camera traps were installed to examine the "Corsican wildcat" phenotype. We collected 17 cat hair samples and obtained 6 photographs of cats with a wildcat phenotype. First results of mitochondrial DNA analysis (using one fragment of 200-300 bp) suggest that the Corsican wildcat could be linked to the European wildcat, *Felis silvestris silvestris*. Moreover the Corsican wildcat's phenotype obtained with camera traps seems to match a "wild" phenotype. Further analyses are needed to conclude.

Key-words: Wildcat, *Felis silvestris silvestris*, Corsica, non-invasive method, hair trapping, camera trapping, mitochondrial DNA analysis.

Remerciements

Je remercie Sandrine Ruelle, ma maître de stage, et Sébastien Devillard, mon tuteur pédagogique, pour m'avoir permis de réaliser ce stage, et pour m'avoir conseillée, soutenue et apporté leur aide au cours de cette étude.

Je remercie également Pierre Benedetti, mon responsable lors de la partie terrain de mon stage et Chef technicien de la Cellule technique de Corse, ainsi que Frédéric Sanchis, technicien à la Cellule technique, et Frédéric Cervetti, technicien en appui aux programmes de la Cellule technique. Je leur suis reconnaissante pour leur aide et leurs conseils. Je remercie tout particulièrement Pierre Benedetti pour m'avoir permise de présenter oralement le projet sur le Chat forestier de Corse devant la Direction de l'ONCFS, des représentants d'autres établissements et des élus locaux. Ce fut pour moi une expérience enrichissante.

Mes remerciements vont également à Valérie Grisoni et Stéphanie du Secrétariat de l'ONCFS à Moltifao, pour leur gentillesse et leur aide. Je remercie également les membres du Service Inter-Départemental en Corse.

Je remercie aussi chaleureusement Jeannot et Chantal Moghraoui, pour leur accueil, leur gentillesse et pour m'avoir permis de visiter un peu certains sites. Je remercie Virginie Croquet, de la Délégation interrégionale Alpes-Méditerranée-Corse, pour le suivi de mon dossier administratif.

Je tiens à remercier Jean-Michel Vandel, technicien au CNERA PAD, avec qui j'ai pu beaucoup discuter. Je remercie également Laurence Henry pour sa bonne humeur et pour ses services, ainsi que Patricia Vincent pour l'aide administrative qu'elle m'a apporté. Merci aussi à tous les stagiaires de la station de la Dombes pour leur convivialité !

Mes remerciements vont tout particulièrement à François Léger, technicien au CNERA PAD, pour la bibliographie qu'il m'a fournie ainsi que pour m'avoir partagé ses connaissances sur le Chat forestier (et pour ses blagues !).

Je remercie également Pascale Chevret, pour l'expérience et l'aide qu'elle m'a apportées lors de la réalisation et l'interprétation des analyses génétiques.

Je tiens à remercier également l'ONCFS, l'Office de l'Environnement de la Corse (OEC), la Dreal de Corse et l'Université Lyon 1 – CNRS LBBE pour leur contribution.

Enfin, je remercie chaleureusement ma famille, et en particulier mes parents pour m'avoir toujours soutenue dans la voie que je voulais suivre, où que ça les mène !

Merci enfin à mon ami, de me soutenir quel que soient les circonstances et d'accepter ce que je lui fais endurer...

Sommaire

Avant-propos	11
Partie bibliographique Du Chat forestier en Europe au Chat forestier de Corse	13
I. Introduction	15
II. <i>Felis silvestris</i> en Europe	15
1). Systématique et origine de l'espèce	15
2). Répartition de <i>Felis silvestris</i> en Europe.....	17
3). Habitats des Chats forestiers en Europe.....	19
4). Eléments de biologie	19
4.1). <i>Période d'activité</i>	19
4.2). <i>Territoire et domaine vital</i>	19
4.3). <i>Période de reproduction</i>	21
4.4). <i>Alimentation</i>	21
5). Statuts de protection et menaces	21
6). Méthodes de différenciation des sous-espèces européennes.....	23
6.1). <i>Méthodes morphologiques</i>	23
6.2). <i>Méthodes anatomiques</i>	25
6.3). <i>Méthodes moléculaires</i>	25
III. <i>Felis silvestris</i> en Corse.....	27
1). Origine des mammifères terrestres en Corse.....	27
2). Le Chat forestier en Corse.....	27
2.1). <i>Travaux anciens</i>	27
2.2). <i>Morphologie et anatomie du « ghjattu volpe »</i>	31
3). Etudes récentes	33
IV. Objectifs de l'étude	35
Partie technique Quels <i>Felis silvestris</i> en Corse ? Evaluations par des méthodes non invasives.	37
I. Introduction	39
II. Méthodologie	39
1). Récolte d'indices de présence du Chat forestier sur le terrain	39
1.1). <i>Méthode des pièges à poils</i>	41
1.2). <i>Sites d'étude</i>	43

1.3).	<i>Effort de piégeage</i>	43
1.4).	<i>Caractérisation écologique des sites</i>	45
2).	Autres mesures mises en place.....	45
2.1).	<i>Installation de pièges photos</i>	45
2.2).	<i>Récolte de cadavres</i>	47
3).	Analyse du succès de la méthode de piégeage.....	47
III.	Récolte d'échantillons de Chats domestiques	47
1).	Objectifs	47
2).	Mise en œuvre	49
3).	Analyse génétique des échantillons.....	49
3.1).	<i>Objectifs et marqueurs utilisés</i>	49
3.2).	<i>Méthode</i>	49
3.3).	<i>PCR (« Polymerase Chain Reaction » ou Réaction de Polymérisation en Chaîne)</i> 53	
3.4).	<i>Analyses</i>	55
IV.	Résultats	57
1).	Evaluation du succès de la méthode utilisée en Corse	57
1.1).	<i>Résultats obtenus sur les pièges à poils et pièges photos</i>	57
1.2).	<i>Caractérisation écologique des sites les plus favorables</i>	59
2).	Récolte d'échantillons de Chats domestiques	63
3).	Analyses génétiques	63
3.1).	<i>Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose</i>	63
3.2).	<i>Analyse des séquences</i>	65
V.	Discussion	65
1).	Discussion des résultats.....	65
1.1).	<i>Succès des pièges à poils et des pièges photos</i>	65
1.2).	<i>Analyses génétiques</i>	69
2).	Limites de la méthode utilisée.....	71
VI.	Conclusion.....	73
	Bibliographie.....	77
	Annexes.....	83

Table des illustrations

Tableaux

Tableau I : Comparaison des caractéristiques phénotypiques entre <i>Felis silvestris silvestris</i> et <i>Felis silvestris lybica</i> (d'après Ragni & Possenti 1996). Seuls les patrons majoritaires sont représentés.....	24
Tableau II : Caractérisation du piégeage par site.	42
Tableau III : Répartition des pièges photos et durée d'activité par piège à poil.....	46
Tableau IV : Caractéristiques des amorces utilisées pour l'étude. Les amorces F1 à F10 et Lf15926 et Lf4 sont des amorces « forward ». Les amorces R1 à R10 et DLH et Hf3 sont des amorces « reverse ».....	52
Tableau V : Les différentes étapes des PCR effectuées. Ces opérations ont été programmées pour 45 cycles de PCR et réalisées par un thermocycleur. Une fois la PCR terminée et en attente d'être retirés, les échantillons sont conservés à une température de 10°C dans le thermocycleur.....	54
Tableau VI : Répartition des prélèvements et des photos de Chat obtenus. Les chats de phénotypes domestique, tigré et forestier sont comptabilisés. Seuls les pièges 14, 52, 36, 42, 43, 56 et 63 présentaient un piège photos à proximité au moins durant une partie de la campagne de prélèvement. Pour les pièges 56 et 63, 2 photos sont associés à un seul prélèvement (2 passages de Chat avant récupération des échantillons).....	56
Tableau VII : Caractérisation des pièges à poils dans le site de la Castagniccia ayant présenté des prélèvements de Chat seuls (pièges 36, 39, 40, 41, 43 et 51) et au un épisode de photographie de Chat au phénotype forestier et un épisode de photographie de Chat tigré (piège 42). Le recouvrement est calculé dans la zone buffer de 500m entourant chaque piège. L'altitude et les distances aux cours d'eau et aux routes principales les plus proches sont calculées à partir du piège.	60

Figures

Figure 1 : Arbre phylogénétique des sous-espèces de <i>Felis silvestris</i> basé sur des séquences d'ADN mitochondrial (extrait de Driscoll <i>et al.</i> 2007).....	16
Figure 2 : Carte de la répartition du Chat forestier d'Europe <i>Felis silvestris silvestris</i> (extrait de Raydelet 2009, d'après Stahl & Léger 1992).	16

Figure 3 : Caractéristiques du pelage -a) du Chat forestier de Corse (Source : Croquis Salotti (M.) dans Salotti 1992), -b) du Chat forestier d'Europe (A) et du Chat domestique tigré (B) (Source : Croquis Poivre (C) dans Stahl & Léger 1992). Les proportions entre les figures a) et b) ne sont pas respectées.	30
Figure 4 : Carte de la localisation des pièges à poils en 2011 et 2012.....	32
Figure 5 : Localisation des sites de piégeage de poils de Chat forestier de Corse en 2014....	40
Figure 6 : Site de piégeage du Niolo. Les pièges à poils sont associés à leur numéro. L'occupation du sol est définie par le code Corine Land Cover de 2006. Les buffers de 500 m de rayon autour des pièges à poils, en violet, sont utilisés pour caractériser écologiquement ces derniers. Les buffers ayant pour rayon le « Full Mean Maximimun Distance Moved » (FMMDM) sont représentés en noir. Associés ensemble ils représentent la surface effective d'échantillonnage pour le site. Le « Minimum Convex Polygon » (MCP), en bleu, englobe les pièges à poils.	44
Figure 7 : Schéma des poils de Chat (<i>Felis silvestris</i>) et d'autres mammifères sauvages présents en Corse et susceptibles d'avoir laissés des poils sur les pièges : le Renard (<i>Vulpes vulpes</i>), le Sanglier (<i>Sus scrofa</i>), le Mouflon (<i>Ovis gmelini musimon</i>) et le Cerf élaphe (<i>Cervus elaphus</i>). Les poils de Belette (<i>Mustela nivalis</i>), autre carnivore sauvage présent en Corse, auraient également pu être confondus aux poils de Chat.....	50
Figure 8 : Principe de la PCR (Réaction de polymérisation en chaîne). Les amorces sont schématisées en rouge. F1 est l'amorce « forward » et R1 l'amorce « reverse » du fragment 1 à amplifier. La Taq polymérase est schématisée par un triangle vert et synthétise de 5' vers 3'. La quantité d'ADN est doublée à chaque cycle.	52
Figure 9 : Photo de Chat au phénotype « forestier » de Corse, obtenue le 10 mai 2014 au piège à poils n°56 (Niolo). Il présente une robe de fond claire avec sur les flans des motifs brun-clair. Des raies noires bien marquées se dessinent sur les pattes. La queue est annelée et terminée par un manchon noir. Enfin, le dessous des pattes postérieures sont noirs.....	58
Figure 10 : Arbre phylogénétique obtenu suite au traitement des séquences des échantillons de Corse (ADN mt, environ 200-300 pb), intégré aux séquences de <i>Felis silvestris</i> extraites de Driscoll et al. 2011. Les individus corses sont notés en rouge. Les couleurs des autres séquences correspondent aux clades définis par Driscoll <i>et al.</i> : <i>Felis silvestris silvestris</i> en vert, <i>Felis silvestris cafra</i> en bleu, <i>Felis silvestris ornata</i> en violet et <i>Felis silvestris catus</i> en orange.	64

Annexes

Annexe 1 :	Répartition des sous-espèces sauvages de <i>Felis silvestris</i>	84
Annexe 2 :	Calcul de l'indice crânien (d'après Schauenberg, 1969).....	85
Annexe 3 :	Provenance des Chats dits « forestiers » de Corse analysés génétiquement en 2009.	86
Annexe 4 :	Illustration de la méthode des pièges à poils et pièges photos.	87
Annexe 5 :	Coordonnées des correspondants de terrain en 2014.	88
Annexe 6 :	Localités des sites de piégeage de poils de Chat forestier en 2014.....	92
Annexe 7 :	Activité des pièges par mois.....	93
Annexe 8 :	Détail des pièges à poils et de l'occupation du sol pour chaque site de piégeage	94
Annexe 9 :	Caractérisation écologique des sites.....	99
Annexe 10 :	Liste des correspondants vétérinaires sollicités pour la collecte de poils de Chats domestiques de Corse.....	101
Annexe 11 :	Position des amorces sur les gènes cibles.	102
Annexe 12 :	Mise au point du protocole de PCR	103
Annexe 13 :	Marqueurs de taille utilisés lors de la l'électrophorèse sur gel d'agarose.....	106
Annexe 14 :	Exemples de qualification des séquences en « exploitables » ou « non exploitables » après séquençage avec le logiciel MEGA6.....	107
Annexe 15 :	IUPAC single letter codes	108
Annexe 16 :	Sites informatifs dans l'ADN mitochondrial pour la phylogénie de <i>Felis silvestris</i>	109
Annexe 17 :	Localisation des pièges positifs pour un prélèvement de Chat et/ou une photo de Chat au phénotype forestier ou tigré.	110
Annexe 18 :	Photos de Chats au phénotype « domestique » obtenues.....	111
Annexe 19 :	Photos de Chats au phénotype « tigré » obtenues	112
Annexe 20 :	Photos de Chats au phénotype « forestier » de Corse obtenu.	114
Annexe 21 :	Echantillons de poils de Chats domestiques de Corse recueillis en 2014.....	117
Annexe 22 :	Listes des échantillons traités.....	119
Annexe 23 :	Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose de la PCR réalisée.....	123

Avant-propos

L'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS) est un établissement public sous la double tutelle des ministères chargés de l'Ecologie et de l'Agriculture. Une de ces grandes missions est l'étude de la faune sauvage et de ses habitats qui est divisée en plusieurs Centres Nationaux d'Etudes et Recherches (CNERA), qui ont en charge des groupes d'espèces différents. J'ai effectué mon stage au sein du CNERA Prédateurs-Animaux déprédateurs (PAD). Mon maître de stage était Sandrine Ruelle, chef du projet « Petits carnivores ». J'ai effectué la première partie de mon stage en Corse pour le travail de terrain. Mon responsable était Pierre Benedetti, Chef technicien de la Cellule technique de l'ONCFS en Corse (2B). J'ai ensuite effectué la seconde partie de mon stage à la Station ONCFS de la Dombes (01) pour le traitement des données récoltées en Corse et à l'Université Claude Bernard Lyon I (69), au Laboratoire de Biométrie et de Biologie Evolutive (LBBE) où j'ai effectué les manipulations génétiques.

Partie bibliographique

Du Chat forestier en Europe au Chat forestier de Corse

I. Introduction

La protection de la biodiversité nécessite d'inventorier et de connaître l'écologie des espèces patrimoniales, ainsi que d'identifier les menaces pesant sur elles. En France, le Chat forestier est une des espèces de carnivores protégées. Sa présence est démontrée sur le continent alors qu'en Corse elle reste largement débattue, malgré de nombreux témoignages. La plupart des connaissances concernant cet animal en Corse sont issues des travaux de M. Salotti, et datent des années 1980-1990. Afin de répondre aux exigences en termes de gestion et de conservation de la biodiversité, il est important de caractériser le Chat dit « forestier » en Corse, tant sur le plan phylogénétique qu'écologique.

Dans la synthèse bibliographique qui suit, l'espèce *Felis silvestris* sera présentée, dans un premier temps dans un contexte européen. Les aspects systématiques, mais également écologiques seront détaillés, dans le but de se pencher dans un second temps sur le cas de la Corse. Les travaux qui y ont été effectués et la tournure actuelle des recherches seront explicités.

La dénomination « Chat sauvage » sera employée pour désigner les sous-espèces sauvages de *Felis silvestris*. Pour désigner la sous-espèce *Felis silvestris silvestris*, le terme « Chat forestier » sera employé. Le chat vivant à l'état sauvage en Corse sera dénommé « Chat forestier de Corse », sans que cela n'implique une correspondance phylogénétique avec *F. s. silvestris*.

II. Felis silvestris en Europe

1). Systématique et origine de l'espèce

La classification du genre *Felis* a été très controversée. Il a été accordé à *Felis silvestris* à la fois le rang d'espèce distincte des autres Chats sauvages, désignant uniquement le Chat forestier d'Europe, et d'espèce polytypique englobant différentes sous-espèces (Stahl & Léger 1992). *Felis silvestris* est finalement reconnue comme étant une espèce polytypique (Driscoll *et al.* 2007). Jusqu'à encore récemment, les sous-espèces rattachées à *Felis silvestris* étaient le Chat forestier (*F. s. silvestris* Schreber, 1777), le Chat sauvage d'Afrique ou Chat ganté (*F. s. lybica* Forster, 1780), le Chat sauvage d'Asie ou Chat orné (*F. s. ornata* Gray, 1830) et le Chat domestique (*F. s. catus* Linné, 1758). Suite à des travaux récents de phylogénie moléculaire, deux nouvelles sous-espèces ont été reconnues : le Chat sauvage d'Afrique du

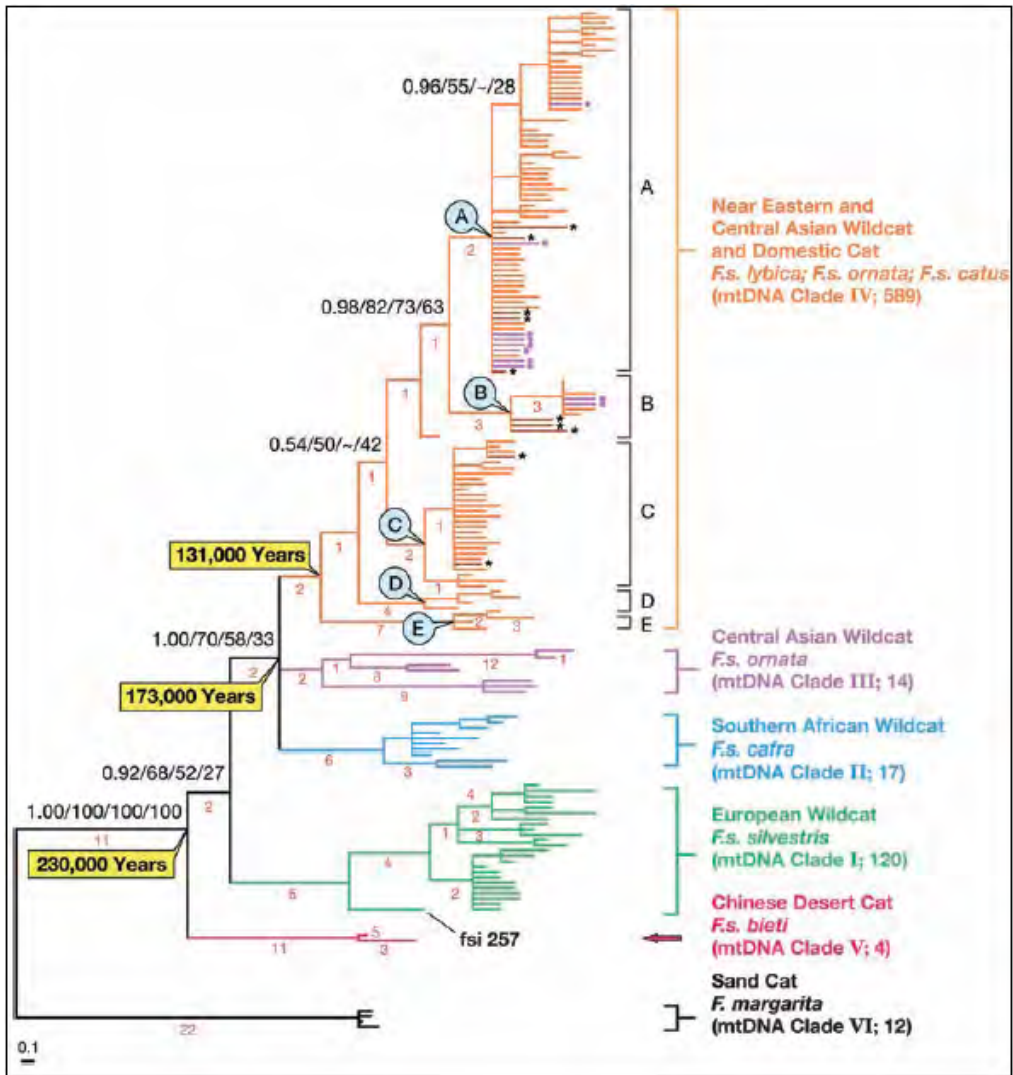


Figure 1 : Arbre phylogénétique des sous-espèces de *Felis silvestris* basé sur des séquences d'ADN mitochondrial (extrait de Driscoll *et al.* 2007).

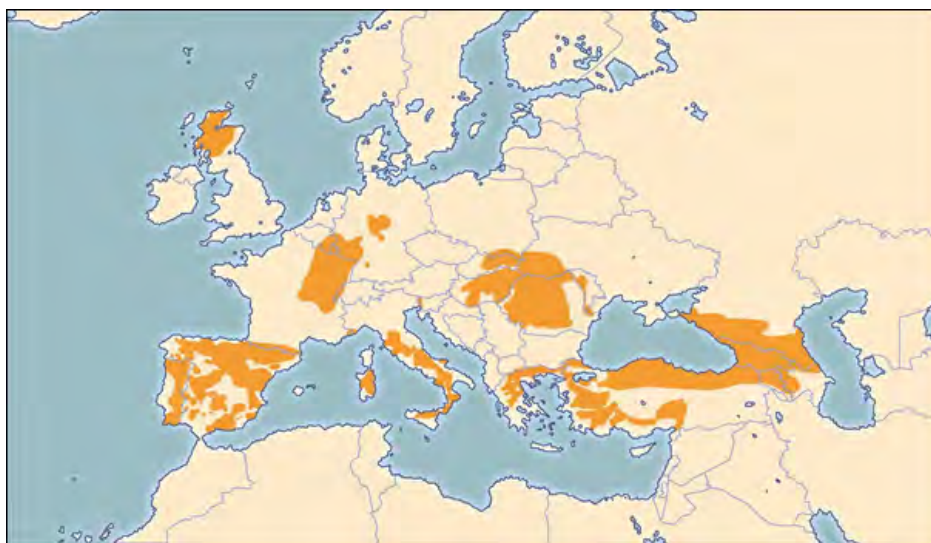


Figure 2 : Carte de la répartition du Chat forestier d'Europe *Felis silvestris silvestris* (extrait de Raydelet 2009, d'après Stahl & Léger 1992).

Sud (*F. s. cafra* Desmarest, 1822) et le Chat du désert de Chine (*F. s. bieti* Milne-Edwards, 1872) (Driscoll *et al.* 2007 ; O'Brien *et al.* 2008).

Le dernier ancêtre commun à toutes les espèces du genre *Felis* serait *Felis lunensis* Martelli, 1906, qui serait apparu en Europe au début du Pléistocène (qui s'étend de moins 2,6 millions d'années à moins 11 700 ans) voire à la fin du Pliocène (Kurten 1965 *in* Stahl & Léger 1992). Driscoll *et al.* (2007) démontrent que *Felis silvestris* serait apparu il y a environ 230 000 ans, et que l'ancêtre du Chat sauvage d'Afrique et du Chat domestique serait âgé de plus de 130 000 ans. Les relations phylogénétiques entre *F. s. lybica*, *F. s. cafra*, *F. s. ornata* et *F. s. catus* restent néanmoins incertaines. Pour ces mêmes auteurs, le Chat forestier et le Chat sauvage d'Afrique semblent avoir divergé il y a plus de 170 000 ans, contrairement à d'autres auteurs (Randi & Ragni 1986, 1991) qui avaient estimé cette date à 20 000 ans (Figure 1).

Le Chat domestique, *Felis silvestris catus*, serait issu quant à lui de la domestication du Chat sauvage d'Afrique, longtemps considérée comme ayant eu lieu il y a 4 000 à 8 000 ans en Egypte (Kitchener 1991 *in* Germain 2007). Des découvertes plus récentes suggèrent néanmoins que la domestication de *F. s. lybica* pourrait remonter à 9 500 ans à Chypre (Vigne *et al.* 2004). Le Chat domestique aurait ensuite été introduit en Europe dès l'époque Greco-romaine (Ginsburg *et al.* 1991). Les données génomiques renforcent également l'hypothèse de l'origine proche-orientale du Chat domestique, en désignant un évènement de domestication au Proche-Orient, apparu à l'époque où les premiers villages se seraient implantés dans le Croissant fertile pour l'agriculture (il y a environ 10 000 ans). Les chats auraient alors pu présenter un intérêt pour l'Homme en tenant éloignés les rongeurs des lieux de stockage de graines (O'Brien *et al.* 2008).

2). Répartition de *Felis silvestris* en Europe

Felis silvestris (hors *F. s. catus*) est réparti sur les continents d'Europe, d'Afrique et d'Asie, qui sont occupés par les différentes sous-espèces (Annexe 1). En Europe, seules deux sous-espèces de Chat forestier sont présentes : le Chat forestier et le Chat sauvage d'Afrique. Le Chat forestier occupe le continent depuis l'est de l'Europe au Portugal et de l'Ecosse jusqu'à l'Italie, à l'exception de la Scandinavie (Nowell & Jackson 1996). Il est également présent en Sicile, seule île méditerranéenne où serait présent *F. s. silvestris* (Driscoll & Nowell 2010) (Figure 2). En France, il est réparti sur un grand quart nord-est du pays et au niveau des Pyrénées (Annexe 1) (Léger *et al.* 2008 ; Say *et al.* 2012).

La présence du Chat sauvage d'Afrique, *F. s. lybica*, n'est démontrée en Europe qu'en Sardaigne (Randi *et al.* 2001). Il pourrait cependant se trouver en Crète, aux Baléares (Majorque) (Ragni 1988) et en Corse (voir II). Les populations sardes de *F. s. lybica* ont probablement été introduites par l'Homme durant la Préhistoire (Masseti 1993 *in* Murgia *et al.* 2007).

Le Chat domestique, qui occupe tous les continents à l'exception des pôles, est réparti sur l'ensemble du continent européen. *Felis silvestris* est ainsi en sympatrie sur toute son aire de distribution européenne avec le Chat domestique.

3). Habitats des Chats forestiers en Europe

Les Chats forestiers peuvent occuper une large variété d'habitat en Europe (Stahl & Léger 1992 ; Nowell & Jackson 1996). Ils occupent typiquement de grands massifs forestiers de plaine, de colline, de basse et moyenne montagnes et leurs bordures (Stahl & Léger 1992). Il vit dans des forêts de feuillus ou des forêts mixtes, mais peut également être trouvé dans des forêts de conifères, tout comme le Chat sauvage d'Afrique en Sardaigne (Ragni 1981). La plupart des domaines vitaux sont constitués d'écotones entre massifs forestiers et milieux ouverts (Nowell & Jackson 1996 ; Germain *et al.* 2009), qui fournissent des proies en abondance et de nombreux gîtes (Stahl 1986). Les zones rocheuses et rocailleuses constituent les micro-habitats préférentiels des Chats forestiers.

Dans les régions méditerranéennes, le Chat forestier est plus abondant dans les environnements hétérogènes comprenant des zones ouvertes (Lozano *et al.* 2003, 2007). Dans ces milieux, les formations végétales composées d'arbrisseaux et d'arbustes (garrigue) semblent constituer une caractéristique du paysage importante pour cette espèce (Lozano *et al.* 2003, 2007 ; Monterroso *et al.* 2009). Le maquis méditerranéen est également occupé en Sardaigne par le Chat sauvage d'Afrique (Ragni 1981 ; Murgia & Murgia 2012).

4). Éléments de biologie

4.1). Période d'activité

Le Chat forestier comme le Chat sauvage d'Afrique sont actifs principalement la nuit. Ils peuvent également présenter une période d'activité tôt le matin et tard l'après-midi (Stahl & Léger 1992 ; Nowell & Jackson 1996).

4.2). Territoire et domaine vital

Les Chats sauvages sont solitaires. Ils marquent leurs territoires par le dépôt de fèces et

d'urine, et le défendent contre l'intrusion de congénères de même sexe (Biro *et al.* 2004 : Lozano & Urra 2007 *in* Lozano & Malo 2012). Les territoires des mâles englobent ou chevauchent plusieurs territoires de femelles (territorialité intra-sexuelle).

Les domaines vitaux des Chats sauvages comprennent des aires de chasse et des gîtes pour le repos, la reproduction et l'élevage des jeunes (Kitchener 1991). Leur superficie est très variable et diffère selon le milieu. Les domaines vitaux des mâles sont plus grands que ceux des femelles (Germain *et al.* 2007 ; Lozano & Malo 2012).

4.3). Période de reproduction

La période de rut du Chat forestier se produit de mi-janvier à fin février mais peut s'étendre de fin décembre à fin juin. Des accouplements plus précoces ou plus tardifs ne sont pas rares (Stahl & Léger 1992). En Sardaigne, la période de rut du Chat sauvage d'Afrique a lieu de décembre-janvier à février-mai. Les accouplements peuvent se produire jusqu'à fin juillet dans les cas où les premières copulations ont échoué ou si les portées ont été perdues (Ragni 1981).

4.4). Alimentation

Le régime alimentaire du Chat forestier se compose principalement de petits rongeurs et de lapins. Les lièvres et les oiseaux nichant au sol constituent des proies secondaires régulières (Stahl & Léger 1992). Il peut également se nourrir occasionnellement de petits mustélidés, d'insectivores, d'amphibiens, de reptiles et d'insectes (Ragni 1978). Il chasse à l'affût et à l'approche (Stahl & Léger 1992).

Le Chat sauvage d'Afrique pratique également la chasse à l'affût et à l'approche, et serait capable de chasser dans les arbres (Ragni 1981). En Sardaigne, son régime alimentaire se compose principalement de petits mammifères (rongeurs et insectivores), de lagomorphes et d'oiseaux, mais également de reptiles et d'amphibiens (Ragni 1981 ; Puddu & Viarengo 1996 *in* Murgia *et al.* 2007)

5). Statuts de protection et menaces

Les Chats sauvages sont inscrits en Annexe II de la CITES (Convention on International Trade in Endangered Species, UNEP-WCMC 2006) et sont protégés en Europe par la Convention de Berne et la Directive Européenne 92/43/EEC (EUROP 1992). Ils sont classés comme Préoccupation mineure par l'Union Internationale de Conservation de la Nature, mis à

part le Chat forestier d'Ecosse qui est classé comme Vulnérable (IUCN 2008). En France, ils sont protégés depuis 1976.


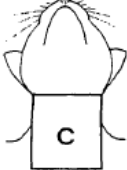

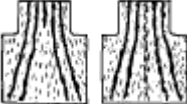
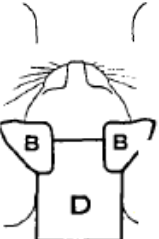




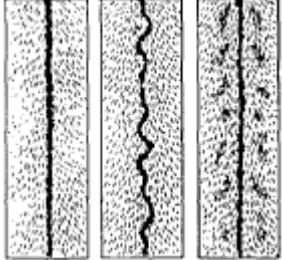

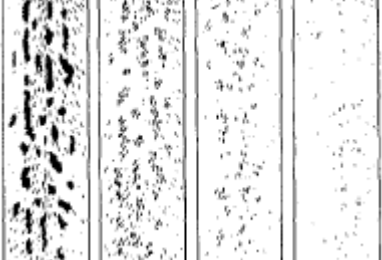
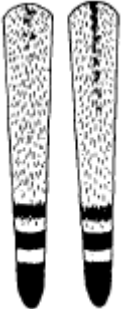
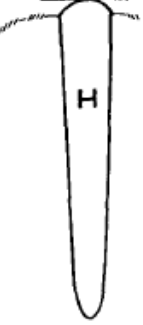
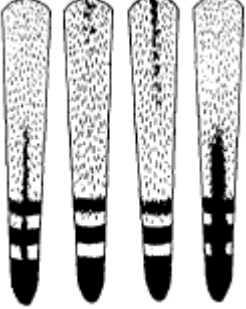
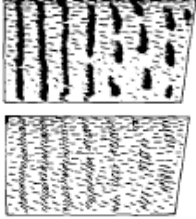
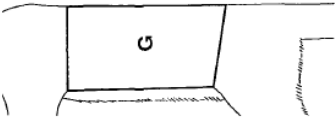
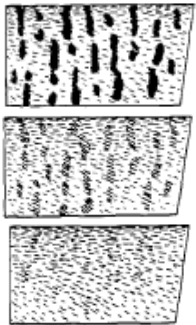
Les populations de Chat forestier en Europe sont principalement menacées par la perte de leur habitat et par l'hybridation avec le Chat domestique (Stahl & Artois 1991). L'expansion du Chat domestique provoquée par l'Homme et la fragmentation de l'habitat du Chat forestier augmenteraient le risque d'hybridation entre ces sous-espèces (Germain *et al.* 2007 ; Lozano & Malo 2012). Bien que le Chat forestier et le Chat domestique vivent en sympatrie depuis plus de 2 000 ans, ce phénomène se serait accentué au cours du XXème siècle. A l'époque, la chasse et le piégeage pour la vente des peaux, ainsi que la destruction de leurs habitats, avaient entraîné le déclin des populations de Chats forestiers en Europe (Stahl & Léger 1992). L'hybridation menace l'intégrité génétique des populations de Chat forestier, d'autant plus que les hybrides sont fertiles, ce qui maintient la dilution du génotype sauvage au fil des générations (Ragni 1993 ; Germain *et al.* 2009). Ainsi, la prévention de l'hybridation est considérée comme prioritaire dans la conservation des sous-espèces de Chats sauvages (Driscoll & Nowell 2010). L'identification des Chats sauvages, des Chats domestiques et de leurs hybrides est donc nécessaire pour mener à bien cet axe de conservation. La mortalité induite par l'Homme, en particulier lors de collisions avec des véhicules, et la vulnérabilité aux maladies transmises par les Chats domestiques constituent les autres principales menaces touchant les Chats sauvages en Europe (Stahl & Artois 1991).

6). Méthodes de différenciation des sous-espèces européennes

6.1). Méthodes morphologiques

Des méthodes morphologiques peuvent être utilisées afin de distinguer le Chat forestier et le Chat domestique (Léger *et al.* 2008). Le Chat forestier présente un phénotype particulier, et des critères d'identification de cette sous-espèce sur la base du pelage (couleur et patron de la robe) ont été retenus (Stahl & Léger 1992 ; Léger *et al.* 2008). Ainsi, les caractéristiques permettant d'identifier *Felis s. silvestris* sont la queue épaisse et annelée, présentant au moins deux anneaux complets et un manchon terminal noir ; les raies latérales peu marquées et non rattachées la raie dorsale, qui est unique, fine et interrompue à la base de la queue ; la couleur de fond du pelage unie, gris fauve ou fauve clair. Dans la majorité des cas les critères du pelage permettent de différencier les Chats forestiers des Chats domestiques (Ruelle *et al.* 2011). Cependant, les caractéristiques du pelage seules ne permettent pas de distinguer les Chats forestiers de leurs hybrides.

Tableau I : Comparaison des caractéristiques phénotypiques entre *Felis silvestris silvestris* et *Felis silvestris lybica* (d'après Ragni & Possenti 1996). Seuls les patrons majoritaires sont représentés

<i>Felis silvestris silvestris</i>	Partie du corps	<i>Felis silvestris lybica</i>
		
		
		
		
		
		

Ragni et Possenti (1996) ont également proposé une clé permettant de différencier sur la base des caractéristiques du pelage le Chat domestique tigré du Chat forestier, mais également du Chat sauvage de Sardaigne (*Felis silvestris lybica* var. *sarda*). Ainsi, le pelage du Chat sauvage de Sardaigne présente une couleur de fond unie gris-fauve ou fauve-clair, et est composé de motifs brun-noir ou pâles. Les régions occipitales, scapulaires, dorsales et latérales arborent des motifs dits « désordonnés ». La région dorsale peut exceptionnellement présenter une bande longitudinale marquée ou plus nuancée. La queue est annelée et terminée par un manchon noir. Une bande médiane longitudinale peut également se dessiner sur la moitié ou le quart terminal de la queue (Tableau I).

6.2). Méthodes anatomiques

En 1969, Schauenberg a mis au point un indice crânien, qui permet de différencier le Chat forestier d'Europe du Chat domestique. Cet indice se base sur une la réduction observée de la capacité crânienne chez différents mammifères domestiques par rapport à celle de leur forme sauvage, dont le Chat (Klatt 1912 *in* Schauenberg 1969). Ainsi, le Chat forestier possède, à l'âge adulte, une capacité crânienne supérieure à 35 cm³, tandis que celle du Chat domestique est inférieure à 32 cm³. Pour des chats dont la capacité crânienne est comprise entre ces deux valeurs, il est indispensable de déterminer l'indice crânien. Il se calcule par le rapport de la longueur du crâne (longueur condylo-basale en cm) sur la capacité crânienne (en cm³) (Annexe 2). Utilisé seulement pour des individus adultes, la valeur de l'indice crânien est inférieure à 2.75 pour un Chat forestier et supérieure à 2.75 pour un Chat domestique (Schauenberg 1969). Cette valeur est également inférieure à 2.75 chez *F. s. lybica* (Schauenberg 1971).

Schauenberg a également développé un indice intestinal pour différencier *F. s. silvestris* et *F. s. catus* (Schauenberg 1977). Du fait de leur régime alimentaire exclusivement carnivore, les Chats forestiers ont un intestin plus court que les Chats domestiques. L'indice se calcule sur des individus adultes, par le rapport entre la longueur de l'intestin et la longueur du corps de l'animal (depuis la pointe du museau au bout de la queue). Pour un Chat forestier la valeur de cet indice est inférieure à 3.1 et est supérieure à 3.3 pour un Chat domestique. Ces deux méthodes anatomiques d'identification ne permettent pas non plus de distinguer avec fiabilité les hybrides (Ruelle *et al.* 2011 ; Devillard *et al.* 2013).

6.3). Méthodes moléculaires

Les méthodes morphologiques et anatomiques de distinction entre Chats forestiers et Chats domestiques ont été utilisées jusque dans les années 1980. Depuis, avec le développement de

la biologie moléculaire, de nouveaux outils génétiques ont pu être établis et permettent de distinguer les différentes sous-espèces de Chat ainsi que leurs hybrides.

Différents marqueurs peuvent être utilisés. Les marqueurs mitochondriaux sont employés pour des questions de phylogénie et de phylogéographie (Driscoll *et al.* 2007 ; O'Brien *et al.* 2008). Les microsatellites et les SNP (Single Nucleotid Polymorphism) nucléaires sont utilisés pour déceler des différenciations génétiques de populations et de l'hybridation.

III. Felis silvestris en Corse

1). Origine des mammifères terrestres en Corse

Le massif corso-sarde s'est séparé du continent français il y a au moins 15 millions d'années. Les mammifères s'y trouvant ont ainsi été emportés et séparés de leurs congénères continentaux. Néanmoins, les rares fossiles de cette époque, trouvés en Sardaigne, ne montrent aucune ressemblance avec les mammifères actuels de l'île. A plusieurs reprises au cours des temps géologiques, la Corse et la Sardaigne ont cessé d'être des îles, du fait d'épisodes de sécheresses et de glaciations. Certains mammifères ont pu alors rejoindre le massif corso-sarde à pied ou à la nage. Cependant, aucun des mammifères présents avant le début de notre ère n'est présent actuellement en Corse (Gauthier & Vigne 1987).

Les premières traces d'implantation humaine datent du VII^{ème} millénaire avant notre ère. A cette époque, il ne restait que 4 ou 5 taxons endémiques de l'île issus du Pléistocène. Ceux-ci disparurent entre le Néolithique moyen et le début de notre ère, du fait de la chasse par l'Homme et de la compétition avec les espèces introduites artificiellement. Ainsi, tous les mammifères terrestres non-volants actuels de Corse auraient été introduits par l'Homme, volontairement ou non. Certaines espèces alors domestiquées ou apprivoisées ont donné naissance à des formes sauvages telles que le Mouflon (*Ovis gmelini musimon*), le Sanglier (*Sus scrofa*) et le Chat (*Felis silvestris*). Des espèces de gibier ont également été introduites tels que le Lièvre (*Lepus capensis*), le Lapin (*Oryctolagus cuniculus*) et le Cerf (*Cervus elaphus*). Enfin, d'autres espèces ont pu être introduites involontairement en profitant des bateaux (rongeurs, musaraignes...) (Vigne 1988).

2). Le Chat forestier en Corse

2.1). Travaux anciens

En Corse, les premiers travaux concernant le Chat forestier ont débuté en 1929. A l'époque, Lavauden, qui entreprenait des recherches concernant le Lynx mentionné dans

l'inventaire mammalogique de la faune corse (1926), affirme après l'examen d'une peau et d'un crâne, l'existence d'une espèce de « Chat sauvage » en Corse. D'après Lavauden, ce chat possédait des caractères qui permettaient de le différencier du Chat forestier d'Europe et du Chat sauvage de Sardaigne. Il le nomme alors *Felis reyi*, du nom du professeur qui lui avait fourni le matériel biologique. Halternorth (1957) le relègue au rang de sous espèce et le rattache à l'espèce *F. silvestris*, en le nommant *F. s. reyi*. Pour d'autres auteurs néanmoins, les Chats forestiers de Corse et de Sardaigne sont à rattacher au Chat sauvage d'Afrique, et conservent une valeur d'espèce (*Felis lybica*). Les Chats forestiers du massif corso-sardes sont donc réunis en une même sous-espèce (*F. l. sarda*) (Pocock 1934 ; Ellerman & Morrison-Scott 1951). Saint Girons (1973) qui considère, comme Halternorth, le Chat sauvage d'Afrique comme une sous-espèce de *Felis silvestris*, attribue lui-aussi une affinité africaine aux Chats forestiers de Corse et de Sardaigne. Le rang taxonomique donné à ces chats est alors inférieur à celui de la sous-espèce (pour la Sardaigne : *F. s. lybica* var. *sarda*, Lataste 1885).

Vigne (1988), dans une étude archéo-zoologique portant sur les mammifères de Corse, mentionne que le genre *Felis* est absent de la faune du Pléistocène, mais également des ensembles pré- et proto-historiques. Les seuls restes de Chat découverts sur l'île sont datés des XIV^{ème}, XV^{ème} et XVI^{ème} siècles, auxquels il attribue une nature probablement domestique. En Sardaigne, la présence du Chat sauvage est mentionnée au XVIII^{ème} siècle (Cetti 1777 in Vigne 1988). Vigne suppose donc que l'apparition du Chat « sauvage » sur le massif corso-sarde daterait probablement de la période historique. Dans une étude ostéologique portant sur trois crânes, issus de musées, de Chats répertoriés comme « sauvages » de Corse, il montre que les indices crâniens obtenus pour ces individus sont en dehors de l'intervalle de variation défini pour *F. s. silvestris* et *F. s. lybica* (Schauenberg 1969, 1971), mais correspondent aux indices crâniens de Chats domestiques. Vigne en déduit donc, en se basant sur ces crânes, que le Chat n'a fait son apparition en Corse que sous la forme domestique. Il considère ainsi que le Chat sauvage en Corse est un Chat haret, échappé au contrôle de l'Homme à une période historique. Ces mêmes suppositions avaient été faites pour le Chat sauvage de Sardaigne par Keller (1899, 1911 in Vigne 1988).

La présence d'un Chat « forestier » en Corse est néanmoins attestée par des données historiques et des observations de chasseurs et de bergers (Arrighi & Salotti 1988). Il est d'ailleurs dénommé en corse « u ghjattu-volpe » (« le chat-renard »), et était considéré comme nuisible, au même titre que le renard (Salotti *et al.* 1987). Certains corses font même la

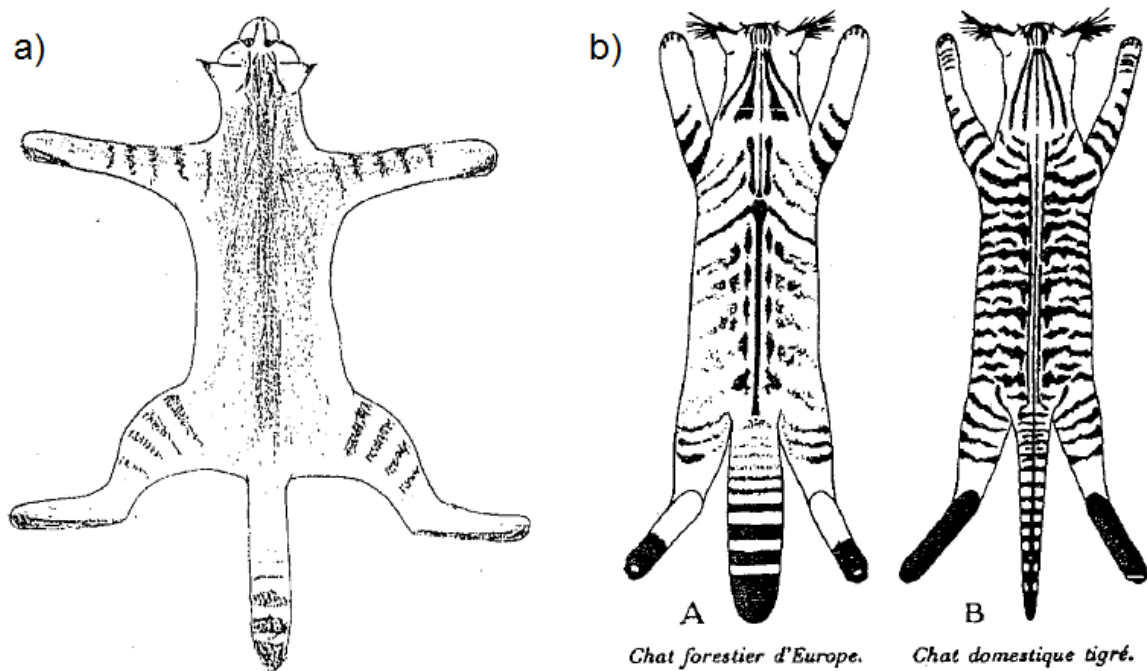


Figure 3 : Caractéristiques du pelage -a) du Chat forestier de Corse (Source : Croquis Salotti (M.) dans Salotti 1992), -b) du Chat forestier d'Europe (A) et du Chat domestique tigré (B) (Source : Croquis Poivre (C) dans Stahl & Léger 1992). Les proportions entre les figures a) et b) ne sont pas respectées.

distinction entre « u ghjattu volpe » et « u ghjattu insalvaticu » (« le chat ensauvagé ») qui désigne le Chat haret (Salotti 1992a). A l'occasion de leur participation à la rédaction de l'Atlas Régional des Mammifères de Corse, Salotti et Arrighi (1984) lancent une enquête afin de recueillir un maximum d'informations sur le Chat forestier en Corse. Une quinzaine de données sont alors reconnues sur l'ensemble de l'île. En 1986, deux individus sont récupérés et identifiés sur la base de la peau et du squelette comme appartenant à l'espèce *Felis silvestris*, contrairement aux spécimens analysés par Vigne (1988). De par les caractéristiques de leur pelage, Arrighi et Salotti (1988) les apparentent à la sous-espèce africaine *F. s. lybica*, tels que les chats forestiers présents en Sardaigne. Ils reconnaissent alors la présence d'une population de Chats forestiers en Corse. En 1992, M. Salotti dispose de 5 exemplaires de chats forestiers de Corse, provenant de quatre localités éloignées sur l'île : Quenza, Létia, Tallone et Sartène.

2.2). Morphologie et anatomie du « ghjattu volpe »

Suite à ces travaux, M. Salotti présente une description du manteau du Chat forestier en Corse. Le fond de la robe est composé de deux phases de couleur, une gris fauve et une brun fauve, sur lequel sont présents des dessins caractéristiques de ton plus sombre voir noir. Les extrémités des pavillons auriculaires sont brunes, la face ventrale des pattes antérieurs et postérieurs sont noirs, et des raies noires se dessinent sur le front, les joues, les régions occipitale et cervicale, le cou, les pattes postérieures et antérieures. Une raie médiodorsale de coloration plus foncée est présente. Enfin, la queue se termine par trois anneaux noirs bien formés, plus larges dorsalement et par deux ou trois esquisses d'anneaux de moins en moins visibles vers le tronc (Figure 3a). Les poils constituant la couleur de fond sont quadricolores : de base beige roux puis noirs, puis beige doré, puis noir ou gris, ou de base gris clair puis fauve clair, puis brun, puis gris blanc. Le ventre est de couleur fauve ou beige roux. Les extrémités des oreilles peuvent présenter un pinceau de quelques poils (Salotti 1992b). Le pelage du Chat forestier en Corse, tel que décrit par Salotti, diffère de celui du Chat forestier d'Europe et du Chat domestique tigré (Figure 3b), mais est proche de celui du Chat sauvage d'Afrique présent en Sardaigne (Ragni 1981 ; Ragni & Possenti 1996).

Malgré ces découvertes, la position systématique du Chat forestier en Corse reste encore inconnue. Les caractéristiques du pelage ne permettent pas de distinguer avec certitude un Chat sauvage d'Afrique d'un Chat haret tigré du fait de la séparation récente entre ces deux sous-espèces. Le poids et la taille des animaux n'est également pas utilisable car très variables. Les caractéristiques ostéologiques, notamment l'indice crânien, sont encore les

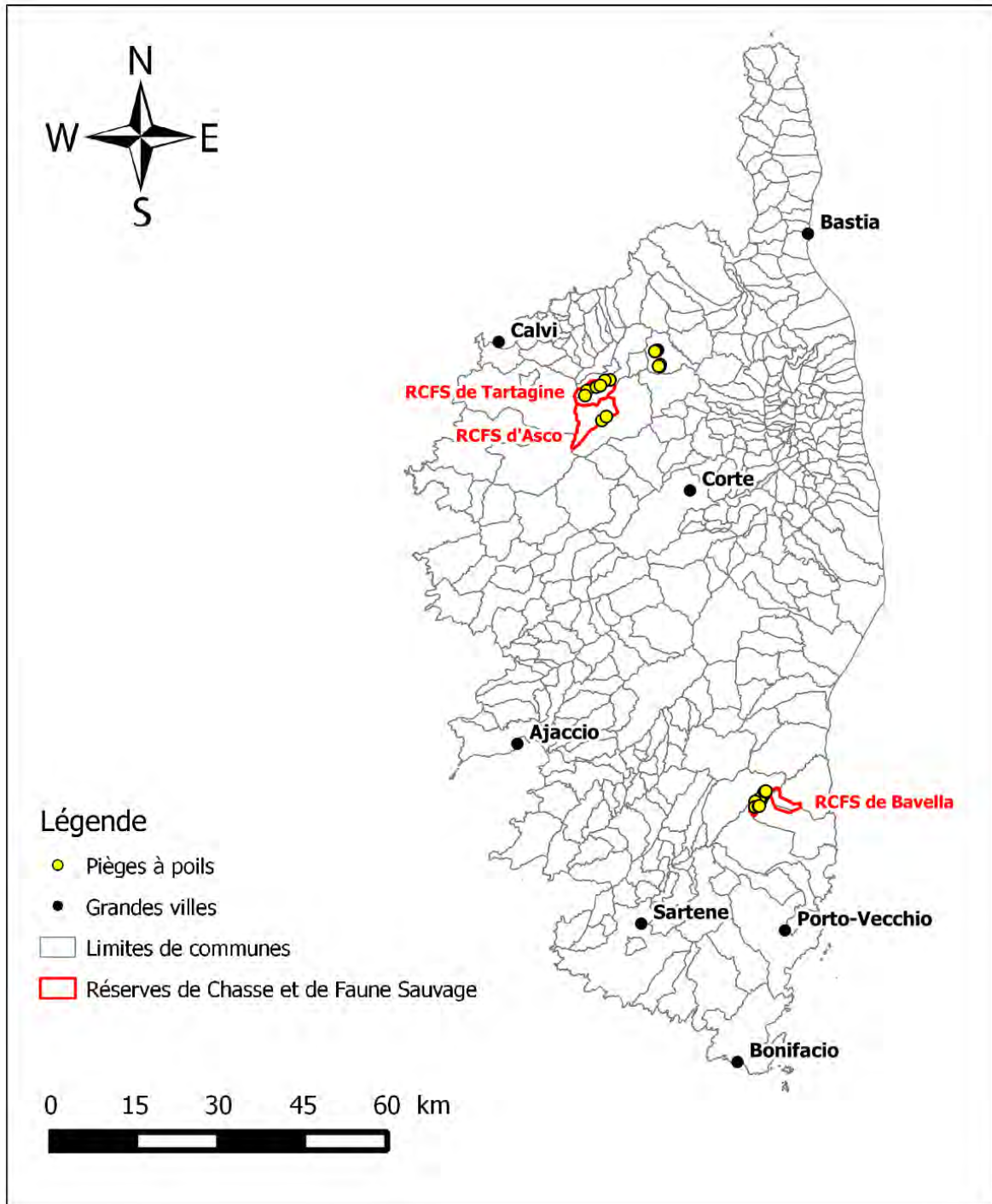


Figure 4 : Carte de la localisation des pièges à poils en 2011 et 2012.

données anatomiques les plus fiables, mais le faible nombre d'échantillons qui a pu être analysé ne permet pas de tirer des conclusions. En l'absence de poursuite d'études et sans analyses génétiques permettant d'examiner le génotype des individus, la question de l'existence ou non d'une population de Chat forestier en Corse reste en suspens.

3). Etudes récentes

Ce n'est qu'en 2008 que la question de la présence du Chat forestier en Corse réapparaît, avec la capture à Olcani (Haute-Corse) d'un animal vivant dit « forestier » par l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS). Des prélèvements issus de ce chat, ainsi que des animaux conservés par M. Salotti lors de ses travaux, ont été analysés génétiquement sur des marqueurs microsatellites (Annexe 3). Ces analyses ont révélé que ces chats présentaient des génotypes particuliers, n'étant ni des Chats forestiers tels que présents en France continentale, ni des chats domestiques de génotype continental (Ruet & Devillard 2009). Les conclusions du rapport d'analyse préconisaient donc de réaliser de nouvelles récoltes de prélèvements afin de tester de nouveaux individus et de préciser le statut spécifique du Chat forestier en Corse. A partir de ces conclusions, l'ONCFS, l'Office de l'Environnement de la Corse (OEC), la DREAL de Corse et l'université Lyon 1 – CNRS ont mis en œuvre un programme de recherche sur le Chat forestier de Corse, ayant pour objectifs de caractériser la présence éventuelle de l'espèce en Corse, et de préciser le cas échéant, à quelle sous-espèce pouvait être rattaché le Chat forestier en Corse. Une méthode de collecte de prélèvements de chats forestiers dite « non-invasive » a été mise en place : la méthode des pièges à poils (Kraft 2008). Cette méthode permet de récupérer des poils de Chats, dont les bulbes contiennent de l'ADN, en vue d'effectuer des analyses génétiques. Ainsi, en 2011 et 2012, 26 pièges à poils ont été installés principalement dans les réserves de chasse et de faune sauvage (RCFS) de Bavella (Corse du sud), de Tartagine (Haute-Corse) et d'Asco (Haute-Corse) (Figure 4). Ces actions ont permis de collecter 26 prélèvements et de réaliser une analyse génétique sur des marqueurs microsatellites. Parmi ces prélèvements, 14 présentaient une quantité et une qualité de matériel biologique satisfaisante pour être analysés. Les résultats ont été obtenus en 2013 et, une fois encore, il a été démontré que les spécimens corses présentaient une spécificité génétique qui les distingue des Chats forestiers et domestiques continentaux (Ruet & Devillard 2013). La campagne de prélèvement a été relancée à la fin du printemps 2013, les échantillons n'ont pas encore été analysés.

IV. Objectifs de l'étude

Suite à ces résultats encourageants et dans la continuité des objectifs fixés par le programme de recherche sur le Chat forestier en Corse, cette étude vise à caractériser la présence du Chat forestier en Corse et à préciser son statut spécifique, en indiquant à quelle sous-espèce il peut être rattaché, tout en le comparant à des Chats domestiques présents en Corse.

L'éventuelle découverte et identification d'une nouvelle sous-espèce en Corse constituent un enjeu environnemental important car elles représentent un intérêt patrimonial évident pour l'île, susceptibles de moduler les plans de gestion des espaces naturels et de la biodiversité.

Partie technique
Quels Felis silvestris en Corse ? Evaluations par des méthodes non invasives.

I. Introduction

L'inventaire des espèces patrimoniales est nécessaire à la description et la préservation de la biodiversité. Pour de telles espèces, les méthodes d'échantillonnage dites invasives comme le piégeage peuvent s'avérer contraignantes (Pigott & Taylor 2003). Les méthodes d'échantillonnage non-invasives dans le but de collecter du matériel génétique (poils, fèces...) sont quant à elles de plus en plus répandues, notamment pour les mammifères, car elles présentent des avantages éthiques, logistiques et scientifiques (Reiners *et al.* 2011). Elles sont particulièrement utiles dans l'étude d'espèces rares, menacées ou cryptiques, pour lesquelles la capture est difficile ou les dommages (physiques ou physiologiques) pouvant être subis sont trop importants (Pigott & Taylor 2003). Ces techniques permettent également de s'affranchir de l'observation directe des animaux et des biais associés, telle que la modification du comportement des individus (Pigott & Taylor 2003 ; Waits & Paetkau 2005 *in* Reiners *et al.* 2011).

En Europe, le suivi des espèces patrimoniales est obligatoire (IUCN). Le Chat forestier fait partie de ces espèces en France, et son suivi est pris en charge par l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage. En Corse, la présence d'un Chat forestier reste à démontrer. Aux vues des avantages cités précédemment les méthodes d'échantillonnages non-invasives répondent parfaitement aux objectifs que notre étude cherche à atteindre. Dans le but de récolter du matériel génétique afin de placer le Chat forestier de Corse dans la phylogénie des petits félidés, la méthode des pièges à poils a été utilisée. Déjà mise en place en 2011, 2012 et 2013, les actions majeures de cette année ont consisté à étendre le plan d'échantillonnage et à créer un réseau d'observateurs, institutionnels ou privés, dans le but de récolter du matériel de base pour les analyses génétiques, des témoignages et des cadavres. Il a également été mis en place un réseau de collecte de prélèvements de Chats domestiques auprès des vétérinaires. L'objectif était de génotyper les Chats dits forestiers de Corse et de les comparer aux autres sous-espèces de *Felis silvestris*, dont le Chat domestique présent en Corse et la sous-espèce *F. s. lybica* présente en Sardaigne, à laquelle ils avaient été rattachés par M. Salotti et J. Arrighi. Des pièges photos ont également été installés à proximité de pièges à poils, afin de « capturer » le phénotype du Chat forestier de Corse.

II. Méthodologie

1). Récolte d'indices de présence du Chat forestier sur le terrain

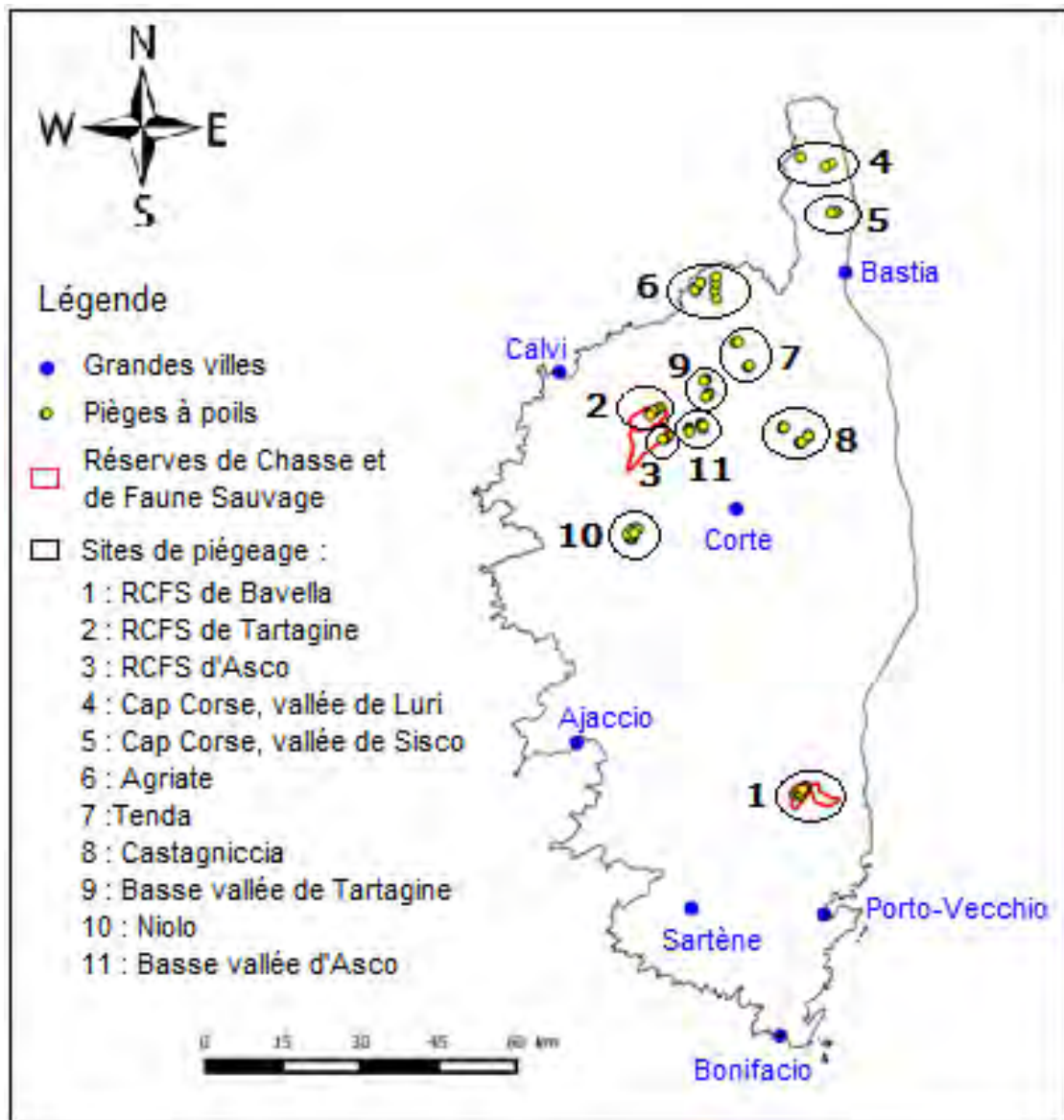


Figure 5 : Localisation des sites de piégeage de poils de Chat forestier de Corse en 2014

1.1). Méthode des pièges à poils

1.1.1). *Description de la méthode*

La méthode des pièges à poils a été adaptée au Chat en Allemagne (Hupe & Simon 2007 *in* Kraft 2008) et mise en place dans différentes études (Kraft 2008 ; Anile *et al.* 2012 ; Hanke & Dickman 2013 ; Steyer *et al.* 2013). Elle permet de récolter des échantillons de poils de Chat de manière non-invasive, c'est-à-dire sans perturbation et sans influence sur le comportement naturel de l'animal. Cette technique a pour but de collecter du matériel de base pour les analyses moléculaires et d'établir la présence du Chat forestier à partir des poils récupérés et analysés génétiquement.

La méthode des pièges à poils se base sur l'attraction des chats par la valériane (*Valeriana officinalis*) (fournie par Versandapotheke meinPharmaversand), en particulier pendant la période du rut. Le piège à poils est composé d'un piquet (litage de 40x40 millimètres (mm)) de 600 à 700 mm de longueur. Le litage présente un évidement à son sommet, permettant d'y loger un tube (60x15 mm) rempli de racine de valériane (Annexe 4). La partie supérieure du piège est rendue rugueuse, afin de favoriser l'accrochage des poils des chats qui se froteront sur le piquet. Lors de l'installation du piège, de la teinture de valériane est vaporisée sur la partie rugueuse pour renforcer l'attractivité.

1.1.2). *Mise en place sur le terrain*

Les pièges à poils sont installés lors de la période de reproduction des Chats forestiers. Au cours de cette campagne 2014, 73 pièges à poils ont été mis en place dans 11 secteurs en Corse (Figure 5). En moyenne, la densité de pièges à poils par site s'élevait à 0.27 ± 0.12 pièges pour 100 hectares. Cette densité entre dans la gamme recommandée par Hupe & Simon (2007) pour déceler la présence de *Felis s. silvestris* dans une zone (entre 0.2 et 0.5 pièges à poils pour 100 hectares). Les sites d'installation des pièges à poils ont été déterminés en fonction des observations soupçonnées de Chats forestiers et des lieux préférentiellement fréquentés par ces animaux (Kraft 2008). Ceux-ci peuvent être des coulées de gibiers, des lisières à l'intérieur ou au bord de forêts, des clairières à l'intérieur de forêts, des zones à proximité des cours d'eau ou d'abris (souches, rochers...). Une fois l'emplacement des pièges déterminé, ils sont enfoncés d'environ 10 cm dans le sol, en veillant à ce qu'ils ne soient pas exposés en plein soleil car les rayonnements ultraviolets risquent de dégrader l'ADN des poils (Müller *et al.* 2007 *in* Kraft 2008). La position GPS de chaque piège est enregistrée et un numéro lui est attribué.

Tableau II : Caractérisation du piégeage par site.

Site	Nombre de pièges au maximum	Surface de prospection (ha)	Densité de pièges (pour 100 ha)	Nombre de nuits d'activité des pièges (moyenne \pm écart-type)
RCFS de Bavella	11	2006.2	0.55	84 \pm 28
RCFS de Tartagine	7	2080.8	0.34	135 \pm 39
RCFS d'Asco	3	1587.8	0.19	63 \pm 0
Cap Corse Vallée de Luri	3	2564.5	0.12	72 \pm 0
Cap Corse Vallée de Sisco	3	1463.3	0.21	72 \pm 0
Agriate	11	4300.9	0.26	116 \pm 26
Tenda	4	2511	0.16	82 \pm 0
Castagniccia	9	3254.3	0.28	116 \pm 2
Basse vallée de Tartagine	6	2506.1	0.24	83 \pm 0
Niolo	8	2420.6	0.33	105 \pm 0
Basse vallée d'Asco	8	2539.3	0.32	63 \pm 26
Total	73	272.35	/	/
En moyenne \pm écart-type	/	2475.89 \pm 783.86	0.27 \pm 0.12	92 \pm 25

1.1.3). *Contrôle des pièges à poils*

Les pièges sont contrôlés tous les 10 jours, au maximum tous les 14 jours. Les poils n'étant pas toujours très visibles, le meilleur moyen d'inspecter le piège est d'en haut ou à contre-jour le long des côtés du liteau. Si le piège présente des poils, ceux-ci sont récupérés à l'aide d'une pince à épiler et placés dans un tube rempli d'éthanol ou dans une enveloppe hermétique. Le piège est ensuite décontaminé à l'aide d'une brosse métallique et ré-imprégné de teinture de valériane. Même si le piège ne présente pas de poils, il est systématiquement aspergé de teinture de valériane lors de chaque contrôle. Les échantillons récupérés sont conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité pour éviter toute dégradation du matériel génétique.

Pour chaque site, un ou plusieurs correspondants de terrain ont été sollicités afin d'assurer la récolte des poils (Annexe 5).

1.2). Sites d'étude

Les **11 sites** d'étude sont répartis sur 19 communes en Haute-Corse et en Corse du Sud (Annexe 6). Les sites de la Réserve de Chasse et de Faune Sauvage (RCFS) de Bavella, de la RCFS de Tartagine, de la RCFS d'Asco, de la basse vallée de Tartagine et de la basse vallée d'Asco avaient déjà été piégés lors des campagnes de prélèvement précédentes. Les autres sites ont été piégés pour la première fois en 2014.

1.3). Effort de piégeage

Les premiers pièges à poils ont été installés le 19 décembre 2013 et les derniers pièges ont été retirés le 27 mai 2014. Les sites ont été équipés en pièges à poils à des dates différentes en fonction de la disponibilité des correspondants chargés de les mettre en place et de les relever. Pour la même raison, ainsi qu'en fonction du succès des pièges à poils (prélèvement de poils de Chat) et des pièges photos (obtention de photos de Chat), ils ont été retirés à des dates différentes selon les sites. Des pièges à poils ont également été rajoutés à certains sites afin d'y ajouter un piège photo (pièges 52 et 74 dans l'Agriate, piège 72 dans la RCFS de Tartagine et piège 73 dans la RCFS de Bavella), ou parce qu'on a estimé qu'un autre secteur était potentiellement favorable dans un site (piège 51 en Castagniccia). Ainsi, le nombre de pièges actifs au total varie en fonction des mois, avec au maximum **68** pièges actifs simultanément en février et mars (Annexe 7). Le nombre maximum de pièges installés par site est donné en Tableau II. En moyenne, chaque piège à poils a été actif 92 ± 25 nuits (Tableau III).

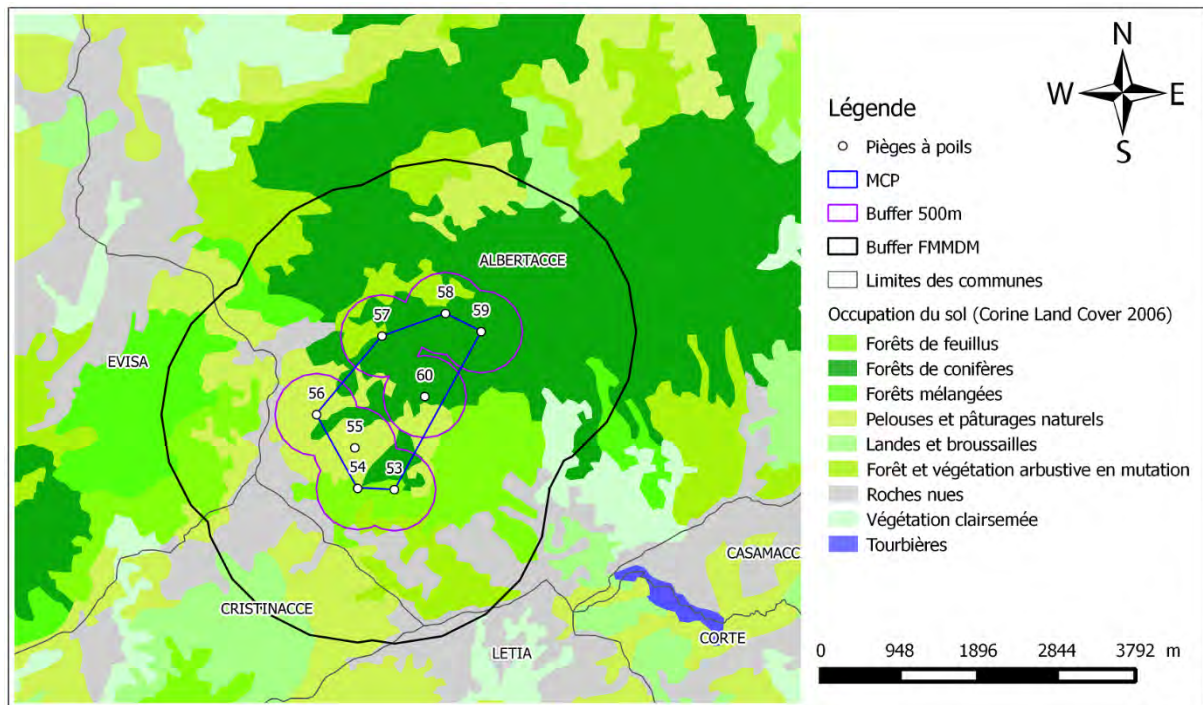


Figure 6 : Site de piégeage du Niolo. Les pièges à poils sont associés à leur numéro. L'occupation du sol est définie par le code Corine Land Cover de 2006. Les buffers de 500 m de rayon autour des pièges à poils, en violet, sont utilisés pour caractériser écologiquement ces derniers. Les buffers ayant pour rayon le « Full Mean Maximimun Distance Moved » (FMMDM) sont représentés en noir. Associés ensemble ils représentent la surface effective d'échantillonnage pour le site. Le « Minimum Convex Polygon » (MCP), en bleu, englobe les pièges à poils.

La surface d'échantillonnage effective a été calculée pour chaque site à partir du « Full Mean Maximum Distance Moved » (FMMDM), qui correspond à l'estimation de la distance maximale moyenne parcourue par un Chat forestier, utilisée dans d'autres études (Anile *et al.* 2012b). Cette distance est estimée à 1870 mètres (m) à partir de la base de chaque piège, ce qui équivaut à une zone (buffer) de 10.99 km² autour de chaque piège (Figure 6, Annexe 8). L'union de ces buffers pour un site correspond alors à la surface d'échantillonnage effective. (Anile *et al.* 2012b). Dans notre étude, celle-ci est d'en moyenne 2475.89 ± 783.86 ha (Tableau III).

1.4). Caractérisation écologique des sites

Les pièges à poils ont été installés à des altitudes allant de 129 m à 1377.88 m (en moyenne 682.38 ± 324.77) (Annexe 9). Chaque site a été caractérisé en termes d'occupation du sol à partir de la base Corine Land Cover de 2006. Le pourcentage de recouvrement de la végétation pour chaque surface d'échantillonnage effective par site a été calculé et est donné en Annexe 9.

2). **Autres mesures mises en place**

2.1). Installation de pièges photos

La mise en place de pièges photos à proximité des pièges à poils permettra une première indication quant à la présence du Chat forestier, dans l'attente des analyses génétiques. Si ces animaux sont effectivement rattachés à une sous-espèce de *Felis silvestris* sauvage, les photos permettront d'établir le phénotype du Chat forestier de Corse.

Les pièges photos ont été installés à proximité d'un piège ayant présenté des poils, au cours de cette campagne de prélèvement ou des campagnes antérieures. Les pièges photos enregistrent une photo à chaque mouvement détecté, avec un délai différent entre les deux types de pièges photos dont nous disposons. Le premier modèle est le Reconyx Hyperfire HC500 à détection infrarouge, qui fournit des photos en couleur de jour et monochrome de nuit. Il a été programmé pour prendre deux photos par seconde. Le deuxième type est le Cuddeback Attack, qui fournit des photos en couleur de jour et de nuit grâce à un flash. Il a été réglé pour prendre une photo toutes les 5 secondes (délai minimum). Les pièges photos sont fixés à un arbre à hauteur du piège à poils, à environ deux à trois mètres de distance de celui-ci (Annexe 4). Lors du contrôle du piège photos, les photos prises sont visionnées et enregistrées sur un ordinateur portable. La répartition des pièges photos et leur durée d'activité sont données en Tableau III.

Tableau III : Répartition des pièges photos et durée d'activité par piège à poil.

Numéro du piège à poils	Site	Date de pose	Date de retrait	Nombre de nuits d'activité
1	RCFS de Bavella	17/02/2014	10/04/2014	52
9	RCFS de Bavella	10/04/2014	15/05/2014	35
73	RCFS de Bavella	04/05/2014	15/05/2014	11
14	RCFS de Tartagine	14/02/2014	18/05/2014	93
72	RCFS de Tartagine	01/04/2014	18/05/2014	47
19	Cap Corse, vallée de Luri	01/03/2014	02/04/2014	32
52	Agriate	20/02/2014	27/05/2014	96
74	Agriate	16/04/2014	27/05/2014	41
32	Tenda	20/02/2014	25/03/2014	33
42	Castagniccia	06/02/2014	21/02/2014	15
36	Castagniccia	11/03/2014	27/05/2014	77
43	Castagniccia	15/04/2014	27/05/2014	42
46	Basse vallée de Tartagine	13/02/2014	14/04/2014	60
53	Niolo	10/03/2014	13/05/2014	64
56	Niolo	28/03/2014	13/05/2014	46
63	Basse vallée d'Asco	21/03/2014	16/05/2014	56

2.2). Récolte de cadavres

Tout cadavre de Chat pouvant correspondre à un Chat forestier de Corse a été récupéré. Selon leur état de conservation, les cadavres de Chats peuvent fournir des informations essentielles. Outre le matériel génétique disponible en quantité et en qualité (bulbes des poils protégés car fixés sur le corps, chair etc...), ils permettent d'accéder aux mesures biométriques des individus et au phénotype, ainsi qu'à la mesure des différents indices explicités dans la première partie du rapport (indices crânien et intestinal de Schauenberg).

3). **Analyse du succès de la méthode de piégeage**

Afin de caractériser le succès des pièges à poils, la proportion de pièges à poils avec au moins un prélèvement de Chat par site a été calculée. Les caractéristiques environnementales des sites les plus favorables sont détaillées. Le pourcentage de recouvrement pour le site sera déterminé avec le logiciel QGIS, en regroupant les catégories, issues de Corine Land Cover de 2006, « forêt de feuillus », « forêt de conifères », « forêt mixtes » et « forêt et végétation arbustive en mutation » sous le terme de « forêts » et les catégories « prairies », « pelouses et pâturages naturels », « landes et broussailles » et « végétation clairsemée » sous le terme de « zone ouverte ». Les cultures et autres parcelles agricoles ne sont pas prises en compte dans la dénomination des zones ouvertes. Ce pourcentage de recouvrement sera également donné pour chaque buffer de 500m autour des pièges concernés. La distance du piège à la route principale la plus proche, c'est-à-dire prenant en compte les catégories « route à 1 voie », « route à 2 voies », « quasi-autoroute » et « bretelle » issues de la BD Topo (Référence), a été calculée. De la même manière, la distance du piège au cours d'eau le plus proche a été calculée.

Le phénotype des Chats photographiés sera analysé et comparé au phénotype du Chat forestier de Corse tel que décrit par M. Salotti (1992).

III. Récolte d'échantillons de Chats domestiques

1). **Objectifs**

Les premières analyses génétiques de spécimens de Chats « forestiers » de Corse avaient révélé que ces individus ne pouvaient être rattachés ni au Chat forestier d'Europe, ni au Chat domestique de génotype continental. Afin de certifier que ces chats ne sont pas de génotype domestique, il est nécessaire de constituer une population de référence domestique corse. C'est pourquoi une campagne de récolte de poils de Chats domestiques a été menée.

2). **Mise en œuvre**

Les animaux ciblés sont les Chats domestiques tigrés ou *a priori* domestiques (pour les chats errants ou chats trouvés morts) d'origine Corse. Quatre vétérinaires de localités éloignées (Annexe 10) ont été sollicités afin de récolter des échantillons de poils. Le type de chat recherché, ainsi que la méthode d'arrachage des poils leur ont été transmis. Cette dernière est la suivante : arracher, avec des gants, plus de 20 poils de chat avec bulbes.

Le personnel de la cellule technique et du service départemental de l'ONCFS en Corse a également été sollicité, ainsi que des particuliers.

3). **Analyse génétique des échantillons**

3.1). Objectifs et marqueurs utilisés

L'objectif des analyses génétiques est de placer le Chat forestier de Corse dans la phylogénie des petits félidés. Contrairement aux analyses génétiques précédemment effectuées sur les échantillons de Chat forestier de Corse, il a été décidé de travailler sur des SNP (Single Nucleotid Polymorphism) mitochondriaux. Ceux-ci sont plus pertinents que les marqueurs microsatellites pour l'échelle de temps et d'espace à laquelle on se place. En effet, compte-tenu du taux de mutation par génération élevé des microsatellites, ils sont plutôt utilisés à l'échelle des populations ou des individus. Notre objectif étant de placer le Chat forestier de Corse dans la phylogénie des petits félidés, il nous faut travailler sur des marqueurs à faible taux de mutation par génération. C'est le cas de l'ADN mitochondrial qui subit une pression de sélection forte.

3.2). Méthode

3.2.1). *Tri des prélèvements*

Dans un premier temps, les prélèvements ont été triés et classés en différentes catégories après une simple analyse visuelle des poils. La catégorie « Très probablement Chat » correspond aux échantillons dont on est certain que les poils proviennent de carnivore, et très certainement de Chat (domestique ou sauvage). Ceux-ci sont faciles à reconnaître, d'une part car les poils de chats domestiques issus des vétérinaires peuvent être pris comme

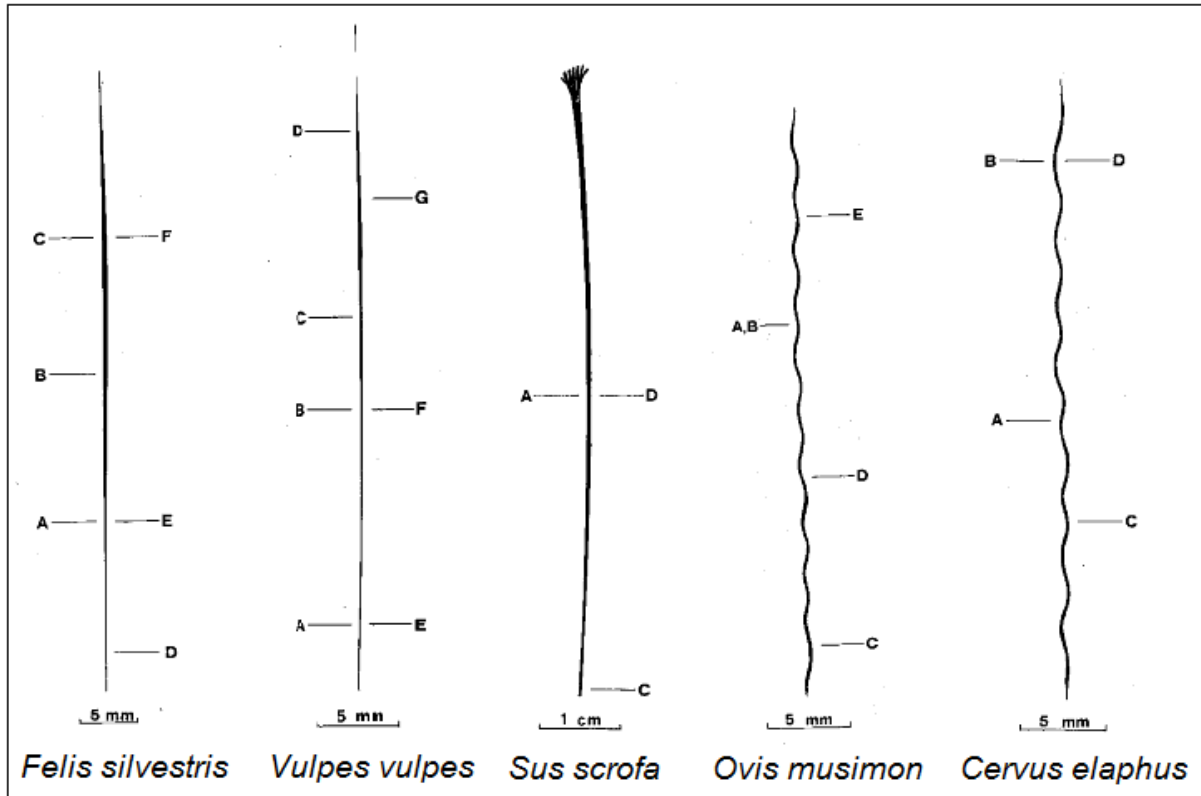


Figure 7 : Schéma des poils de Chat (*Felis silvestris*) et d'autres mammifères sauvages présents en Corse et susceptibles d'avoir laissés des poils sur les pièges : le Renard (*Vulpes vulpes*), le Sanglier (*Sus scrofa*), le Mouflon (*Ovis gmelini musimon*) et le Cerf élaphe (*Cervus elaphus*). Les poils de Belette (*Mustela nivalis*), autre carnivore sauvage présent en Corse, auraient également pu être confondus aux poils de Chat.

référence, d'autre part car ce sont des poils fins et « droits » pour les poils de jarre, comme pour tout carnivore. De plus, si les individus sont tigrés, le poil présente au moins quatre phases de couleurs (poil type « agouti »). La deuxième catégorie, « Potentiellement Chat », fait référence à des poils de carnivores ou qui y ressemblent, et qui potentiellement pourraient correspondre à des poils de Chat. La troisième catégorie est la catégorie « Douteux ». Les poils ne sont à première vue pas des poils de carnivores mais le doute persiste du fait de la finesse des poils par exemple. Enfin la dernière catégorie est « Non carnivore ». Celle-ci correspond typiquement à des échantillons présentant des soies de Sanglier très reconnaissables ou des fibres textiles (Figure 7).

3.2.2). Préparation à l'extraction de l'ADN

Seuls les échantillons correspondant à la catégorie « Non carnivore » n'ont pas été traités. Si les poils étaient conservés dans l'éthanol, ils sont dans un premier temps séchés dans du papier buvard. Ensuite, les bulbes racinaires, qui contiennent l'ADN, sont séparés du reste des poils. Pour se faire, le poil est coupé à environ 2 mm du bulbe au-dessus d'un tube eppendorf 1,5 ml. Il est important que les bulbes soient contenus au fond des tubes afin qu'ils puissent être en contact avec les produits d'extraction par la suite. Afin de faciliter la mise au fond des tubes des bulbes, quelques gouttes d'éthanol 96% y sont déposées, et les bulbes y sont glissés à l'aide d'une pince fine. Lorsque la quantité de poils le permettait, un maximum de 25 à 30 bulbes racinaires ont été coupés par échantillon.

3.2.3). Extraction de l'ADN

Dans un premier temps, l'éthanol contenu dans les échantillons est évaporé (à l'air libre ou au four à 60°C pendant 2h). Le kit d'extraction utilisé est le TaqMan Samples-to-SNP (fourni par Life Technologies). La première étape de l'extraction de l'ADN est la lyse des cellules. Après avoir été brièvement agitée, 50 µl de solution lyse (fournie dans le kit, à stocker dans la glace pendant utilisation) sont ajoutés dans chaque tube eppendorf 1,5 ml. La solution lyse est mélangée à l'échantillon à l'aide de la micropipette. Les tubes sont ensuite centrifugés brièvement. Les échantillons sont incubés 10 minutes à 75°C et 4 minutes à 95°C (protocole du fabricant modifié par Nussberger 2013). Ils sont laissés à refroidir à température ambiante 30 secondes avant de commencer l'étape de stabilisation de l'ADN. Après avoir été agitée, 50 µl de solution stabilisante (fournie dans le kit, à stocker dans la glace pendant utilisation) sont ajoutés à chaque échantillon et mélangés à l'aide d'une micropipette. Les tubes sont ensuite centrifugés brièvement et stockés à -20°C (en cas de stockage de longue durée).

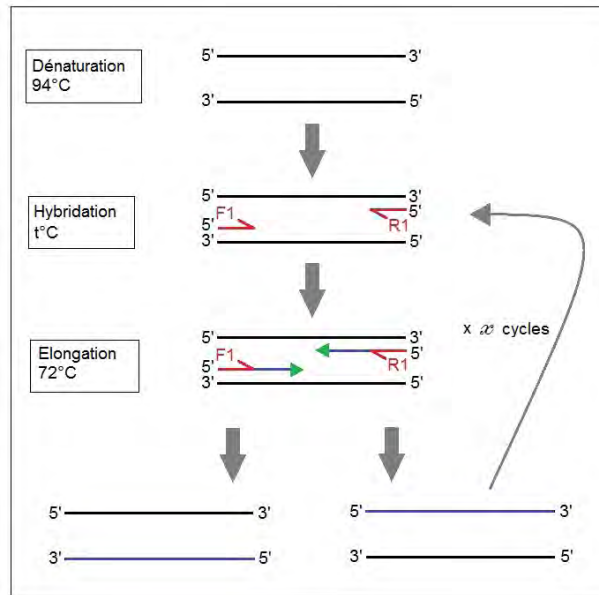


Figure 8 : Principe de la PCR (Réaction de polymérisation en chaîne). Les amorces sont schématisées en rouge. F1 est l'amorce « forward » et R1 l'amorce « reverse » du fragment 1 à amplifier. La Taq polymérase est schématisée par un triangle vert et synthétise de 5' vers 3'. La quantité d'ADN est doublée à chaque cycle.

Tableau IV : Caractéristiques des amorces utilisées pour l'étude. Les amorces F1 à F10 et Lf15926 et Lf4 sont des amorces « forward ». Les amorces R1 à R10 et DLH et Hf3 sont des amorces « reverse ».

Nom de l'amorce	Séquence	Longueur du produit de PCR (bp)	Longueur de l'amorce
F1	GAACGTGCTAATTCATGCCTCCACG	265	24
F2	CGCCTTCATCATCAGCATAATCCCA	319	25
F4	AGCAGATGCAAACACTGCCGC	250	21
F5	GCAGCCACAGGTAAATCCGCC	358	22
F6	GCCAACTGGGCCTAATAATTGTAACCA	284	27
F7	ACCAACGCCTGAGCCCTACT	283	20
F9	CAGCCGGTGACAACCACTAATCA	263	23
F10	CCAGCCACAATTAACCAAACCCACC	303	26
Lf15926	ATATAAAATACTTTGGTCTTGTAACC	315	27
Lf4	GACATAATAGTGCTTAATCGTGC	202	23
R1	TGGGATTATGCTGATGATGAAGGCGT	265	26
R2	TCCTACTCCCTCTCAGCCGATG	319	22
R4	GGAGACAGGAGTTGGGCCCTTCT	250	22
R5	TGGCTTTGAAGAATGCGTGTGTGC	358	24
R6	CGACGTGTTGGCTGTCTCGATG	284	22
R7	AGCCTGCGATAGTCACGGCA	283	20
R9	ACGGCTATGGCTACTGAGCCT	263	21
R10	GGCAGACTCCTAGAAGGGAGCCG	303	23
DLH	CCTGAAGTAAGAACCAGATG	315	20
Hf3	GGGTGTATAATACCCCTGGGGTGAGT	202	29
	TG		

3.3). PCR (« Polymerase Chain Reaction » ou Réaction de Polymérisation en Chaîne)

3.3.1). *Principe*

La PCR permet d'amplifier un ou plusieurs fragments d'ADN choisis. Pour se faire, des amorces (qui correspondent à de courtes séquences d'ADN) sont utilisées afin de s'hybrider à des sites complémentaires d'ADN afin d'encadrer la région de l'ADN à amplifier. L'élongation des brins complémentaires à partir des amorces est ensuite réalisée par une enzyme polymérase. Ainsi, à la fin de la phase d'élongation, la quantité d'ADN est doublée. Plusieurs cycles de PCR sont ainsi effectués afin d'obtenir un grand nombre de segments amplifiés (Figure 8).

3.3.2). *Gènes ciblés et amorces utilisées*

Les séquences visées sont situés sur les gènes ND5 (sous unité 5 de la NADH Déshydrogénase), ND6 (sous unité 6 de la NADH Déshydrogénase), Cyt-b (Cytochrome b) et D-loop (région de contrôle). Les amorces utilisées ont été définies par Driscoll *et al.* 2011, Eckert *et al.* 2009, Nussberger 2013 et Ponta (n. d.), et sont présentées en tableau IV. L'annexe 11 situe la position des amorces et des fragments à amplifier.

3.3.3). *Mise au point du protocole de PCR*

Le kit PCR utilisé est le QIAGEN Multiplex PCR kit. La quantité de bulbes de poils disponible pour chaque échantillon étant variable, et étant donné la rareté de ces échantillons, des essais d'ajustement du protocole de PCR ont été réalisés au préalable. L'objectif était notamment d'ajuster la quantité d'amorces et la quantité d'extrait d'ADN à utiliser. Une PCR préliminaire a ainsi été effectuée sur 4 échantillons d'individus de *Felis silvestris*, récoltés en France continentale sur des cadavres. Pour 2 d'entre eux, 5 bulbes de poils ont été extraits, tandis que pour les 2 autres 15 bulbes ont été extraits. Pour chaque échantillon, 4 volumes d'ADN extrait ont été testés : 5 µl, 10 µl, 15 µl et 20 µl. Pour la suite, le protocole standard du kit QIAGEN Multiplex PCR a été suivi (Annexe 12).

3.3.4). *Protocole de PCR utilisé*

Le protocole de PCR utilisé est le suivant. Le mix d'amorces a été élaboré de manière à avoir par échantillon 0.2 µl de chaque amorce (diluée de 100 µM à 50 µM avec de l'eau ultra-pure) complété à 5 µl avec de l'eau ultra-pure. Ensuite, le mix de réaction a été préparé de façon à ce que chaque échantillon soit composé de 25 µl de « QIAGEN multiplex PCR Master mix », de 5 µl de mix d'amorces et de 15 µl d'eau ultra-pure. 45 µl de mix de réaction

Tableau V : Les différentes étapes des PCR effectuées. Ces opérations ont été programmées pour 45 cycles de PCR et réalisées par un thermocycleur. Une fois la PCR terminée et en attente d'être retirés, les échantillons sont conservés à une température de 10°C dans le thermocycleur.

Opération	Température	Durée
Activation initiale	94°C	15 minutes
Dénaturation	94°C	30 secondes
Hybridation	59°C	90 secondes
Elongation	72°C	30 secondes
Elongation finale	72°C	10 minutes

est ensuite déposé dans des microtubes de barrette de PCR, auquel on ajoute 5 µl d'extrait d'ADN. Un « blanc de PCR » est également préparé en ajoutant 5 µl d'eau ultra-pure au mix de réaction. La solution est mélangée avec une micropipette puis centrifugée brièvement.

La PCR est ensuite réalisée dans un thermocycleur, dont les étapes sont données en Tableau V, d'après Nusseberger 2013. Pour contrôler le succès de la PCR, les échantillons sont visualisés sur un gel d'agarose à 3%. Pour se faire, 3 grammes d'agarose sont dissous par chauffage (micro-ondes) dans 100 ml de tampon de migration TBE 0,5x. L'agarose est totalement dissous lorsque le gel est transparent. 10 µl de GelRed, qui est un colorant fluorescent pour acides nucléiques, sont ajoutés à la solution qu'on agite afin de répartir le GelRed avec homogénéité. Le gel est ensuite coulé dans une cuve. Si des bulles se forment, elles sont écartées sur les bords du gel afin qu'elles ne gênent pas la migration. Un peigne est déposé sur le gel afin de former les puits qui permettront de charger les produits de PCR (c'est-à-dire l'ADN). Une fois le gel pris, on retire le peigne et on le dépose dans une cuve pour la migration, où il est recouvert de tampon de migration TBE 0.5x.

Les produits de PCR sont ensuite préparés avant d'être chargés dans le gel, ainsi que des marqueurs de taille « 1 kb » et « 100 bp » (Annexe 13) afin d'identifier la taille des fragments qui auront migré. Pour se faire, on dépose une goutte de 4 µl de bleu dilué (1 µl de bleu pour 3 µl d'eau) par échantillon et par marqueur de taille sur une feuille de paraffine. On y ajoute ensuite 2 µl de produit de PCR qu'on mélange avec la micropipette. Pour les marqueurs de taille, on n'ajoute qu'1 µl au bleu dilué

Séquençage

Le séquençage des produits de PCR a été réalisé par la société DTAMB Biofidal avec le séquenceur ABI 3730XL (<http://dtamb.univ-lyon1.fr/spip/spip.php?rubrique35>). La méthode utilisée est la méthode de Sanger avec fluorochromes. La réaction de séquence est réalisée par PCR et les fragments synthétisés sont séparés par électrophorèse. Un fluorogramme est ensuite obtenu et un logiciel permet de faire la correspondance entre les courbes de fluorescence et le nucléotide incorporé.

3.4). Analyses

3.4.1). *Tri et nettoyage des séquences*

Après le séquençage, un fluorogramme de chaque séquence amplifiée par couple d'amorces est obtenu pour chaque échantillon. La première étape du traitement des séquences est un « nettoyage » de celles-ci. Cette étape est réalisée via le logiciel MEGA6 (Tamura *et al.* 2013). Il permet dans un premier temps d'estimer si la séquence est exploitable ou non. En

Tableau VI : Répartition des prélèvements et des photos de Chat obtenus. Les chats de phénotypes domestique, tigré et forestier sont comptabilisés. Seuls les pièges 14, 52, 36, 42, 43, 56 et 63 présentaient un piège photos à proximité au moins durant une partie de la campagne de prélèvement. Pour les pièges 56 et 63, 2 photos sont associés à un seul prélèvement (2 passages de Chat avant récupération des échantillons).

Numéro du piège à poils	Site	Nombre de prélèvements de poils de Chat	Nombre d'épisodes de photographie de Chat	Nombre de prélèvements associés aux photos
14	RCFS de Tartagine	0	1	0
17	Cap Corse, vallée de Luri	1	0	0
28	Agriate	1	0	0
52	Agriate	0	1	0
36	Castagniccia	2	1	0
39	Castagniccia	1	0	0
40	Castagniccia	1	0	0
41	Castagniccia	1	0	0
42	Castagniccia	0	3	0
43	Castagniccia	1	0	0
51	Castagniccia	2	0	0
48	Basse vallée de Tartagine	1	0	0
56	Niolo	3	3	2
57	Niolo	1	0	0
63	Basse vallée d'Asco	2	2	1

effet, lorsque pour un grand nombre de nucléotides plusieurs pics de couleurs sont obtenus (une couleur correspondant à une base A, T, G ou C), la séquence n'est pas lisible (Annexe 14). Si quelques nucléotides sont concernés par ce cas, la séquence peut s'avérer utilisable. Les séquences peuvent également être corrigées manuellement grâce à un code de lettres (Annexe 15). Enfin, ce logiciel permet de supprimer le début et/ou la fin des séquences si ceux-ci sont inexploitable.

3.4.2). *Alignement des séquences*

Une fois les séquences retenues « nettoyées », elles peuvent être importées dans un logiciel de visualisation de séquences : Seaview (Gouy *et al.* 2010). Celui-ci permet d'importer des séquences et de les aligner.

Dans un premier temps, des séquences de *Felis silvestris* ssp. ont été téléchargées sur le site du NCBI (National Center for Biotechnology Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Elles sont issues des travaux de Driscoll *et al.* (2011). Une séquence de *F. s. catus* (Felis_catus_NC_001700) a été utilisée comme référence pour aligner toutes les autres. Driscoll *et al.* (2011) ont définis des sites informatifs dans l'ADN mitochondrial des différentes sous-espèces de *Felis silvestris*, qui permettent de différencier le Chat domestique (*F. s. catus*) du Chat forestier (*F. s. silvestris*), du Chat sauvage d'Afrique du Sud (*F. s. cafra*), du Chat sauvage d'Asie (*F. s. ornata*) et du Chat du désert de Chine (*F. s. bieti*) (Annexe 16).

3.4.3). *Construction d'un arbre phylogénétique*

Un arbre phylogénétique a été construit sur la base des séquences obtenues pour les Chats forestiers et domestiques de Corse, et des séquences issues de Driscoll et al. 2011. Il a été construit avec le logiciel Seaview.

IV. Résultats

1). **Evaluation du succès de la méthode utilisée en Corse**

1.1). Résultats obtenus sur les pièges à poils et pièges photos

Au total, **106** échantillons ont été récoltés sur **48** pièges à poils et 25 pièges n'ont jamais présenté de poils. En ce qui concerne le nombre de prélèvements de poils de Chat (après examen des poils et vérification sur gel d'agarose), **17** ont été récupérés sur **12** pièges dans 6 sites : la vallée de Luri (Cap Corse), l'Agriate, la Castagniccia, la basse vallée de Tartagine, la basse vallée d'Asco et le Niolo (Tableau VI, Annexe 17), ce qui représente une proportion de

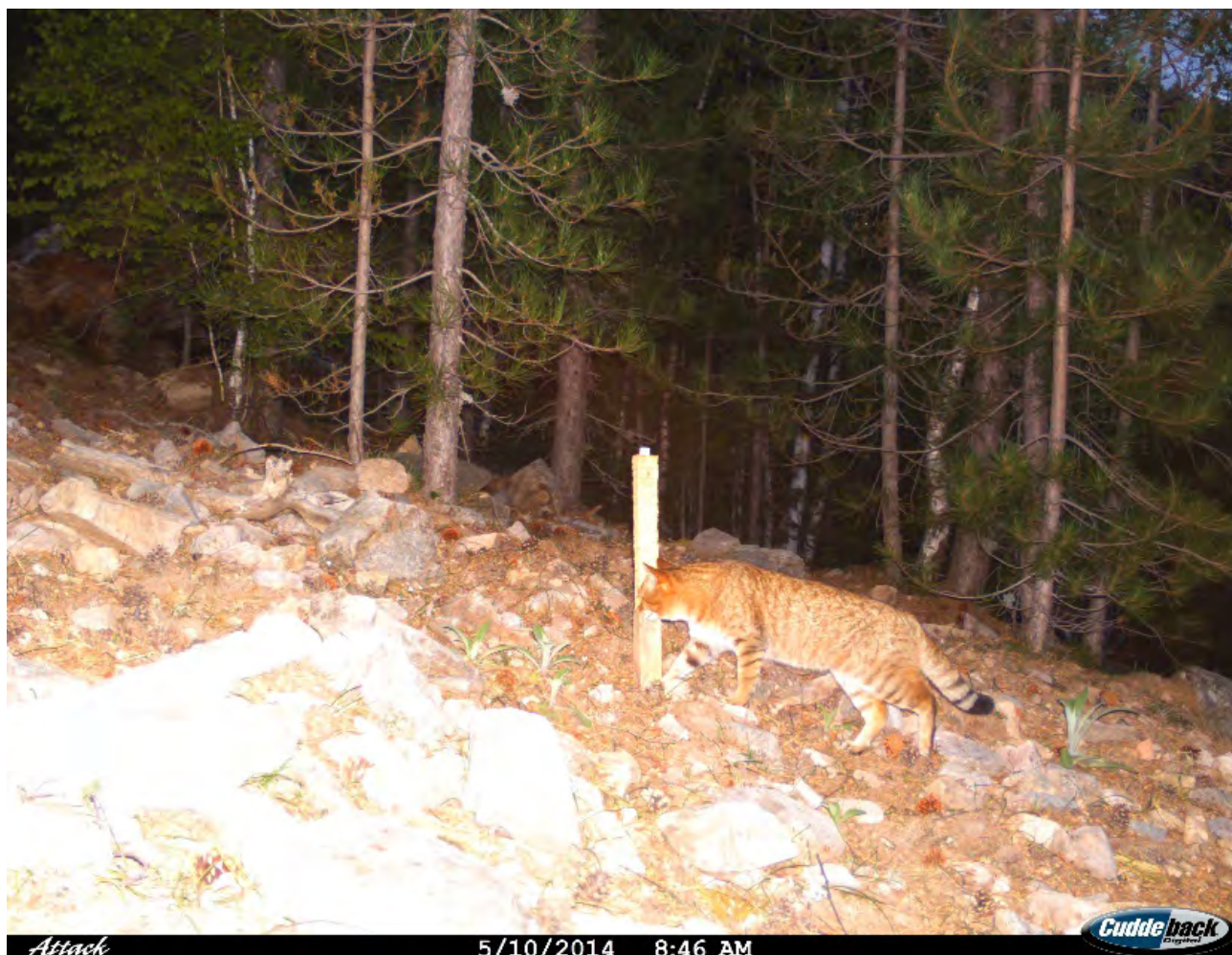


Figure 9 : Photo de Chat au phénotype « forestier » de Corse, obtenue le 10 mai 2014 au piège à poils n°56 (Niolo). Il présente une robe de fond claire avec sur les flans des motifs brun-clair. Des raies noires bien marquées se dessinent sur les pattes. La queue est annelée et terminée par un manchon noir. Enfin, le dessous des pattes postérieures sont noirs.

54.55% de sites positifs en termes de prélèvements de poils de Chat. La proportion de pièges présentant au moins un prélèvement de Chat par site est de 66.67% pour la Castagniccia, 33.33% pour la vallée de Luri, 25% pour le Niolo, 16.67% pour la basse vallée de Tartagine, 12.5% pour la basse vallée d'Asco et 9.09% pour l'Agriate. Cette proportion est nulle dans les 5 autres sites.

La présence d'un piège photo à proximité d'un piège à poils a été variable en fonction de la prise ou non de photos de Chat. Les photos de Chat obtenues ont toujours été prises durant la nuit, ce qui concorde avec l'activité nocturne de cet animal. Au total, 11 épisodes de piégeage de Chat ont été enregistrés (c'est-à-dire le nombre de nuits où des Chats ont été photographiés, sachant qu'il n'y a à chaque fois eu qu'un individu par nuit) sur 5 sites (Tableau VI). Parmi les Chats photographiés, 2 présentent un phénotype domestique (présence de taches blanches) (Annexe 18). 3 autres individus présentent un phénotype tigré sur couleur de fond « foncée » (Annexe 19). Enfin, 6 individus présentent un phénotype de Chat forestier de Corse (Figure 9, Annexe 20), tel que décrit par Salotti (1992, Figure 3). La robe de ce Chat est de couleur de fond fauve à fauve-roux. Les flans présentent des motifs brun-clair, tandis que les pattes antérieures et postérieures arborent des raies noires bien marquées. Le dessous des pattes antérieures et postérieures est entièrement noir. La queue comporte au moins deux anneaux complets et est terminée par un manchon noir. Ce phénotype semble similaire entre ces individus issus de sites différents (3 de ces animaux ont été photographiés dans le site du Niolo au même piège, un a été photographié en Castagniccia, un dans la RCFS de Tartagine et le dernier dans l'Agriate).

Les Chats photographiés n'ont pas systématiquement laissés de poils sur les pièges. Nous avons pu récupérer des échantillons de poils uniquement pour les Chats du Niolo et de la basse vallée d'Asco pris en photos. Ceci nous permet de voir que l'absence de prélèvement de poils sur les pièges à poils ne signifie pas que le secteur n'est pas fréquenté par un ou plusieurs Chats.

Malgré la constance de ce phénotype entre animaux issus de secteurs éloignés, et l'isolement des sites occupés par ces Chats par rapport aux habitations humaines, seuls les résultats des analyses génétiques nous permettront d'associer ces animaux à une sous-espèce sauvage de *Felis silvestris*.

1.2). Caractérisation écologique des sites les plus favorables

Les sites les plus favorables sont définis par la présence d'au moins 2 prélèvements de poils par site, ou par la présence d'au moins une photo de Chat au phénotype forestier de

Tableau VII : Caractérisation des pièges à poils dans le site de la Castagniccia ayant présenté des prélèvements de Chat seuls (pièges 36, 39, 40, 41, 43 et 51) et au un épisode de photographie de Chat au phénotype forestier et un épisode de photographie de Chat tigré (piège 42). Le recouvrement est calculé dans la zone buffer de 500m entourant chaque piège. L'altitude et les distances aux cours d'eau et aux routes principales les plus proches sont calculées à partir du piège.

Numéro du piège	Nature du succès de piégeage	Altitude (m)	Recouvrement (%)		Distance au cours d'eau (m)	Distance à la route principale (m)
			Forêt	Zone ouverte		
Niolo						
56	Prélèvements de poils avec photos	1377.88	15.4	84.09	65.74	627.81
57	Prélèvements de poils seuls	1330.55	98.8	1.19	15	315
Castagniccia						
42	Photos seules	1137.7	70.33	29.67	402.13	181.70
36	Prélèvements de poils seuls	689.63	7.33	92.67	18.47	461.23
39	Prélèvements de poils seuls	1204.5	100	0	144.24	1097.81
40	Prélèvements de poils seuls	1221.42	100	0	127.20	1380.19
41	Prélèvements de poils seuls	1187.1	100	0	222.76	1490.58
43	Prélèvements de poils seuls	1084.2	78.42	21.58	309.44	181.70
51	Prélèvements de poils seuls	1145.35	73.46	26.54	458.90	210.66
RCFS de Tartagine						
14	Photo seule	1046.95	70.56	27.11	54.24	2525.28
Agriate						
28	Prélèvement de poils seuls	131.95	8.13	0	9.39	5012.40
52	Photo seule	143.9	3.97	0	34.47	5099.61
Basse vallée d'Asco						
63	Prélèvement de poils avec photos	531.53	61.18	38.82	24.41	476.61
Basse vallée de Tartagine						
48	Prélèvement de poils seuls	550	24.27	0	130.78	257.95
Vallée de Luri						
17	Prélèvement de poils seuls	129	0	0	116.29	166.89

Corse. Les détails des altitudes, recouvrement et distances aux cours d'eaux et routes principales les plus proches pour les pièges concernés sont donnés en Tableau VII.

Sur le site du Niolo, 1 prélèvement de poils de Chat a été récolté sur le piège 57, 1 prélèvement de poils de Chat a été récolté sur le piège 56 et 2 prélèvements de poils de Chat ainsi que 3 photos ont également été récupérés sur le piège 56. Ce site présente une altitude moyenne de 1264.24 ± 92.43 m. Il est constitué à 64.01% de forêt et à 23.44% de zone ouverte.

Sur le site de la Castagniccia, au moins 1 prélèvement de poils de Chat a été récolté sur 6 pièges sur 9 et 1 piège équipé d'un piège photo (n°42) a présenté une série de photographies d'un Chat au phénotype forestier et d'un Chat au phénotype tigré. Ce site présente une altitude moyenne de 1010.81 ± 233.13 m et est constitué de 70.19% de forêt et de 27.18% de zone ouverte (plus de 2.62% de surfaces agricoles).

Sur le site de la RCFS de Tartagine, 1 photo de Chat au phénotype forestier sans prélèvements de poils associé a été obtenu au piège 14. Ce site présente une altitude moyenne de 971.05 ± 93.85 m et est constitué de 51.64% de forêt et de 40.15% de zone ouverte.

Sur le site de l'Agriate, 1 photo de Chat au phénotype forestier sans prélèvements de poils associés a été obtenue au piège 52 et un prélèvement de poils de Chat a été obtenu au piège 28. Ce site présente une altitude moyenne de 238.99 ± 93.87 m et est constitué de 10.16% de forêt (forêt et végétation arbustive en mutation), de 39.92% de zone ouverte et de 24.27% de végétation sclérophylle, qui correspond pour ce site au maquis. Le pourcentage de recouvrement en végétation sclérophylle pour le piège 28 est de 91.87% et de 96.03% pour le piège 52.

Sur le site de la basse vallée d'Asco, un prélèvement de poils de Chat seul a été récolté sur le piège 63 et par la suite, 2 photos de Chat au phénotype tigré associées à un prélèvement de poils ont été obtenues sur ce même piège. Ce site présente une altitude moyenne de 547.46 ± 52.59 m et est constitué de 11.11% de forêt et de 85.95% de zone ouverte.

Sur le site de la basse vallée de Tartagine, un prélèvement de poils de Chat seul a été obtenu au piège 48. J'ai des doutes quant à la possibilité que ces poils proviennent d'un Chat forestier car ceux-ci étaient blancs, mais je vais quand même détailler les caractéristiques de ce site car lors de l'analyse en microsattellites de 2012/2013 un échantillon avait été classé dans le groupe des Chats forestiers continentaux. Le site est situé à 621 ± 81.13 m d'altitude et est constitué de 25.86% de forêt et 12.62% de zone ouverte.

Ces résultats ne sont uniquement descriptifs et nécessiteraient des analyses plus approfondies afin de dégager ou non des corrélations entre le succès des pièges et les variables environnementales.

2). Récolte d'échantillons de Chats domestiques

Les vétérinaires se sont montrés motivés à participer à notre projet de récolte des prélèvements de poils de Chats domestiques, ce qui nous a permis de récoltés 27 échantillons, auxquels s'ajoutent 7 échantillons recueillis par le personnel de l'ONCFS. Ce sont donc 35 prélèvements de poils de Chats domestiques de Corse qui ont été rassemblés au cours de cette campagne 2014. (Annexe 21).

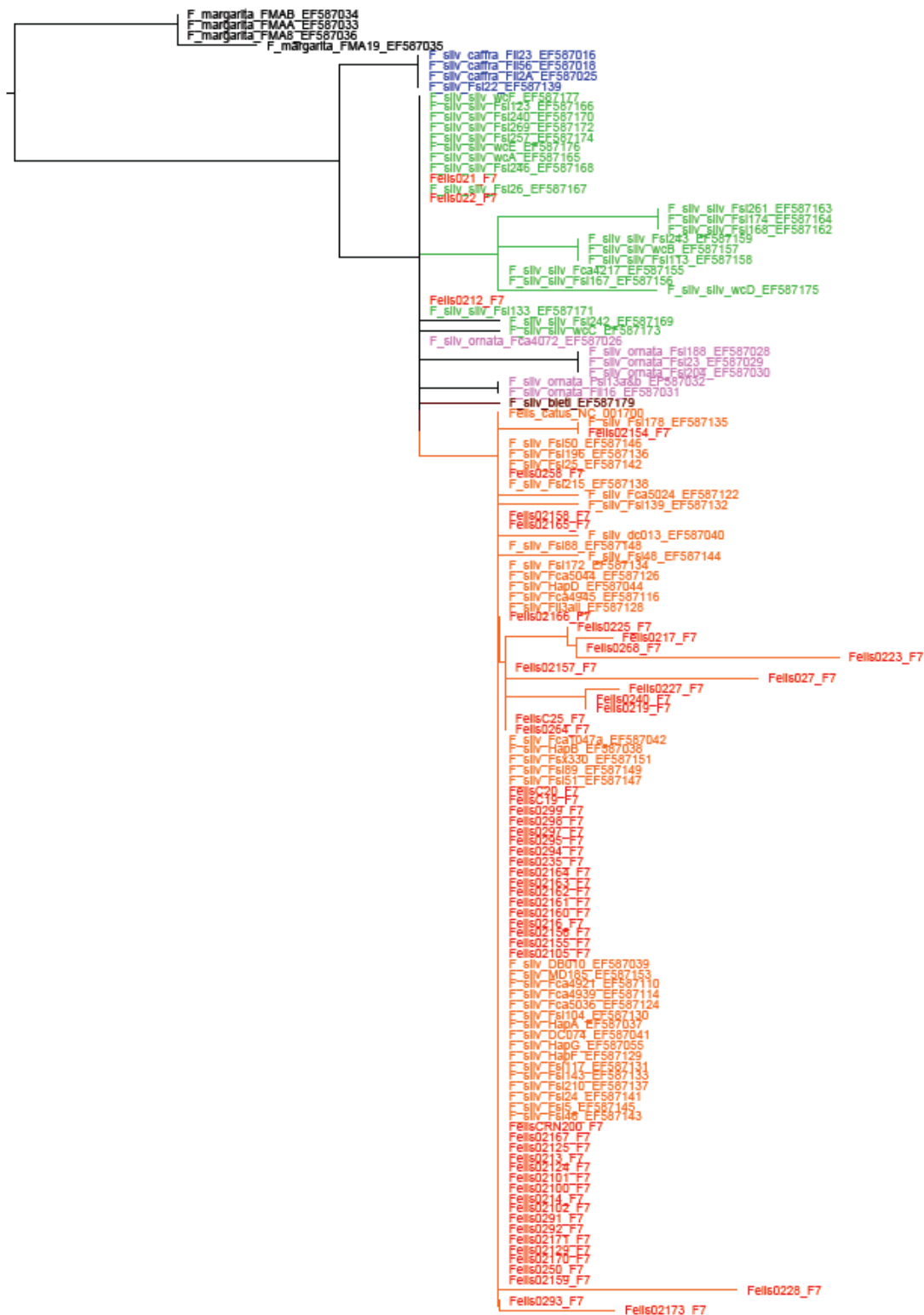
3). Analyses génétiques

Au total, 145 prélèvements de poils ont été récoltés en 2014. 94 échantillons été extraits, dont 7 issus de la campagne de prélèvements de 2013, et présentaient en moyenne 10 ± 7 bulbes. 70 prélèvements de poils récoltés en 2014 ont subis la PCR. Ils ont été sélectionnés par ordre de pertinence (« Chat avec certitude », « potentiellement Chat » et « douteux », les échantillons ne correspondant très certainement pas à du Chat n'ayant pas été extraits). 5 échantillons issus de la campagne de prélèvements de 2013, ainsi que 21 extraits d'ADN analysés sur microsatellites en 2012/2013 et qui se sont révélés appartenir à *Felis silvestris* ont également subis la PCR. Ainsi, la PCR a été réalisée sur un total de 96 échantillons (ce qui correspond à une plaque de PCR pour séquençage ultérieur) (Annexe 22).

3.1). Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose

Les résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose sont donnés en Annexe 23. Contrairement à ce qui était espéré suite aux essais de PCR, seuls 3 échantillons de poils de Chat récupérés sur les pièges à poils sur 17 ont été suffisamment amplifiés pour permettre un séquençage. Par contre, les échantillons provenant de Chats domestiques (n = 34) et des Chats dont les poils ont été récupérés sur des cadavres (n = 4) ont été amplifiés suffisamment, ainsi que 17 des 21 échantillons de poils de Chats analysés en microsatellites en 2012. Les prélèvements qui avaient été qualifiés de douteux (n = 16) n'ont quant à eux pas été amplifiés. Seuls les échantillons ayant été suffisamment amplifiés ont été séquencés.

Pour des contraintes de temps et de nécessité d'ajustement supplémentaire du protocole, afin d'analyser les prélèvements de Chats récoltés sur les pièges à poils en 2014, il a été décidé de ne réaliser le séquençage uniquement sur le couple d'amorces F7 – R7. Lors du séquençage qui avait suivi les PCR d'essais, les séquences amplifiées par ce couple d'amorces étaient de meilleure qualité que celles amplifiées par les autres amorces. C'est pourquoi elles



0.004

Figure 10 : Arbre phylogénétique obtenu suite au traitement des séquences des échantillons de Corse (ADN mt, environ 200-300 pb), intégré aux séquences de *Felis silvestris* extraites de Driscoll et al. 2011. Les individus corses sont notés en rouge. Les couleurs des autres séquences correspondent aux clades définis par Driscoll et al. : *Felis silvestris silvestris* en vert, *Felis silvestris cafra* en bleu, *Felis silvestris ornata* en violet et *Felis silvestris catus* en orange.

ont été choisies dans un premier temps pour illustrer la méthode d'analyse des séquences dans mon rapport de stage.

3.2). Analyse des séquences

Lors de la correction des séquences, 3 séquences présentaient une qualité insuffisante pour être traitées et n'ont donc pas été incorporées à l'analyse. Ainsi, les séquences de 55 échantillons ont été corrigées, alignées et analysées (Annexe 22).

Un SNP intéressant en position 1 493 de notre alignement, issu de Driscoll *et al.* (2011), a été identifié et différencie le Chat domestique (qui possède une Cytosine, C) des autres sous-espèces sauvages de *Felis silvestris* (qui possèdent quant à eux une Tyrosine, T). Deux individus déjà analysés en microsatellites en 2012 possèdent un T à ce SNP, ainsi qu'un troisième où le doute persiste étant donné que celui-ci pourrait posséder un C ou un T à cette position (Y). L'arbre phylogénétique construit à partir de ces séquences et de celles de Driscoll *et al.* (2011) est présenté en Figure 10. Il regroupe les deux individus corses possédant une base T au SNP informatif (021_F7 et 022_F7) avec les individus de *F. s. silvestris*, ainsi que l'individu possédant un Y à cette position (0212_F7). Les autres individus séquencés sont regroupés avec les Chats domestiques.

Suite à l'analyse sur microsatellites de 2012, l'individu 021 possédait une probabilité d'appartenance au groupe des Chats forestiers continentaux de 83%, contre 17% au groupe des hybrides continentaux et 0% au groupe des Chats domestiques continentaux (Ruelle & Devillard 2013). L'individu 022 avait quant à lui une probabilité de 100% d'appartenir au groupe des hybrides continentaux, et l'individu 0212 une probabilité de 97% d'appartenir au groupe des hybrides continentaux contre 3% au groupe des Chats forestiers continentaux.

Les Chats domestiques de Corse quant à eux ont tous été classés au sein du groupe des Chats domestiques. Ils ne présentent aucun détachement avec les autres Chats domestiques, mais encore une fois, la petite taille de séquence analysée ne permet pas de tirer des conclusions définitives.

V. Discussion

1). **Discussion des résultats**

1.1). Succès des pièges à poils et des pièges photos

Les pièges photos ont révélés que l'absence de prélèvements de poils de Chat sur les pièges à poils ne signifiait pas que le secteur n'était pas fréquenté par des Chats. En effet, l'obtention d'une photo de Chat n'est pas systématiquement associée à la récupération d'un

prélèvement (au moins 6 Chats manqués dans cette étude). Plusieurs réactions ont été observées de la part des Chats photographiés : ignorance du piège à poils, reniflement du piège sans frottement contre le piège, frottement bref du flan contre le piège et enfin frottement prononcé. Les Chats ne semblent ainsi pas sensibles de la même manière à la valériane. Plusieurs auteurs (Anile *et al.* 2012a ; Kilshaw & Macdonald 2011) ont noté que certains individus semblaient peu attirés par la valériane, substance contenue dans l'« herbe à chat » (cataire). Certains auteurs supposent que cette variabilité individuelle serait d'ordre génétique (Waller *et al.* 1969 in Anile *et al.* 2012a ; Bradshaw 1992 in Kilshaw & Macdonald 2011) et que les individus seraient ainsi prédisposés ou non à être attirés par la teinture de valériane. D'autre part, il est possible que les Chats aient laissé très peu de poils lorsqu'ils se sont à peine frottés sur les pièges à poils, et que ceux-ci n'aient pas été détectés lors du contrôle des pièges.

Les variables utilisées pour caractériser les sites favorables sont inspirées de Klar *et al.* 2008 qui montrent que la proximité aux forêts, aux écotones avec clairières et cours d'eau, aux routes et aux habitations humaines influencent l'utilisation de l'habitat par le Chat forestier. J'ai essayé de retraduire ces variables avec le code Corine Land Cover 2006 (CLC06), mis à part l'occupation humaine car les données issues du CLC06 ne me paraissaient pas assez précises et représentatives de la réalité sur le terrain. Je n'ai également pas utilisé les données du bâti fournies par la BD Topo (IGN) car je n'ai pas trouvé de catégorie satisfaisante. Les données de l'occupation par la végétation du sol de CLC06 ne sont pas idéales, d'une part car elles datent de 2006 et j'ai pu remarquer que l'occupation du sol pour les pièges à poils 28 et 52 de l'Agriate ne correspondait pas avec ce que j'avais observé sur le terrain. Pour ceux-ci on trouve 0% de zone ouverte dans un rayon de 500m, alors que ceux-ci ont été placés à la lisière de ce que je qualifierai de zone ouverte et de végétation sclérophylle arbustive. L'Agriate a subi certains travaux de réouvertures de pistes ces dernières années (potentiellement après 2006), ce qui pourraient expliquer pourquoi cette modification de végétation n'apparaît pas. Compte tenu de ces observations, les résultats de l'occupation du sol détaillée dans ce rapport pour les sites doivent être nuancés.

Les deux modèles de pièges photos utilisés dans l'étude présentent leurs avantages et leurs inconvénients. Le modèle Cuddeback Attack permet d'obtenir des photos en couleur, ce qui est appréciable pour une analyse précise du phénotype. Cependant, lorsqu'il prend des photos de nuit avec le flash, le piège photos met plus de temps à se recharger (environ 60 sec d'après des tests personnels). Une seule photo de Chat a été obtenue par nuit avec ce modèle de piège. Ceci peut s'expliquer par le fait que le Chat, après avoir vu le flash de l'appareil photos, soit

parti dans un délai qui ne laisse pas le temps au piège photos de prendre un nouveau cliché. Le modèle Reconyx Hyperfire qui permet quant à lui d'obtenir des photos en noir possède un délai d'intervalle entre deux photos très court, ce qui permet d'avoir plusieurs photos du même animal pendant son passage. De plus, étant donné qu'il n'émet pas de flash, l'animal n'est pas effrayé au point de partir. Ceci représente un avantage considérable car il permet d'observer le Chat sous plusieurs angles et parfois d'obtenir une visualisation des caractéristiques diagnostiques des sous-espèces. Le seul inconvénient est qu'il ne nous permet pas d'obtenir la couleur de la robe des individus. Ainsi, un couplage entre ces deux types d'appareils photos permettrait de garder les avantages de chacun.

Au niveau de certains pièges à poils, les pièges photos ont permis de révéler une fréquentation abondante la nuit par certains autres animaux, comme par exemple dans l'Agriate où des vaches étaient photographiés très régulièrement la nuit, ou dans la vallée de Luri où c'était le cas des sangliers. Mais il est peu probable que la fréquentation par d'autres animaux d'un secteur cause un dérangement tel pour le Chat, qu'il le ne fréquenterait plus.

7 sites sur 11 au total se sont montrés positifs pour au moins un prélèvement de poil de Chat ou une photo de Chat au phénotype forestier ou tigré. Ces sites se situent tous en Haute-Corse. En Corse du Sud, seule la RCFS de Bavella est équipée en pièges à poils. Du fait de l'éloignement géographique (la Cellule technique de Corse est située en Haute-Corse), il est plus contraignant de s'y rendre par rapport aux sites de la Haute-Corse. Il faudrait là aussi rechercher des correspondants de terrain pouvant assurer la relève des pièges, afin de nous faire une idée sur la répartition du Chat forestier sur l'ensemble de la Corse, d'autant plus que plusieurs individus issus des travaux de M. Salotti avaient été récupérés en Corse du Sud (Quenza et Sartène par exemple).

1.2). Analyses génétiques

Malgré les essais de PCR effectués pour ajuster le volume d'amorces et le volume d'extrait d'ADN à utiliser, 12 des 15 échantillons qualifiés de « très probablement Chat » récupérés sur les pièges à poils n'ont pas été amplifiés suffisamment pour être séquencés. Ces échantillons comportaient au minimum 5 bulbes, quantité pour laquelle le protocole de PCR a été ajusté. Ces résultats peuvent alors s'expliquer par le fait que les PCR de test ont été effectuées sur des poils de bonne qualité, car prélevés sur des cadavres de Chat où ils n'étaient pas exposés au milieu extérieur. Les ajustements ne seraient donc pas adaptés pour des échantillons plus dégradés. Afin de poursuivre les analyses, des nouveaux ajustements pourraient être envisagés, comme augmenter le volume d'extrait d'ADN à utiliser. Pour ce qui

est des échantillons de poils de Chat qui avaient été analysés en microsatellites en 2012/2013, 17 des 21 échantillons ont été suffisamment amplifiés, alors que la plupart d'entre eux sont également issus de pièges à poils. Je n'explique donc pas ce phénomène de sous amplification.

Pour mon rapport de stage, seules les séquences amplifiées par le couple d'amorces F7-R7 ont été analysées. Un SNP séparant le Chat domestique des autres sous-espèces sauvages a été identifié. Trois Chats ont pu être associés au groupe *Felis silvestris silvestris*, distincts des Chats domestiques de Corse et issus de Driscoll *et al.* 2011. Néanmoins ces résultats sont à prendre avec précaution car obtenus à partir d'une séquence d'environ 200 pb seulement. Il faudra pour la suite réaliser les analyses en utilisant les autres couples d'amorces afin de balayer l'ensemble des gènes ciblés (ND5, ND6, Cyt b et D-loop). De plus, Driscoll *et al.* (2011) ne détaillent pas si ce SNP permet de différencier le Chat domestique du Chat sauvage d'Afrique, étant donné que dans leur étude, ils classent les *Felis silvestris catus* et *Felis silvestris lybica* dans le même clade. Il faudra donc porter une attention particulière à rechercher des SNP en comparant les séquences du Chat forestier de Corse au Chat domestique et au Chat sauvage d'Afrique.

Un des 3 individus associés au groupe des Chats forestiers dans notre étude avait également été classé en Chat forestier dans l'étude sur microsatellites de 2012/2013, avec une probabilité d'appartenance de 83%. Les 2 autres individus avaient quant à eux été classés en hybrides. Étant donné que l'ADN mitochondrial sur lequel nous avons travaillé ne suit que la lignée maternelle des individus, il est envisageable que ces 2 derniers Chats soient des hybrides de mère sauvage, ce qui expliquerait pourquoi ils apparaissent en Chat forestier dans notre analyse. Encore une fois, étant donné les tailles de séquences limitées sur lesquelles nous avons travaillé, et les précautions qui avaient été émises dans le rapport sur les analyses microsatellites de 2012/2013 (Ruelle & Devillard 2013), nous ne pouvons pas conclure sur ces résultats.

2). Limites de la méthode utilisée

Au cours du stage et des différentes manipulations à réaliser, j'ai pu remarquer qu'un certain degré de perte du matériel génétique existait aux différentes étapes de traitement des échantillons, de la récolte des poils aux manipulations génétiques. Tout d'abord, avant même de récupérer les prélèvements, les poils fixés sur le piège peuvent subir les conditions météorologiques tels que le vent et la pluie, qui peuvent les décrocher ainsi que les dégrader. Une exposition prolongée aux rayonnements ultra-violets du soleil peut également altérer le

l'ADN contenu dans les bulbes des poils (Müller *et al.* 2007 *in* Kraft 2008). Ces raisons pourraient expliquer pourquoi les échantillons de poils de Chat issus des pièges à poils n'ont pas été suffisamment amplifiés suite à la PCR, ou que des échantillons de Chat avec certitude n'ont pas été amplifiés du tout (échantillons 02139, 02140 et 02141). En effet, ceux-ci ont été récoltés après 28 jours sans contrôle des pièges à poils. Les pièges à poils concernés étaient désactivés et devaient être retirés du site, mais lorsque la présence de poils a été décelée il a été décidé de récupérer ces derniers malgré tout.

Une seconde source de perte du matériel génétique peut avoir lieu lors du contrôle des pièges à poils. Les poils de Chat étant fins, et ceux des Chats forestiers étant clairs et se confondant avec la couleur du bois du piège, il n'est pas exclu que ceux-ci peuvent ne pas être vus par la personne en charge du relevé. Ceci est d'autant plus vrai si celle-ci n'a pas une bonne vue. Afin de minimiser ce risque, il pourrait être envisagé de fournir une loupe dans chaque kit de prélèvement des poils.

La perte de matériel génétique peut également avoir lieu lors de la coupe des bulbes des poils. Les poils de Chats sont fins, et par conséquent les bulbes coupés sont très légers et peuvent « sauter » en dehors du tube eppendorf lorsque ceux-ci sont coupés. Il est donc nécessaire d'essayer de couper les poils au plus bas du tube eppendorf afin de limiter la perte des bulbes. De plus, les bulbes peuvent également rester fixer aux ciseaux après avoir été coupés. Ainsi, il est important de vérifier si les ciseaux et les pinces utilisées pour manier les bulbes n'en portent pas après que ceux-ci aient été manipulés.

Enfin, une dernière source de perte du matériel génétique a été identifiée lors des manipulations d'extraction d'ADN. En effet, l'ajout des solutions de lyse et de stabilisation de l'ADN peuvent faire remonter les bulbes sur les parois du tube eppendorf, notamment lors du mélange avec la micropipette. Il a été constaté également que la centrifugation suite à l'ajout de ces solutions ne permet pas systématiquement de redescendre les bulbes dans la solution. Il est donc important de vérifier, après ajout et centrifugation d'une solution, notamment de la solution lyse qui est importante pour l'extraction d'ADN, que les bulbes ne soient pas en dehors de la solution et de les y remettre à l'aide d'une pince le cas échéant.

VI. Conclusion

D'une manière générale, le matériel génétique issu des bulbes de poils est de faible qualité (Pigott & Taylor 2003). Les bulbes de poils contiennent peu de matériel génétique en comparaison à un échantillon de tissu frais, d'autant plus que dans notre étude celui-ci est dégradé car conservé en extérieur pendant plusieurs jours. De plus, la méthode des pièges à

poils n'est pas idéale car la proportion de poils avec bulbes n'est jamais grande (Ebert *et al.* 2010 *in* Reiners *et al.* 2011). Il est donc important de porter une attention particulière à récupérer des cadavres de Chats morts, qui peuvent apporter du matériel génétique en quantité et en qualité, ainsi que des données morphologiques et anatomiques.

Si la phylogénie du Chat forestier de Corse l'apparente à une sous-espèce sauvage, il sera nécessaire de rassembler des connaissances sur ses exigences écologiques, afin de pouvoir l'intégrer au mieux aux plans de gestion et de conservation de la biodiversité.

Bibliographie

- Anile, S., Arrabito, C., Mazzamuto, M. V., Scornavacca, D. & Ragni, B.** 2012a. A non-invasive monitoring on European wildcat (*Felis silvestris silvestris* Schreber, 1777) in Sicily using hair trapping and camera trapping : does scented lure work ? *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 1–4.
- Anile, S., Amico, C. & Ragni, B.** 2012b. Population density estimation of the European wildcat (*Felis silvestris silvestris*) in Sicily using camera trapping. *Wildlife Biology in Practice*, **8**, 1–12.
- Arrighi, J. & Salotti, M.** 1988. Le chat sauvage (*Felis silvestris* Schreber, 1777) en Corse. Confirmation de sa présence et approche taxinomique. *Mammalia*, **52**, 123–125.
- Biró, Z., Szemethy, L. & Heltai, M.** 2004. Home range sizes of wildcats (*Felis silvestris*) and feral domestic cats (*Felis silvestris f. catus*) in a hilly region of Hungary. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde*, **69**, 302–310.
- Bradshaw, J.W.S.** 1992. *The Behaviour of the Domestic Cat*. C.A.B International UK.
- Devillard, S., Jombart, T., Léger, F., Pontier, D., Say, L. & Ruelle, S.** 2013. How reliable are morphological and anatomical characters to distinguish European wildcats, domestic cats and their hybrids in France? *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **52**, 154–162.
- Driscoll, C. a, Menotti-Raymond, M., Roca, A. L., Hupe, K., Johnson, W. E., Geffen, E., Harley, E. H., Delibes, M., Pontier, D., Kitchener, A. C., Yamaguchi, N., O'brien, S. J. & Macdonald, D. W.** 2007. The Near Eastern origin of cat domestication. *Science (New York, N.Y.)*, **317**, 519–23.
- Driscoll, C. & Nowell, K.** 2010. *Felis silvestris*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.2. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on **26 March 2014**.
- Driscoll, C., Yamaguchi, N., O'Brien, S. J. & Macdonald, D. W.** 2011. A suite of genetic markers useful in assessing wildcat (*Felis silvestris* ssp.)-domestic cat (*Felis silvestris catus*) admixture. *The Journal of heredity*, **102 Suppl**, S87–90.
- Ebert, C., Huckschlag, D., Schulz, H.K., Hohmann, U.** 2010. Can hair traps sample wild boar (*Sus scrofa*) randomly for the purpose of non-invasive population estimation? *Eur. J. Wildl. Res.*, **56**, 4, 583–590
- Eckert, I., Suchentrunk, F., Markov, G. & Hartl, G. B.** 2010. Genetic diversity and integrity of German wildcat (*Felis silvestris*) populations as revealed by microsatellites, allozymes, and mitochondrial DNA sequences. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde*, **75**, 160–174.

- Ellerman, J. R. & Morrison-Scott, T. C. S.** 1951. *Checklist of Palearctic and Indian Mammals*. British Museum of Natural History edn. London. pp 303-308.
- EUROP.**1992. Council Directive 92/43/EEC of 21st May 1992 on the Conservation of Natural Habitats and of Wild Fauna and Flora. Appendix IV. Office for Official Publications of the European Union. <http://europa.eu.int/>. Accessed 26 March 2014
- Gauthier, D. & Vigne, J.-D.** 1987. Origine des mammifères terrestres en Corse. In: *Les mammifères en Corse : espèces actuelles et éteintes*, Parc Naturel Régional de la Corse edn. pp. 5–23.
- Germain, E.** 2007. Approche éco-éthologique de l'hybridation entre le Chat forestier d'Europe (*Felis silvestris silvestris* Schreber 1777) et le Chat domestique (*Felis catus* L.). Thèse universitaire, Université de Reims Champagne-Ardenne.
- Germain, E., Ruetten, S. & Poulle, M.-L.** 2009. Likeness between the food habits of European wildcats, domestic cats and their hybrids in France. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde*, **74**, 412–417.
- Ginsburg, L., Delibrias, G., Minaut-Gout, A., Valladas, H. & Zivie, A.** 1991. Sur l'origine égyptienne du chat domestique. *Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle*, **13**, 107–113.
- Gouy, M., Guindon, S., Gascuel, O.** 2010. SeaView version 4 : a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Molecular Biology and Evolution*, **27**(2), 221-224.
- Halternorth, T.** 1957. Die Wildkatze. A *Ziemsen Verlag. Die Neue Brehm – Bücherei*, n°189, Wittenberg Lutherstadt, 100 p.
- Hanke, P. U. & Dickman, C. R.** 2013. Sniffing out the stakes: hair-snares for wild cats in arid environments. *Wildlife Research*, **40**, 45–51.
- Hupe, K. & Simon O.** 2007. Die Lockstomethode – eine nicht invasive methode zum Nachweis der Europäischen Wildkatze (*Felis silvestris silvestris*). Dans : Beiträge zur situation der wildkatze in Niedersachsen – Hannover : Informationsdienst Naturschutz Niedersachsen 1/2007 n°1, 74p ,voir p 66 à 69.
- IUCN.** 2008. 2008 IUCN red list of threatened species. <http://www.iucnredlist.org>.
- Kilshaw, K. & Macdonald, D.W.** 2011. The use of camera trapping as a method to survey for the Scottish wildcat. *Scottish Natural Heritage Commissioned Report No. 479*.
- Kitchener, A.** 1991. The Natural History of the Wild Cats. Christopher Helm Press, London.
- 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.
- Klatt, B.** 1912. Über die Veränderung der Schädelkapazität in der Domestikation. *Sitz. Ber. Ges. Naturf. Freunde Berlin*, **19**, 153–179.

- Kraft, S.** 2008. Relevé de la présence du *Felis s. silvestris* (Schreber.1777) dans le Kaiserstuhl et les forêts rhénanes limitrophes, à l'aide de la méthode des pièges à poils. AgroParisTech, FVA, mémoire de fin d'études .128 p.
- Kurten, B.** 1965. On the evolution of the European wild cat, *Felis silvestris* Schreber. *Acta Zool. Fenn*, **111**, 29 p.
- Lavauden, L.** 1929. Sur le chat sauvage de la Corse. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 189–1023.
- Léger, F., Ruetten, S., Stahl, P. & Wilhelm, J.-L.** 2008. La répartition du chat forestier en France : évolutions récentes. *Faune sauvage*, **280**, 24–39.
- Lozano, J. & Malo, A. F.** 2012. Conservation of the European Wildcat (*Felis silvestris*) in Mediterranean Environments: A Reassessment of Current Threats. In: *Mediterranean Ecosystems*, (Ed. by G. S. Williams), pp. 1–31. Nova Science Publishers, Inc.
- Lozano, J., 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**, 921–935.
- Lozano, J., Virgós, E., Cabezas-Díaz, S. & Mangas, J. G.** 2007. Increase of large game species in Mediterranean areas: Is the European wildcat (*Felis silvestris*) facing a new threat? *Biological Conservation*, **138**, 321–329.
- Lozano, J. & Urrea, F.** 2007. El gato doméstico. *Felis catus* Linneaus, 1758. *Galemys*, **22**, 123-132.
- Masseti, M.** 1993. Post-Pleistocene variations of the non-flying terrestrial mammals on some Italian Islands. *Suppl. Ric. Biol. Selvaggina*, **21**, 201-209.
- 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.
- Müller, K., Klein, R., Miltner, E., Wiegand, P.** 2007. Improved STR typing of telogen hair root and hair shaft DNA. *ELECTROPHORESIS*, **28**(16), 2835–2842.
- Murgia, C. & Murgia, A.** 2012. Home range and habitat selection of the sardinian wildcat (*Felis silvestris libyca*) in an area of southern Sardinia. *Present Environment And Suitable Development*, **6**, 11–20.
- Murgia, C., Murgia, A., Luiselli, L. & Angelici, F. M.** 2007. Movements and activity pattern of radio-tracked Sardinian wildcats, *Felis silvestris libyca* Forster, 1780. *Rev. Ecol. (Terre Vie)*, **62**, 381–386.
- Nowell, K. & Jackson P.** 1996. European wildcat, *Felis silvestris, silvestris* group Schreber, 1775. In: Wild cats: Status survey and conservation action plan. eds Nowell K. & Jackson P. IUCN, Gland. pp. 100-113.

- Nussberger, B.** 2013. Assessing Introgression between European Wildcats (*Felis silvestris silvestris*) and Domestic Cats (*Felis silvestris catus*). Thèse universitaire, Université de Zurich. 125 p.
- O'Brien, S. J., Johnson, W., Driscoll, C., Pontius, J., Pecon-Slattery, J. & Menotti-Raymond, M.** 2008. State of cat genomics. *Trends in genetics : TIG*, **24**, 268–79.
- Piggott, M. P. & Taylor, A. C.** 2003. Remote collection of animal DNA and its applications in conservation management and understanding the population biology of rare and cryptic species. *Wildlife Research*, **30**, 1.
- Pocock, R. I.** 1934. The races of European Wild Cat. *Linnean Society of London (Zoology)*, **XXXIX**, 1–14.
- Ponta, N.** (n.d.). Population structure of wildcats (*Felis silvestris silvestris*) in the Franco-Swiss Jura as revealed by mitochondrial. Université de Zurich, mémoire de fin d'études. 52 p.
- Puddu, E. & Viarengo, M.** 1993. Animal de Sardegna: i mammiferi. Carlo Delfino Editore, Sassari.
- Ragni, B.** 1978. Observation on the ecology and behaviour of the wild cat (*Felis silvestris* Schreber, 1777) in Italy. *Carnivore Genetics Newsletter*, **3**, 270–274.
- Ragni, B.** 1981. Gatto selvatico *Felis silvestris* Schreber, 1777. In: *Distribuzione e biologia di 22 specie di mammiferi in Italia*, Consiglio Nazionale delle Ricerche edn. pp. 1–185. Roma.
- Ragni, B.** 1988. Status e problemi di conservazione dei felidi (Felidae) in Italia. *Supl. Ric. Biol. Selv.*, **14**, 455–477.
- Ragni B.** 1993. Status and conservation of the wildcat in Italy. In: *Council of Europe 1992: Seminar on the biology and conservation of the wildcat (Felis silvestris)*. Council of Europe, Strasbourg. pp. 40-41.
- Ragni, B. & Possenti, M.** 1996. Variability of coat colour and markings system in *Felis silvestris*. *Italian Journal of Zoology*, **63**, 285-292.
- Randi, E. & Ragni, B.** 1991. Genetic variability and biochemical systematics of domestic and wild cat populations. *Journal of Mammalogy*, **72**, 79–88.
- Randi, E., Pierpaoli, M., Beaumont, M., Ragni, B. & Sforzi, A.** 2001. Genetic identification of wild and domestic cats (*Felis silvestris*) and their hybrids using Bayesian clustering methods. *Molecular biology and evolution*, **18**, 1679–93.
- Reiners, T. E., Encarnação, J. A. & Wolters, V.** 2011. An optimized hair trap for non-invasive genetic studies of small cryptic mammals. *European Journal of Wildlife Research*, **57**, 991–995.
- Ruette, S. & Devillard, S.** 2009. Compte-rendu des analyses génétiques de quelques spécimens de chats de Corse. Laboratoire de biométrie et biologie évolutive de Villeurbanne. 2 p

- Ruette, S. & Devillard, S.** 2013. Bilan du génotypage des spécimens de chats « sauvages » provenant de Corse. Laboratoire de biométrie et biologie évolutive de Villeurbanne. 7 p
- Ruette, S., Germain, E., Léger, F., Say, L. & Devillard, S.** 2011. Identification du chat forestier en France. *Faune sauvage*, **292**, 10–16.
- Saint-Girons, M. C.** 1973. Famille des Felidae. Genre *Felis* Linnaeus, 1758. In: *Les mammifères de France et du Bénélux (faune marine exceptée*, Doin edn. Paris. pp. 263–267.
- Salotti, M.** 1984. *Atlas régional des mammifères de Corse*. D.R.A.E. Corse edn. 45 p.
- Salotti, M.** 1987. Le Chat sauvage. In: *Les mammifères en Corse : espèces actuelles et éteintes*, Parc Naturel Régional de la Corse edn. pp 84-86.
- Salotti, M.** 1992a. Le Chat sauvage (*Felis silvestris lybica*) en Corse : une population en danger d’extinction. Faculté des Sciences et techniques de Corte. Corte. 4 p.
- Salotti, M.** 1992b. Carnivores sauvages actuels de Corse. Encyclopédie des carnivores de France. Hors-série, S.F.E.P.M, 29-36.
- 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.
- Schauenberg, P.** 1969. L’identification du Chat forestier d’Europe *Felis s. silvestris* Schreber 1777 par une méthode osthéométrique. *Rev. Suisse Zool.*, **76**, 433–441.
- Schauenberg, P.** 1971. L’indice crânien des Félidés (Note préliminaire). *Rev. Suisse Zool.*, **78**, 317–320.
- Schauenberg, P.** 1977. Longueur de l’intestin du Chat forestier *Felis silvestris* Schreber. *Mammalia*, **41**, 357–360.
- Stahl, P.** 1986. Le chat forestier d’Europe (*Felis silvestris* Schreber, 1777). Exploitation des ressources et organisation spatiale. Thèse universitaire, Université Nancy I, 357 p.
- Stahl, P. & Artois, M.** 1991. *Status and conservation of the wildcat (Felis silvestris) in Europe and around the Mediterranean rim*. Council of Europe edn. Strasbourg.
- Stahl, P. & Léger, F.** 1992. Le chat sauvage (*Felis silvestris*, Schreber, 1777). In: *Encyclopédie des carnivores de France*, Société Française pour l’Etude et la Protection des Mammifères edn. Paris. 50 p.
- Steyer, K., Simon, O., Kraus, R. H. S., Haase, P. & Nowak, C.** 2012. 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.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S.** 2013 MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. [*Molecular Biology and Evolution*, **30**, 2725-2729.](#)
- UNEP-WCMC.** 2006. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. Appendix II. <http://www.cites.org>.

Vigne, J. D. 1988. *Les mammifères post-glaciaires de Corse. Etude archéozoologique.* C.N.R.S. edn. Paris.

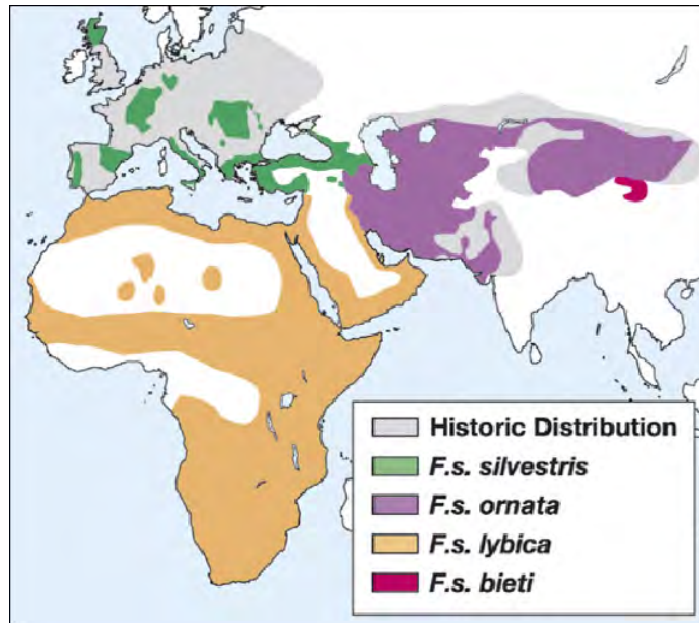
Vigne, J. D., Guilaine, J., Debue, K., Haye, L. & Gérard, P. 2004. Early taming of the cat in Cyprus. *Science (New York, N.Y.)*, **304**, 259.

Waits, L.P. & Paetkau, D. 2005. Noninvasive genetic sampling tools for wildlife biologists: a review of applications and recommendations for accurate data collection. *J Wildl Manage*, **69**(4), 1419–1433.

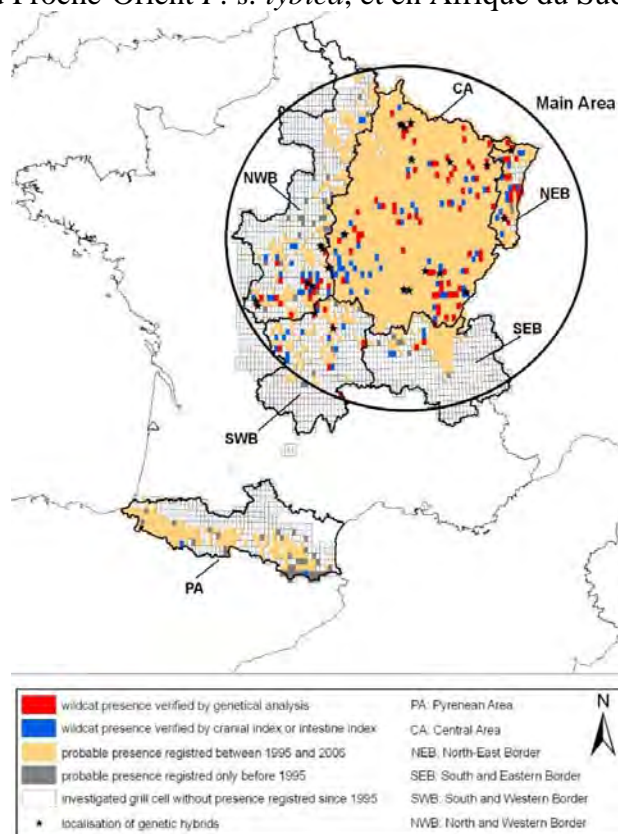
Waller, G.R., Price, G.H., & Mitchell, E.D. 1969. Feline attractant, cis,trans-nepetalactone: metabolism in the domestic cat. *Science*, **164**(3885), 1281–1282.

Annexes

Annexe 1 : Répartition des sous-espèces sauvages de *Felis silvestris*.

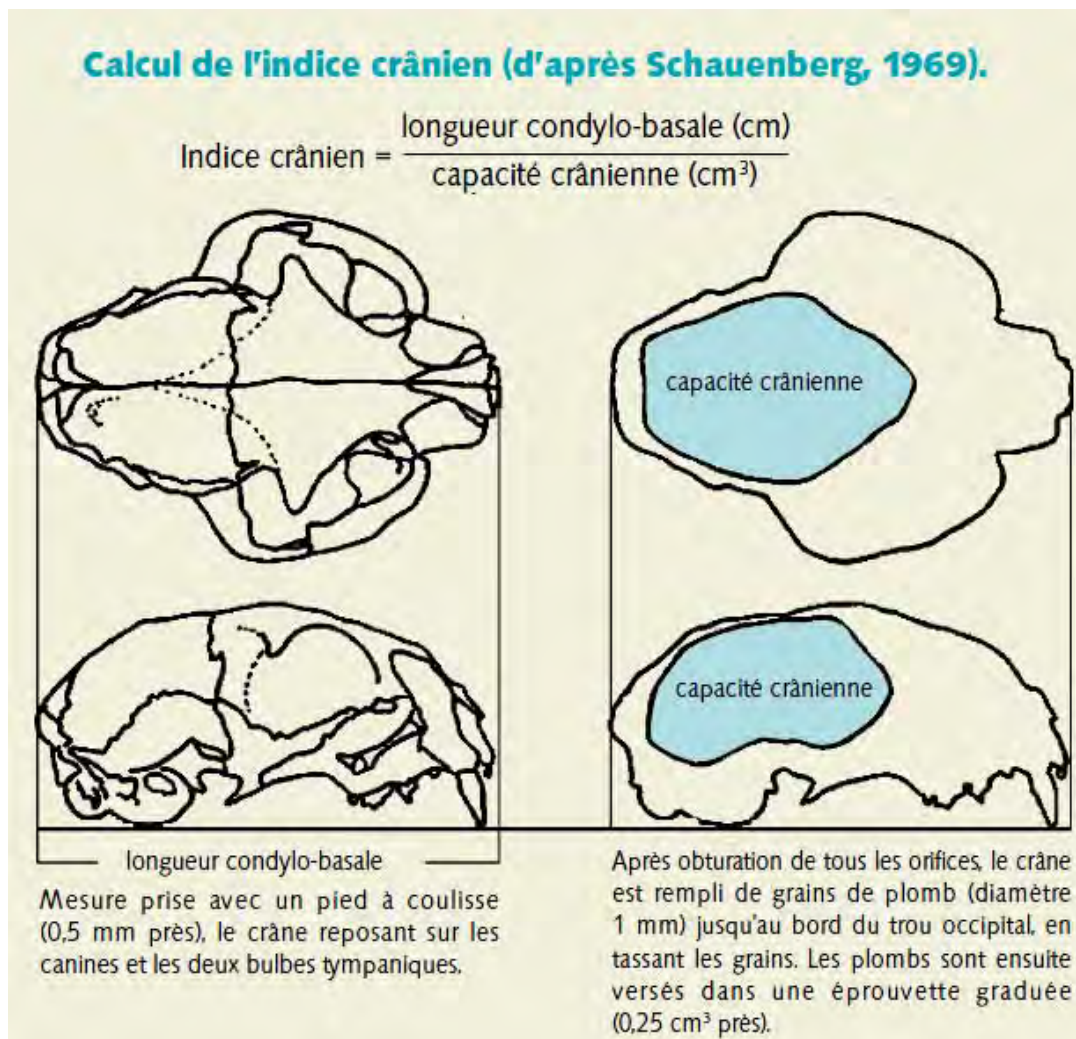


Carte de la répartition des différentes sous-espèces sauvages de *Felis silvestris* (extrait de Driscoll *et al.* 2007). L'aire de répartition de *F. s. lybica* (orange) comprend en Afrique du Nord et au Proche-Orient *F. s. lybica*, et en Afrique du Sud *F. s. cafra*.



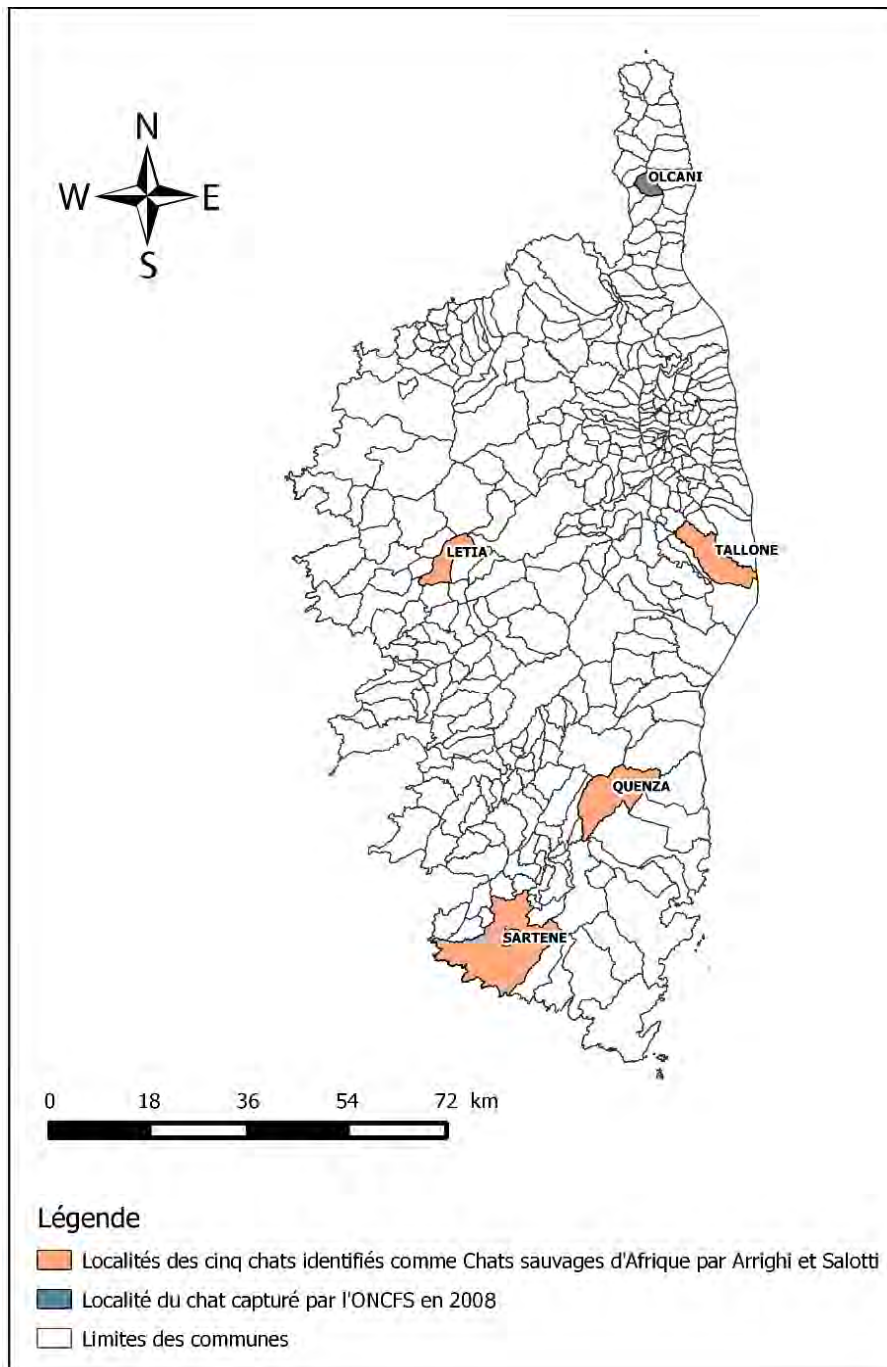
Carte de la répartition détaillée de *Felis silvestris silvestris* en France (extrait de Say *et al.* 2012).

Annexe 2 : Calcul de l'indice crânien (d'après Schauenberg, 1969)



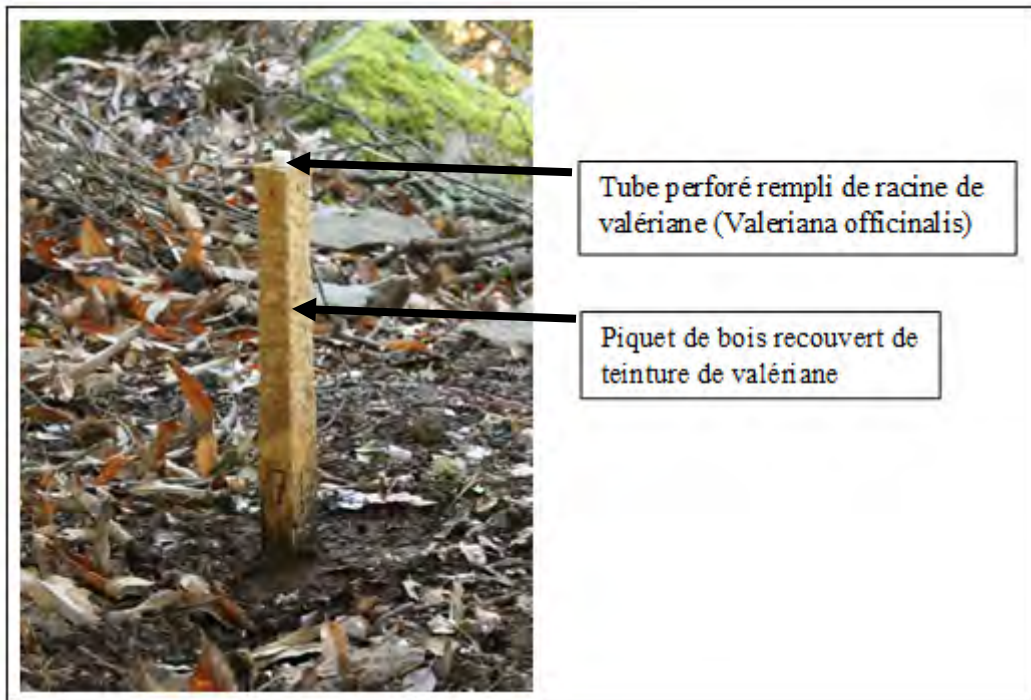
Méthode de calcul de l'indice crânien de Schauenberg (1969) (extrait de Ruetten *et al.* 2012).

Annexe 3 : Provenance des Chats dits « forestiers » de Corse analysés génétiquement en 2009.



Carte indiquant la provenance des chats dits forestiers de Corse sur lesquels les premières analyses génétiques par microsatellites ont été réalisées, en 2009. Les quatre localités d'où proviennent les cinq chats identifiés par Arrighi et Salotti (1988, 1992) comme appartenant à la sous-espèce *Felis silvestris lybica* sont colorées en rose. La commune de capture du chat soupçonné d'être forestier par l'ONCFS en 2008, est colorée en bleu.

Annexe 4 : Illustration de la méthode des pièges à poils et pièges photos.



Piège à poils. La valériane permet d'attirer les chats, en particulier en période de rut. Lorsque ceux-ci viennent se frotter contre le piège, ils laissent des poils que l'on peut ensuite récupérer.



Piège à poils équipé d'un piège photos. Le piège photos est fixé à arbre à hauteur du piège à poils, et distancé de celui-ci d'environ 2 à 3 mètres.

Annexe 5 : Coordonnées des correspondants de terrain en 2014.

Préparation et mise en place des pièges à poils et pièges photos

Pierre Benedetti	06 25 03 21 92	pierre.benedetti@oncfs.gouv.fr
Frédéric Sanchis	06 27 63 77 66	frederic.sanchis@oncfs.gouv.fr
Frédéric Cervetti	06 87 30 53 51	frederic.cervetti@oncfs.gouv.fr
Fanny Dens	06 25 85 04 08	fanny.dens@gmail.com

Intervention possible sur tous les sites

Frédéric Sanchis

Fanny Dens

Etablissement : ONCFS – Cellule technique de Corse
Adresse : 20218 Moltifao

Site : RCFS de Bavella

Relevé des pièges

Thomas Abiven	06 25 03 21 54	thomas.abiven@oncfs.gouv.fr
Eric Feret	06 25 03 21 44	eric.feret@oncfs.gouv.fr
Philippe Degeilh	06 09 50 06 51	philippe.degeilh@oncfs.gouv.fr

Etablissement : ONCFS – Service départemental de Corse – Brigade de Porto Vecchio
Adresse : Route de Bastia - 20137 Porto Vecchio

Site : RCFS de Tartagine

Relevé des pièges

Pascal Genty	06 18 01 81 47	pascal.genty@onf.fr
--------------	----------------	---------------------

Etablissement : ONF
Adresse : 20259 Olmi Cappella

Frédéric Sanchis	06 27 63 77 66	frederic.sanchis@oncfs.gouv.fr
Fanny Dens	06 25 85 04 08	fanny.dens@gmail.com

Etablissement : ONCFS – Cellule technique de Corse
Adresse : 20218 Moltifao

Site : RCFS d'Asco

Relevé des pièges

Frédéric Cervetti 06 87 30 53 51 frederic.cervetti@oncfs.gouv.fr

Etablissement : ONCFS – Cellule technique de Corse
Adresse : 20218 Moltifao

Sites : Cap Corse, vallée de Luri et de Sisco

Relevé des pièges

Laurent Ricquiers 06 25 03 21 58 laurent.ricquiers@oncfs.gouv.fr
Jérôme Bono 06 25 07 08 57 jerome.bono@oncfs.gouv.fr
Florian Valentini 06 27 67 29 34 florian.valentini@oncfs.gouv.fr
Paul-Renaud Pinna 06 25 07 07 90

Etablissement : ONCFS – Service départemental de Corse – Brigade de Bastia
Adresse : Préfecture de Bastia – 20200 Bastia

Site : Agriate

Relevé des pièges

Stéphanie Marchetti 04 95 59 17 35 smarchetti@cg2b.fr
Paul Vincent Ferrandi 06 12 51 56 62 pvferrandi@cg2b.fr
François-Xavier
Montecattini 06 09 98 76 98
Virginie Paolacci 06 88 76 37 19

Etablissement : Département de la Haute Corse - Direction des interventions
départementales - Service de gestion des terrains du littoral
Adresse : Rond-point du Maréchal Leclerc - 20405 Bastia Cedex 10

Jean-Egide Montecattini 06 25 03 21 61 jean-egide.montecattini@oncfs.gouv.fr

Etablissement : ONCFS – Service départemental de Corse – Brigade de
Moltifao
Adresse : 20218 Moltifao

Site : Tenda

Relevé des pièges

Olivier Granger	06 25 03 21 91	olivier.granger@oncfs.gouv.fr
Anita Hervé	06 25 03 21 56	anita.herve@oncfs.gouv.fr
Emmanuel Gros Lambert	06 25 03 21 90	emmanuel.groslambert@oncfs.gouv.fr
Etienne Filippi	06 25 03 21 60	etienne.filippi@oncfs.gouv.fr
Jean-Egide Montecattini	06 25 03 21 61	jean-egide.montecattini@oncfs.gouv.fr

Etablissement : ONCFS – Service départemental de Corse – Brigade de Moltifao
Adresse : 20218 Moltifao

Site : Castagniccia

Relevé des pièges

Alain Valentini	06 77 59 86 41	alvalentini1965@gmail.com
-----------------	----------------	---------------------------

**Lieutenant de
louveterie**
Adresse : 20237 La Porta

Site : Basse vallée de Tartagine

Relevé des pièges

Frédéric Sanchis	06 27 63 77 66	frederic.sanchis@oncfs.gouv.fr
Frédéric Cervetti	06 87 30 53 51	frederic.cervetti@oncfs.gouv.fr
Fanny Dens	06 25 85 04 08	fanny.dens@gmail.com

Etablissement : ONCFS – Cellule technique de Corse
Adresse : 20218 Moltifao

Site : Basse vallée d'Asco

Relevé des pièges

Frédéric Cervetti	06 87 30 53 51	frederic.cervetti@oncfs.gouv.fr
Fanny Dens	06 25 85 04 08	fanny.dens@gmail.com

Etablissement : ONCFS – Cellule technique de Corse
Adresse : 20218 Moltifao

Site : Niolo

Mise en place des pièges

Sébastien Lebre 06 18 01 82 28 sebastien.lebre@onf.fr

Etablissement : ONF
Adresse : Maison forestière de Poppaghja - 20224 Albertacce

Pierre Polifroni 06 18 01 81 18 pierre.polifroni@onf.fr

Etablissement : ONF
Adresse : Pont de l'Orta - 20250 Corte

Frédéric Cervetti 06 87 30 53 51 frederic.cervetti@oncfs.gouv.fr
Fanny Dens 06 25 85 04 08 fanny.dens@gmail.com

Etablissement : ONCFS – Cellule technique de Corse
Adresse : 20218 Moltifao

Relevé des pièges

Frédéric Sanchis 06 27 63 77 66 frederic.sanchis@oncfs.gouv.fr
Fanny Dens 06 25 85 04 08 fanny.dens@gmail.com

Etablissement : ONCFS – Cellule technique de Corse
Adresse : 20218 Moltifao

Annexe 6 : Localités des sites de piégeage de poils de Chat forestier en 2014.

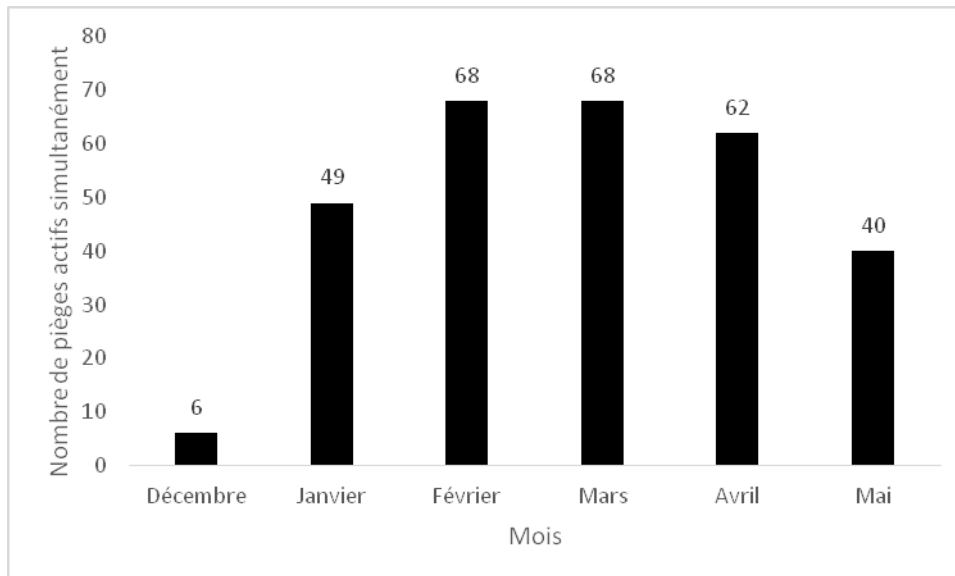
Sites de piégeage de poils de Chat forestier de Corse en 2014, communes et département qu'ils occupent.

Sites	Communes	Département
RCFS de Bavella	20122 Quenza	Corse du Sud (2A)
RCFS de Tartagine	20259 Olmi Cappella 20259 Mausoleo	Haute Corse (2B)
RCFS d'Asco	20218 Asco	Haute Corse (2B)
Cap Corse - Vallée de Luri	20228 Luri 20228 Pino	Haute Corse (2B)
Cap Corse - Vallée de Sisco	20233 Sisco	Haute Corse (2B)
Agriate	20246 Santo Pietro Di Tenda 20246 San Gavino Di Tenda	Haute Corse (2B)
Tenda	20218 Pietralba 20218 Urtaca	Haute Corse (2B)
Castagniccia	20218 Morosaglia 20218 Gavignano 20218 Castineta 20237 Quercitello	Haute Corse (2B)
Basse vallée de Tartagine	20218 Castifao	Haute Corse (2B)
Niolo	20224 Albertacce	Haute Corse (2B)
Basse vallée d'Asco	20218 Asco 20218 Moltifao	Haute Corse (2B)

Annexe 7 : Activité des pièges par mois.

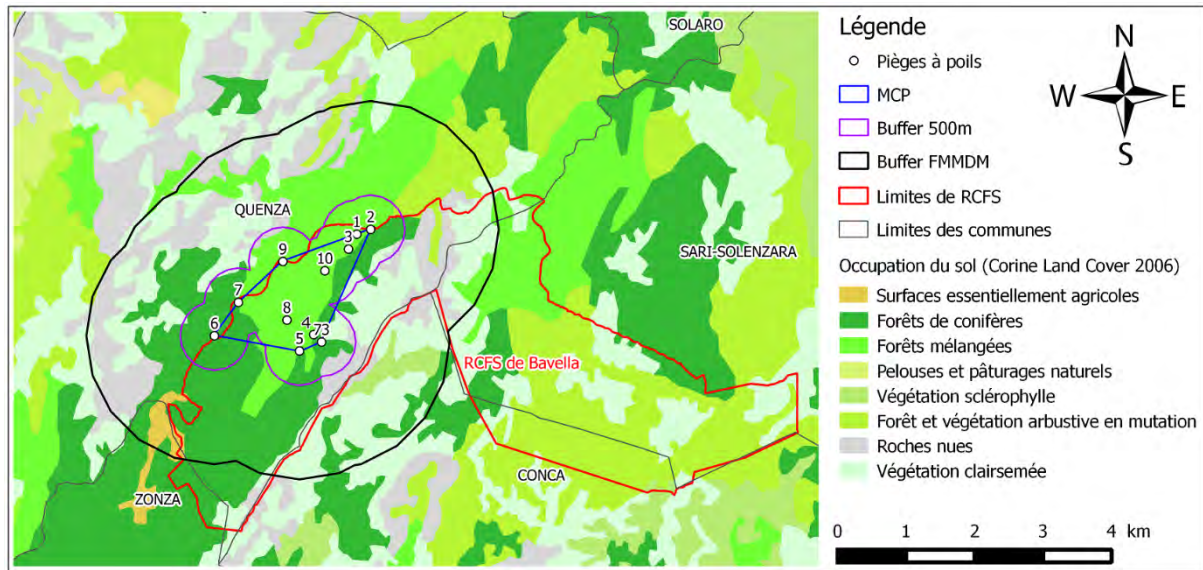
Nombre de pièges par site et par mois.

Site	Nombre de pièges par mois					
	Décembre	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai
RCFS de Bavella	0	10	10	10	2	2
RCFS de Tartagine	6	6	6	6	7	7
RCFS d'Asco	0	0	3	3	3	0
Cap Corse	0	6	6	6	6	0
Agriate	0	9	10	10	11	11
Tenda	0	4	4	4	4	0
Castagniccia	0	8	9	9	9	9
Basse vallée de Tartagine	0	6	6	6	6	0
Niolo	0	0	8	8	8	8
Basse vallée d'Asco	0	0	6	6	6	3

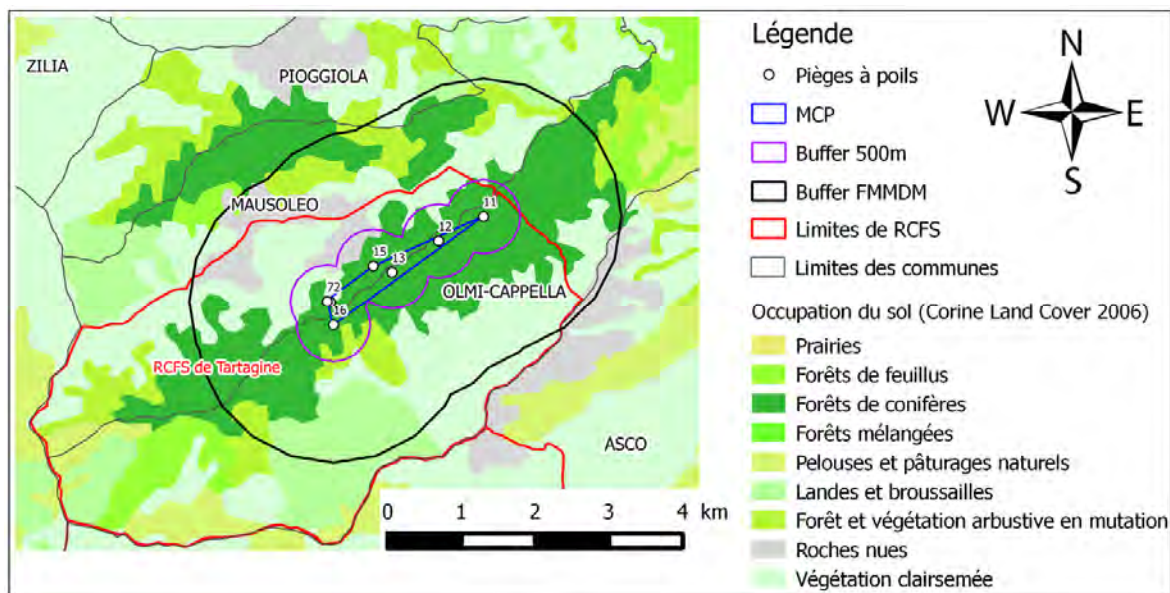


Nombre de pièges à poils actifs simultanément par mois. Au maximum, 68 pièges à poils ont été actifs en même temps durant les mois de février et de mars.

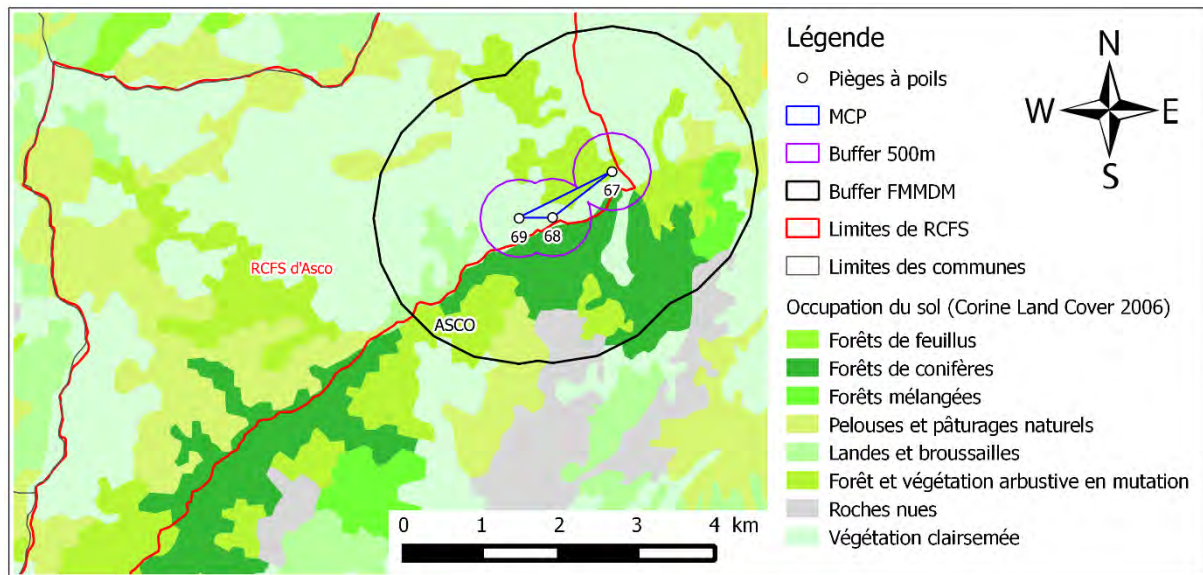
Annexe 8 : Détail des pièges à poils et de l'occupation du sol pour chaque site de piégeage



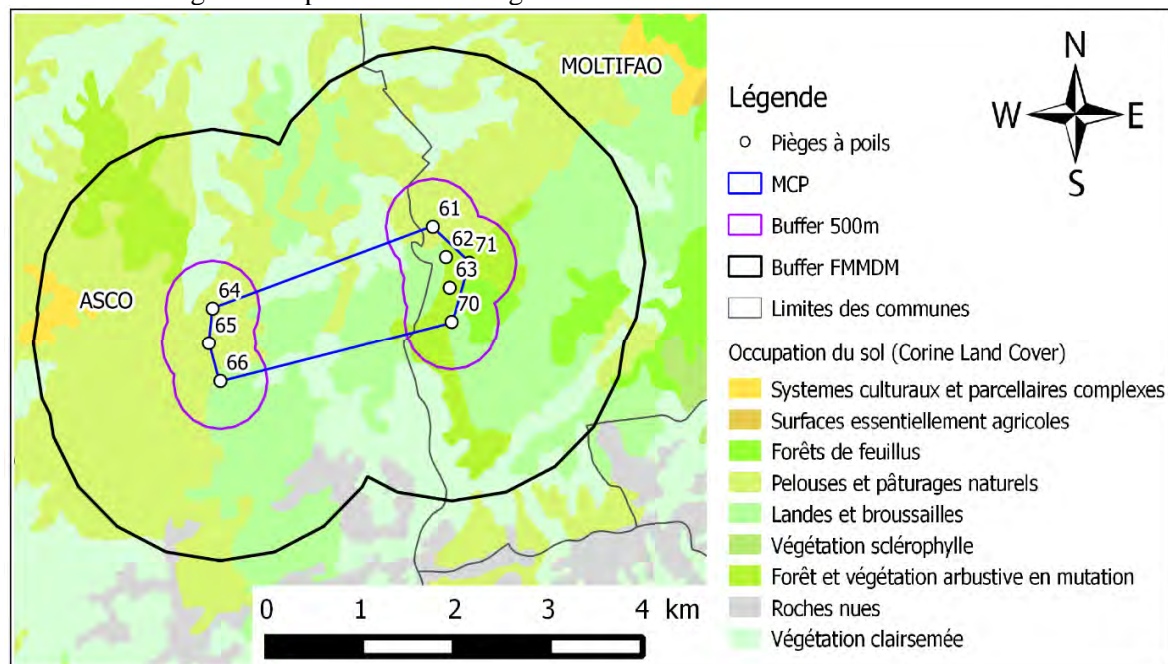
Site de piégeage de la RCFS de Bavella. Les pièges à poils sont associés à leur numéro. L'occupation du sol est définie par le code Corine Land Cover de 2006. Les buffers de 500 m de rayon autour des pièges à poils, en violet, sont utilisés pour caractériser écologiquement ces derniers. Les buffers ayant pour rayon le « Full Mean Maximum Distance Moved » (FMMDM) sont représentés en noir. Associés ensemble ils représentent la surface effective d'échantillonnage pour le site. Le « Minimum Convex Polygon » (MCP), en bleu, englobe les pièges à poils. Les limites de la Réserve de Chasse et de Faune Sauvage sont représentées en rouge.



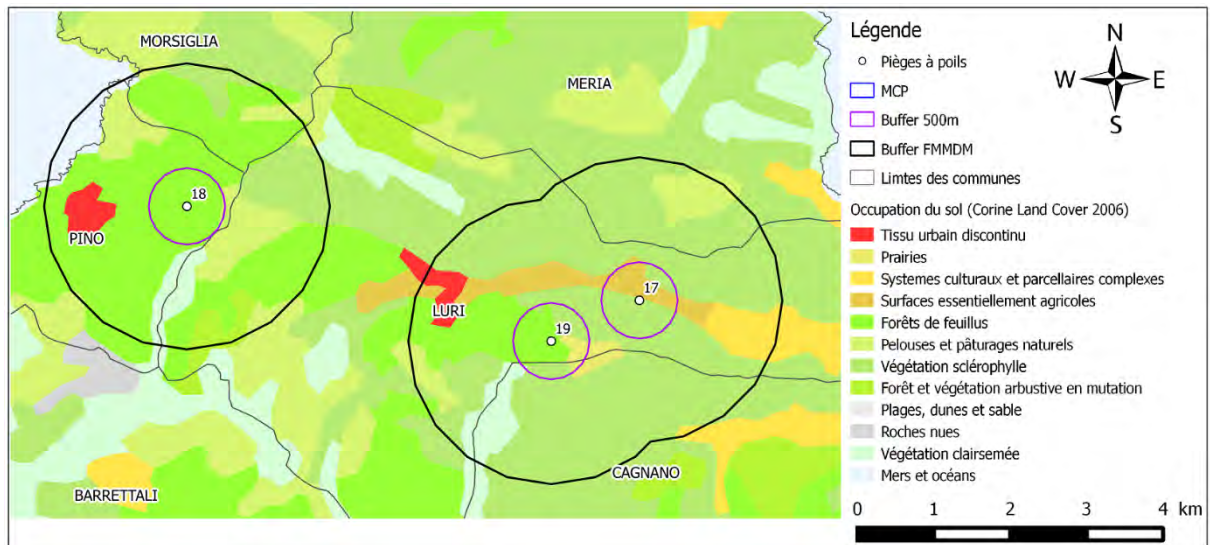
Site de piégeage de la RCFS de Tartagine. Les pièges à poils sont associés à leur numéro. L'occupation du sol est définie par le code Corine Land Cover de 2006. Les buffers de 500 m de rayon autour des pièges à poils, en violet, sont utilisés pour caractériser écologiquement ces derniers. Les buffers ayant pour rayon le « Full Mean Maximum Distance Moved » (FMMDM) sont représentés en noir. Associés ensemble ils représentent la surface effective d'échantillonnage pour le site. Le « Minimum Convex Polygon » (MCP), en bleu, englobe les pièges à poils. Les limites de la Réserve de Chasse et de Faune Sauvage sont représentées en rouge.



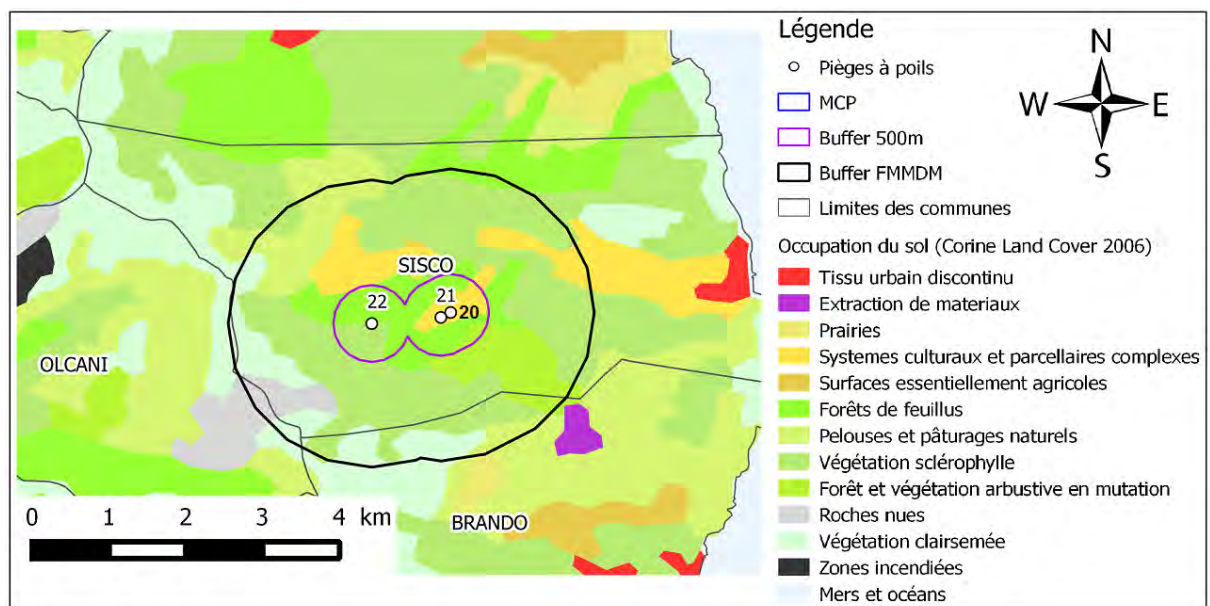
Site de piégeage de la RCFS d'Asco. Les pièges à poils sont associés à leur numéro. L'occupation du sol est définie par le code Corine Land Cover de 2006. Les buffers de 500 m de rayon autour des pièges à poils, en violet, sont utilisés pour caractériser écologiquement ces derniers. Les buffers ayant pour rayon le « Full Mean Maximum Distance Moved » (FMMDM) sont représentés en noir. Associés ensemble ils représentent la surface effective d'échantillonnage pour le site. Le « Minimum Convex Polygon » (MCP), en bleu, englobe les pièges à poils. Les limites de la Réserve de Chasse et de Faune Sauvage sont représentées en rouge.



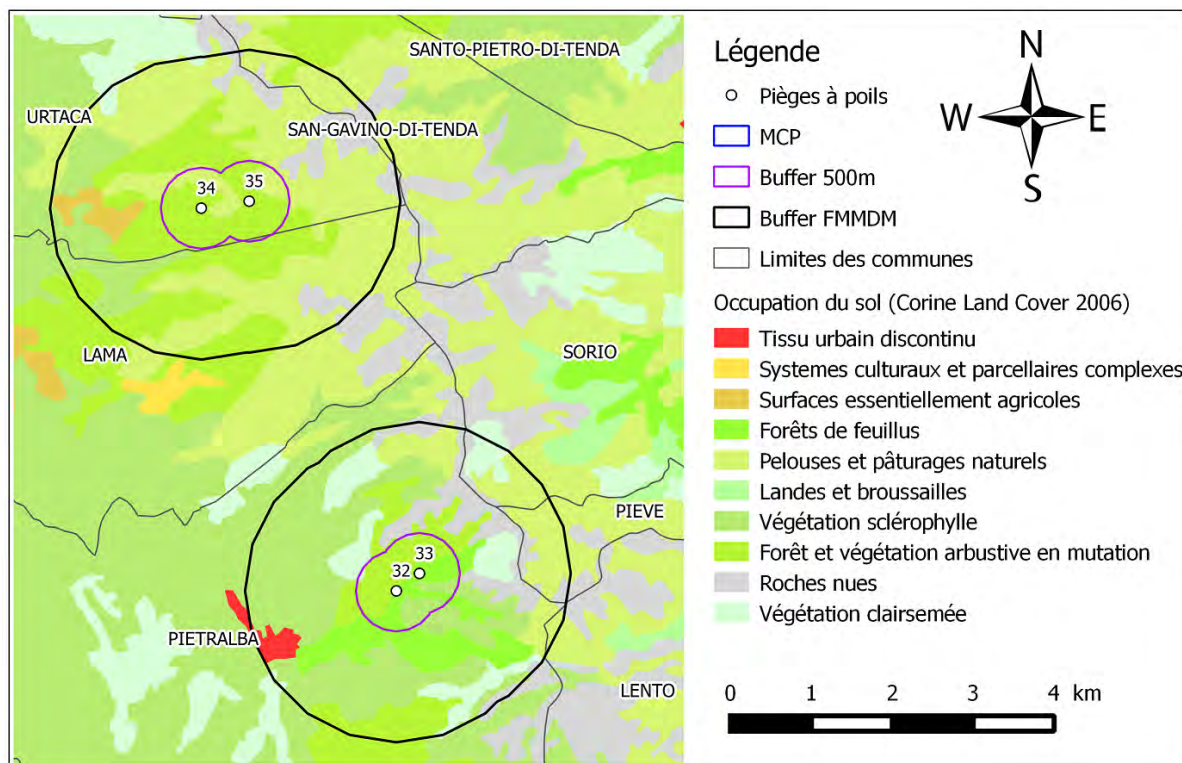
Site de piégeage de la basse vallée d'Asco. Les pièges à poils sont associés à leur numéro. L'occupation du sol est définie par le code Corine Land Cover de 2006. Les buffers de 500 m de rayon autour des pièges à poils, en violet, sont utilisés pour caractériser écologiquement ces derniers. Les buffers ayant pour rayon le « Full Mean Maximum Distance Moved » (FMMDM) sont représentés en noir. Associés ensemble ils représentent la surface effective d'échantillonnage pour le site. Le « Minimum Convex Polygon » (MCP), en bleu, englobe les pièges à poils.



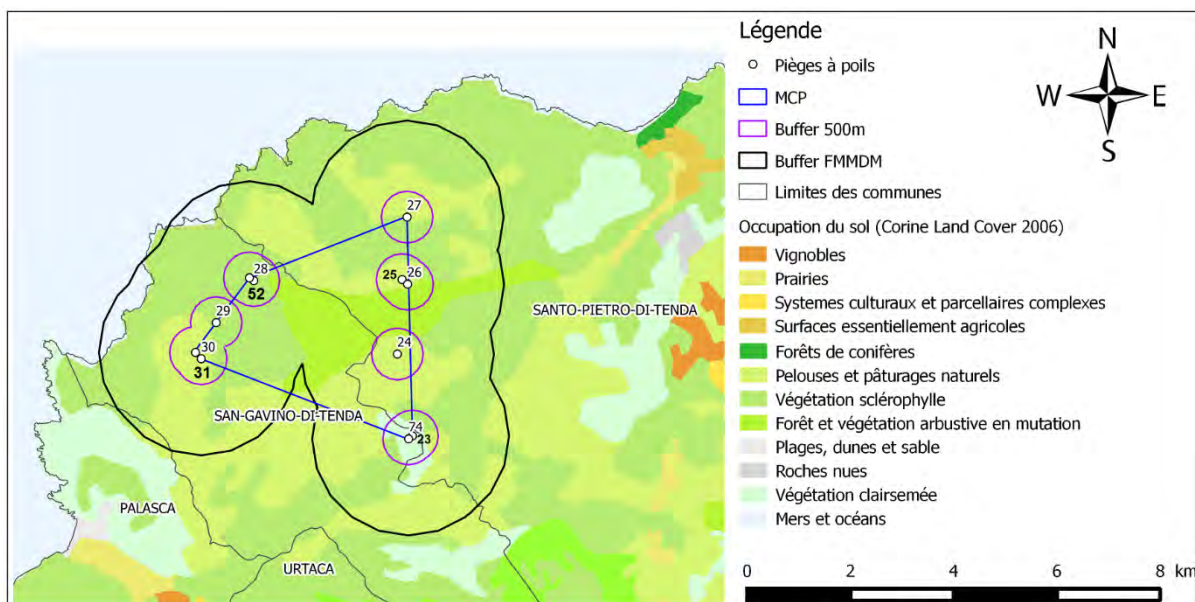
Site de piégeage de la vallée de Luri (Cap Corse). Les pièges à poils sont associés à leur numéro. L'occupation du sol est définie par le code Corine Land Cover de 2006. Les buffers de 500 m de rayon autour des pièges à poils, en violet, sont utilisés pour caractériser écologiquement ces derniers. Les buffers ayant pour rayon le « Full Mean Maximimun Distance Moved » (FMMDM) sont représentés en noir. Associés ensemble ils représentent la surface effective d'échantillonnage pour le site. Le « Minimum Convex Polygon » (MCP), en bleu, englobe les pièges à poils.



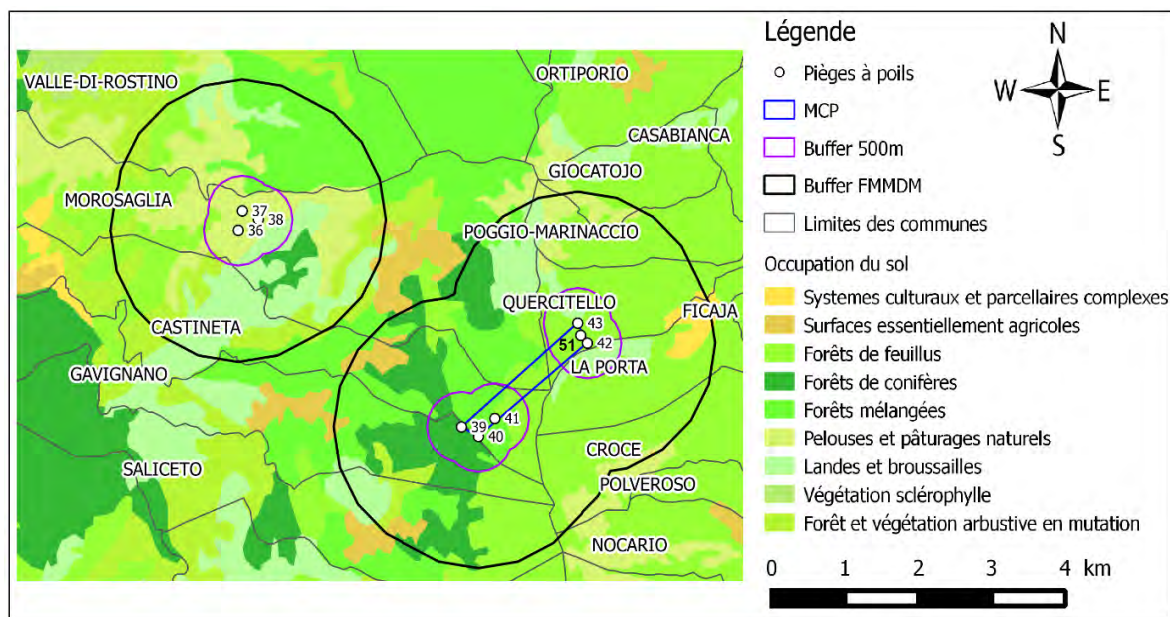
Site de piégeage de la vallée de Sisco (Cap Corse). Les pièges à poils sont associés à leur numéro. L'occupation du sol est définie par le code Corine Land Cover de 2006. Les buffers de 500 m de rayon autour des pièges à poils, en violet, sont utilisés pour caractériser écologiquement ces derniers. Les buffers ayant pour rayon le « Full Mean Maximimun Distance Moved » (FMMDM) sont représentés en noir. Associés ensemble ils représentent la surface effective d'échantillonnage pour le site. Le « Minimum Convex Polygon » (MCP), en bleu, englobe les pièges à poils.



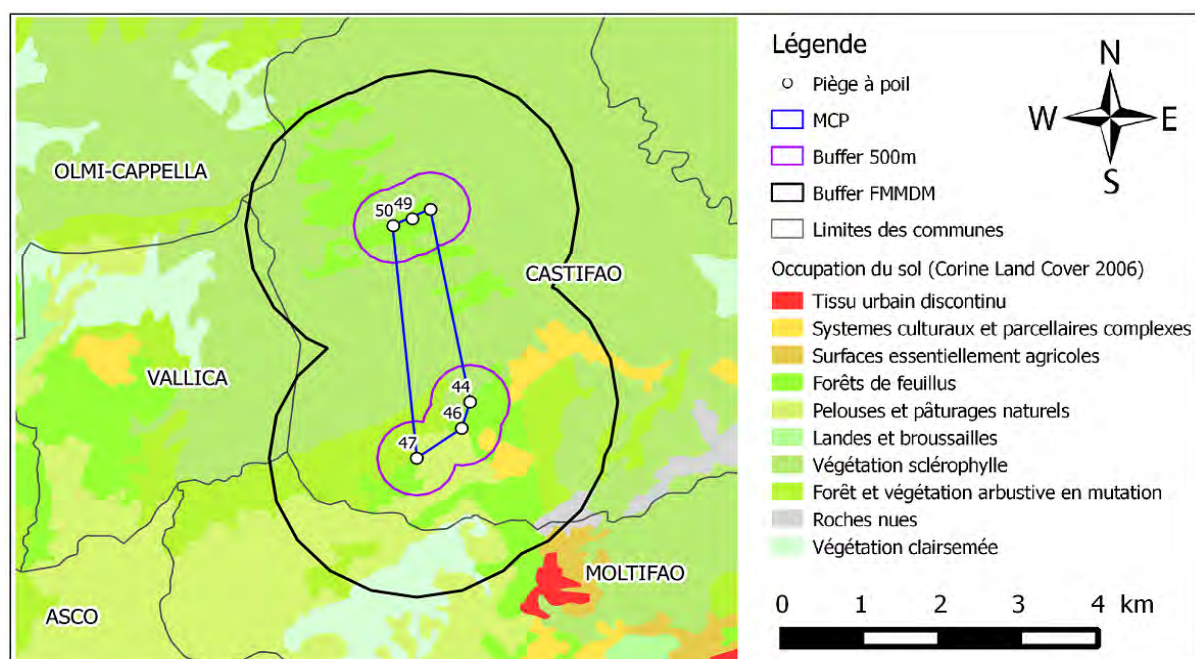
Site de piégeage de Tenda. Les pièges à poils sont associés à leur numéro. L'occupation du sol est définie par le code Corine Land Cover de 2006. Les buffers de 500 m de rayon autour des pièges à poils, en violet, sont utilisés pour caractériser écologiquement ces derniers. Les buffers ayant pour rayon le « Full Mean Maximimun Distance Moved » (FMMDM) sont représentés en noir. Associés ensemble ils représentent la surface effective d'échantillonnage pour le site. Le « Minimum Convex Polygon » (MCP), en bleu, englobe les pièges à poils.



Site de piégeage de l'Agriate. Les pièges à poils sont associés à leur numéro. L'occupation du sol est définie par le code Corine Land Cover de 2006. Les buffers de 500 m de rayon autour des pièges à poils, en violet, sont utilisés pour caractériser écologiquement ces derniers. Les buffers ayant pour rayon le « Full Mean Maximimun Distance Moved » (FMMDM) sont représentés en noir. Associés ensemble ils représentent la surface effective d'échantillonnage pour le site. Le « Minimum Convex Polygon » (MCP), en bleu, englobe les pièges à poils.



Site de piégeage de Castagniccia. Les pièges à poils sont associés à leur numéro. L'occupation du sol est définie par le code Corine Land Cover de 2006. Les buffers de 500 m de rayon autour des pièges à poils, en violet, sont utilisés pour caractériser écologiquement ces derniers. Les buffers ayant pour rayon le « Full Mean Maximimun Distance Moved » (FMMDM) sont représentés en noir. Associés ensemble ils représentent la surface effective d'échantillonnage pour le site. Le « Minimum Convex Polygon » (MCP), en bleu, englobe les pièges à poils.



Site de piégeage de la basse vallée de Tartagine. Les pièges à poils sont associés à leur numéro. L'occupation du sol est définie par le code Corine Land Cover de 2006. Les buffers de 500 m de rayon autour des pièges à poils, en violet, sont utilisés pour caractériser écologiquement ces derniers. Les buffers ayant pour rayon le « Full Mean Maximimun Distance Moved » (FMMDM) sont représentés en noir. Associés ensemble ils représentent la surface effective d'échantillonnage pour le site. Le « Minimum Convex Polygon » (MCP), en bleu, englobe les pièges à poils.

Annexe 9 : Caractérisation écologique des sites.

Altitude moyenne et occupation du sol, d'après Corine Land Cover (2006), des sites de la RCFS de Bavella, de la RCFS de Tartagine, de la RCFS d'Asco, de la basse vallée de Tartagine et de la basse vallée d'Asco. L'occupation du sol est donnée en pourcentage de recouvrement. L'absence de donnée pour une catégorie signifie que cette proportion est nulle.

	RCFS de Bavella	RCFS de Tartagine	RCFS d'Asco	Basse vallée de Tartagine	Basse vallée d'Asco
Altitude moyenne	636.84 ± 134.29	971.05 ± 93.85	907.72 ± 46.31	621.0 ± 83.13	547.46 ± 52.59
Recouvrement (%)					
Systèmes cultureux et parcellaires				3.15	1.01
Surfaces essentiellement agricoles	1.25			0.04	
Forêts de feuillus		0.32		15.22	2.80
Forêts de conifères	25.87	41.74	17.23		
Forêts mixtes	22.95		3.35		
Pelouses et pâturages naturels			6.84	9.47	38.38
Landes et broussailles		8.28	3.41		28.40
Végétation sclérophylle	1.84			57.62	
Végétation clairsemée	25.88	31.87	46.86	3.15	19.16
Roches nues	17.51	8.21	3.20	0.70	1.94
Forêts et végétation arbustive en mutation	4.70		19.11	10.64	8.31

Altitude moyenne et occupation du sol, d'après Corine Land Cover (2006), des sites de la vallée de Luri, de la vallée de Sisco, de l'Agriate, de Tenda, de la Castagniccia et du Niolo. L'occupation du sol est donnée en pourcentage de recouvrement. L'absence de donnée pour une catégorie signifie que cette proportion est nulle.

	Cap Corse, vallée de Luri	Cap Corse, vallée de Sisco	Agriate	Tenda	Castagniccia	Niolo
Altitude moyenne	269.9 ± 112.11	396.37 ± 66,95	238.99 ± 93.87	641.75 ± 113.86	1010.81 ± 233.13	1264.24 ± 92.43
Recouvrement (%)						
Tissu urbain discontinu	2.26			0.77		
Prairies	1.01					
Systèmes cultureux et parcellaires	2.13	11.09			1.15	
Surfaces essentiellement agricoles	3.76			1.29	1.48	
Forêts de feuillus	30.26	13.27		6.33	34.91	13.90
Forêts de conifères					11.23	36.10
Forêts mixtes					17.43	4.53
Pelouses et pâturages naturels	8.85	8.44	38.00	30.01	12.77	2.17
Landes et broussailles					14.41	19.67
Végétation sclérophylle	44.85	45.91	47.27	23.37		
Végétation clairsemée	3.91	10.21	1.92	5.89		1.61
Roches nues		3.10		8.80		12.54
Forêts et végétation arbustive en mutation	1.23	7.97	10.16	23.54	6.62	9.48
Mer et océans	1.73		2.65			

**Annexe 10 : Liste des correspondants vétérinaires sollicités pour la
collecte de poils de Chats domestiques de Corse.**

Dr. Marc Memmi Tél. portable : 06 11 59 32 59 Email : marc-
Vétérinaire Tél. fixe : 04 95 36 43 78 memmi@orange.fr

Adresse : Clinique vétérinaire du Golo
Route de Calvi
20218 Ponte Leccia

Dr. Bernard Fabrizy Tél. portable : 06 19 89 68 50 Email : FabrizyB@Yahoo.fr
Vétérinaire Tél. fixe : 04 95 33 09 99 Email : vet.lupino@wanadoo.fr

Adresse : Clinique vétérinaire de Lupino
Gare Lupino
20200 Bastia

**Dr. Anne Guiard-
Marigny** Tél. portable : 06 03 28 02 30 Email : anne.gm@sfr.fr
Vétérinaire Tél. fixe : 04 95 70 13 58

Nathalie Kilburg Tél. fixe : 04 95 70 13 58
Auxiliaire vétérinaire

Marion Terrazzoni Tél. fixe : 04 95 70 13 58
Auxiliaire vétérinaire

Adresse : Clinique vétérinaire des Quatre
Portes
Les Quatre Chemins
20137 Porto Vecchio

Dr. Claud d'Angeli Tél. portable : 06 58 86 85 58 Email : vets@clinique-
Vétérinaire Tél. fixe : 04 95 61 01 24 orta.com

Dr. Pascal Jugnet Tél. fixe : 04 95 61 01 24 Email : vets@clinique-
Vétérinaire orta.com

Adresse : Clinique de l'Orta
Route de Castirla
20250 Corte

Annexe 11 : Position des amorces sur les gènes cibles.

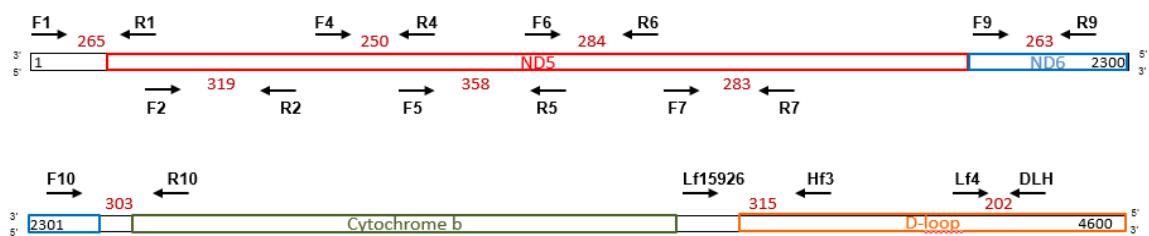


Schéma de la position des amorces sur les gènes mitochondriaux cibles ND5, ND6, Cytochrome b et D-loop. Les amorces F1 à F10, Lf15926 et Lf4 sont les amorces « forward », et les amorces R1 à R10, Hf3 et DLH sont les amorces « reverse ». La longueur de la portion du génome est notée de 1 à 4600 paires de bases (pb). La taille (en pb) des fragments à amplifier par chaque couple d'amorces est notée en rouge.

Annexe 12 : Mise au point du protocole de PCR

Premier essai de protocole de PCR

Dans un premier temps, le mix d'amorces a été préparé. Chaque amorce a été diluée de 100 μM à 50 μM avec de l'eau ultra-pure, puis centrifugée brièvement. Le mix d'amorces a été élaboré de manière à avoir par échantillon 0,2 μl de chaque amorce complété à 5 μl avec de l'eau ultra-pure. Ensuite, le mix de réaction a été préparé de façon à ce que chaque échantillon (50 μl) soit composé de 25 μl de « QIAGEN multiplex PCR Master mix », fourni avec le kit de PCR, et de 5 μl de mix d'amorces. 30 μl de mix de réaction est ensuite déposé dans des tubes de barrette de PCR, auquel on ajoute 20 μl d'un mix d'extrait d'ADN et d'eau ultra-pure aux concentrations variables (Tableau). La solution est mélangée avec une micropipette puis centrifugée brièvement. Un échantillon supplémentaire est ajouté, un « blanc de PCR » (c'est-à-dire 50 μl d'eau H₂O), qui sert à vérifier s'il y a eu ou non contamination.

Afin de vérifier si la PCR a fonctionné, une première lecture est effectuée par électrophorèse sur gel d'agarose. Cette méthode permet de séparer les fragments d'ADN en les faisant migrer par taille sur le gel. Pour se faire, un gel d'agarose à 4% a été préparé en utilisant 100 ml de tampon de migration TBE 0,5x, auquel ont été ajoutés 4 g d'agarose, qui est ensuite dissous par chauffage (au micro-ondes). L'agarose est totalement dissous lorsque le gel est transparent. 10 μl de GelRed, qui est un colorant fluorescent pour acides nucléiques, sont ajoutés dans l'erlenmeyer qu'on agite afin de répartir le GelRed avec homogénéité. Le gel est ensuite coulé dans une cuve. Si des bulles se forment, elles sont écartées sur les bords du gel afin qu'elles ne puissent pas gêner la migration. Un peigne est déposé sur le gel afin de former les puits qui permettront de charger les produits de PCR (c'est-à-dire les ADN). Une fois le gel pris, on retire le peigne et on le dépose dans une cuve pour la migration. Le gel est recouvert de tampon TBE.

Les produits de PCR sont ensuite préparés avant d'être chargés dans le gel, ainsi qu'un marqueur de taille « 1 kb » (Annexe 13) afin d'identifier la taille des fragments qui auront migré. Pour se faire, on dépose une goutte de 4 μl de bleu dilué (1 μl de bleu pour 3 μl d'eau) par échantillon et par marqueur de taille sur une feuille de paraffine. On y ajoute ensuite 2 μl de produit de PCR qu'on mélange avec la micropipette. Pour les marqueurs de taille, on n'ajoute qu'1 μl au bleu dilué.

Le gel est enfin déposé dans une cuve et recouvert de tampon TBE. Un voltage de 100V est appliqué pendant au minimum une heure avant un premier contrôle. Après migration des fragments d'ADN, le gel est soumis aux ultra-violets afin de visualiser les bandes.

Suite à cette PCR « d'essai » et 3 heures de migration, les bandes présentes en figure ont été obtenues. Quelle que soit la quantité de bulbes que présentaient les échantillons, un volume d'extrait d'ADN de 5 μl permet une meilleure visualisation des fragments que les autres volumes testés.

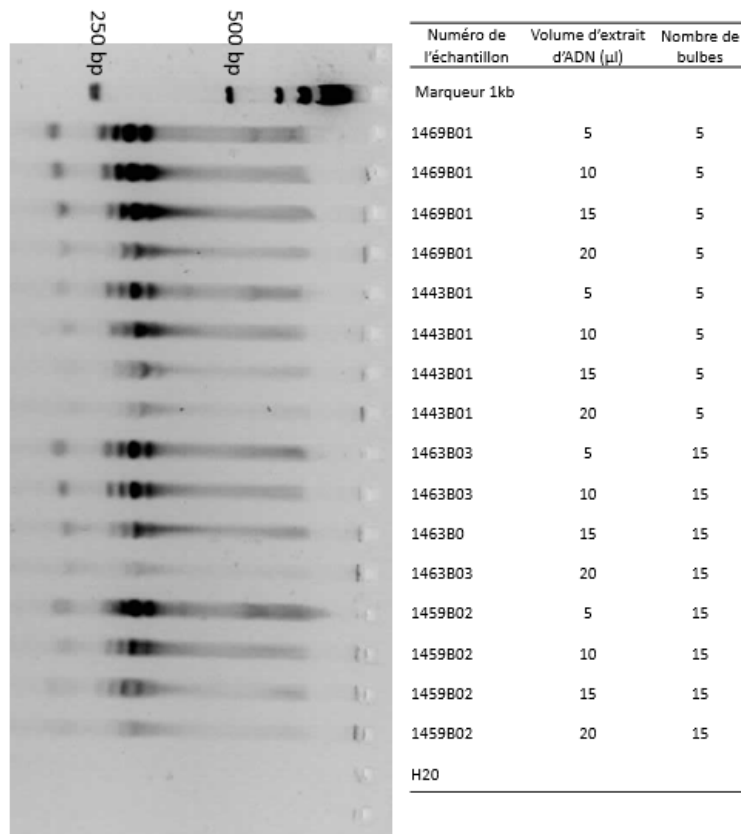
Deuxième essai de protocole de PCR

Suite à ces résultats, un deuxième essai de PCR a été réalisé en gardant les 4 mêmes échantillons, cette fois-ci en testant d'une part des volumes d'extrait d'ADN à 5 μl et à 2,5 μl , et d'autre part des volumes d'amorces à 0,22 μl et à 0,44 μl par amorce par échantillon. Pour cet essai, seuls 4 couples d'amorces ont été testés : F4-R4, F5-R5, Lh4-Lf3 et Lf15926-DLH, afin de mieux visualiser ces bandes. Le mix de réaction a été préparé de manière à avoir par échantillon 25 μl de « QIAGEN multiplex PCR Master mix », 5 μl de mix d'amorces (à 0,22 μl ou 0,44 μl de chaque amorce par échantillon) et de 15 μl d'eau ultra-pure. 45 μl de mix de réaction sont ensuite déposés dans chaque microtube, auxquels on ajoute 5 μl d'extrait d'ADN ou 2,5 μl d'ADN et 2,5 μl d'eau ultra-pure. Les étapes suivantes, à savoir la PCR, la préparation du gel d'agarose et le chargement des produits de PCR, sont similaires à l'essai

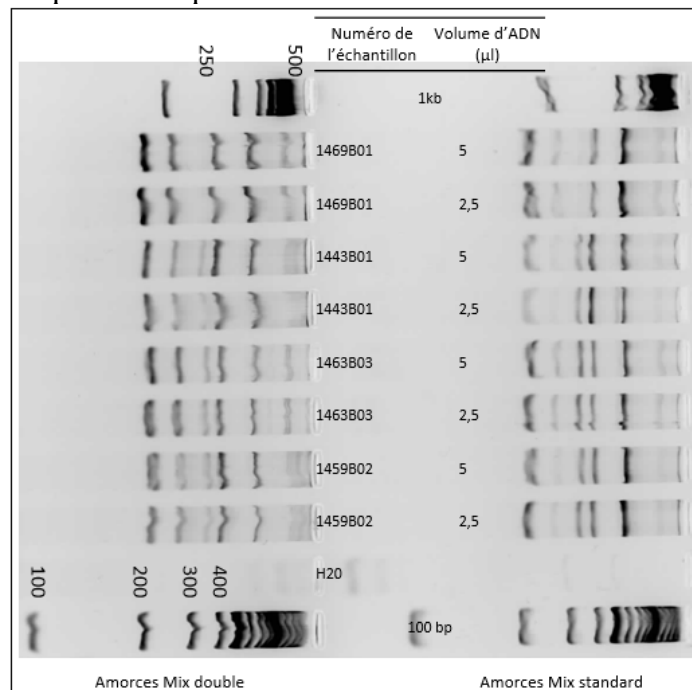
précédent, mis-à-part l'ajout d'un second marqueur de taille « 100 bp » qui permet une distinction plus précise des segments d'ADN ayant migré. Les résultats de la migration sont donnés en figure. Quel que soit le volume d'extrait d'ADN et le volume de chaque amorce, la visualisation des segments d'ADN sur le gel est similaire. Il a donc été décidé de garder des volumes standards de 5 µl d'extrait d'ADN et de 0,2 µl de chaque amorce par échantillon.

Echantillons et volumes d'extrait d'ADN testés lors de la première PCR d'essai.

Echantillon	Nombre de bulbes	Quantité d'extrait d'ADN testée (µl)	Quantité d'H2O complémentaire (µl)
1469B01	5	5	15
		10	10
		15	5
		20	0
		5	15
1443B01	5	10	10
		15	5
		20	0
		5	15
1463B03	15	10	10
		15	5
		20	0
		5	15
1459B02	15	10	10
		15	5
		20	0
		0	20
H2O		0	20

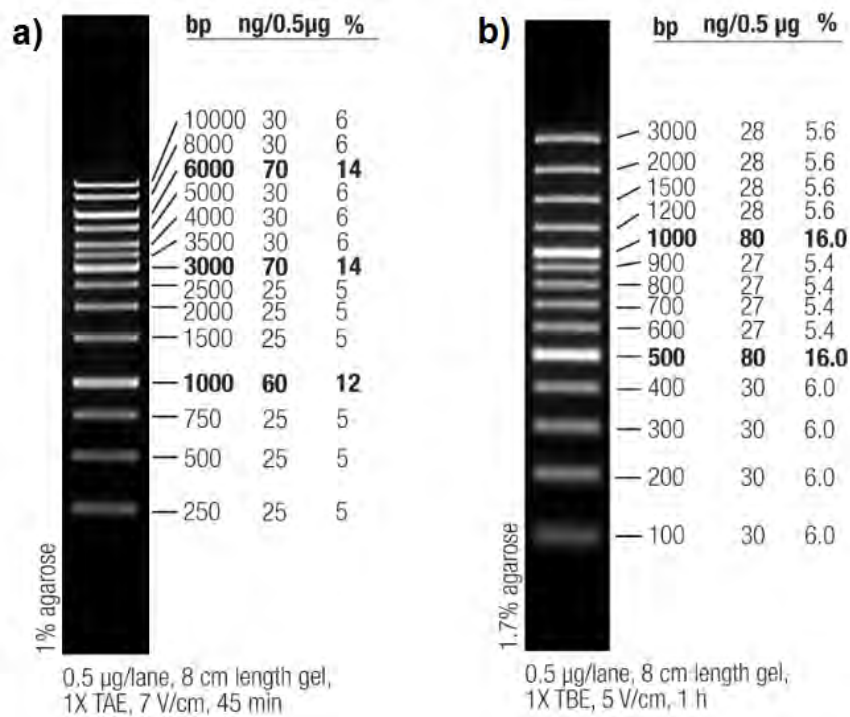


Résultats de la première PCR d'essai après 3h de migration. Elle nous permet de voir qu'un volume d'extrait d'ADN de 5 µl permet une meilleure visualisation des bandes que les autres volumes testés, quelle que soit la quantité de bulbes de l'échantillon.



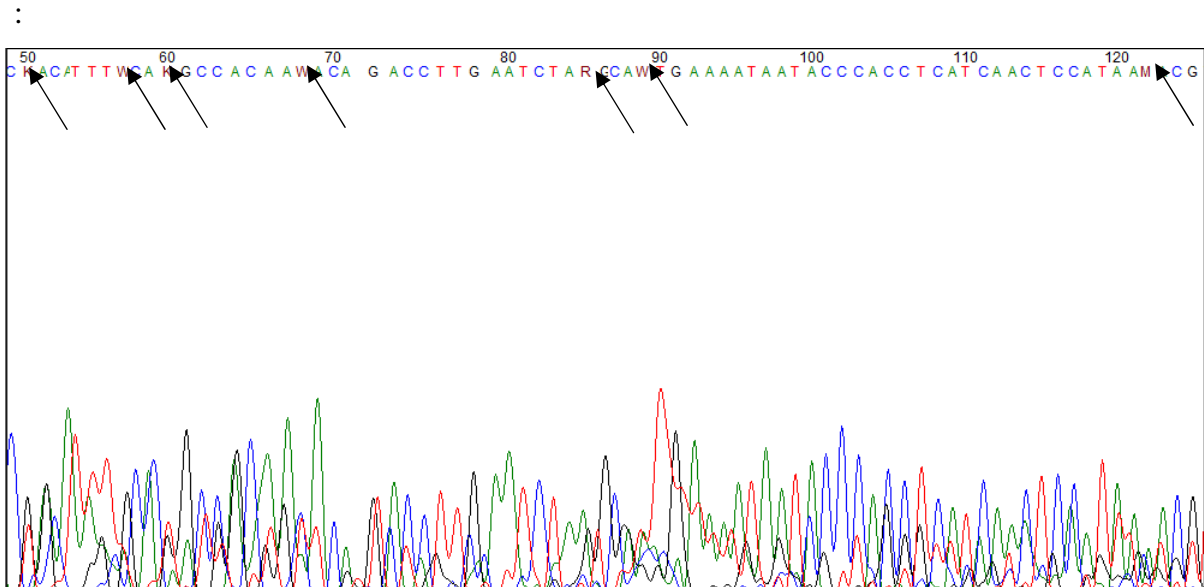
Résultats de la deuxième PCR d'essai après 3h de migration. Quel que soit le volume d'extrait d'ADN et le volume de chaque amorce, la visualisation des segments d'ADN sur le gel est similaire.

Annexe 13 : Marqueurs de taille utilisés lors de la l'électrophorèse sur gel d'agarose.

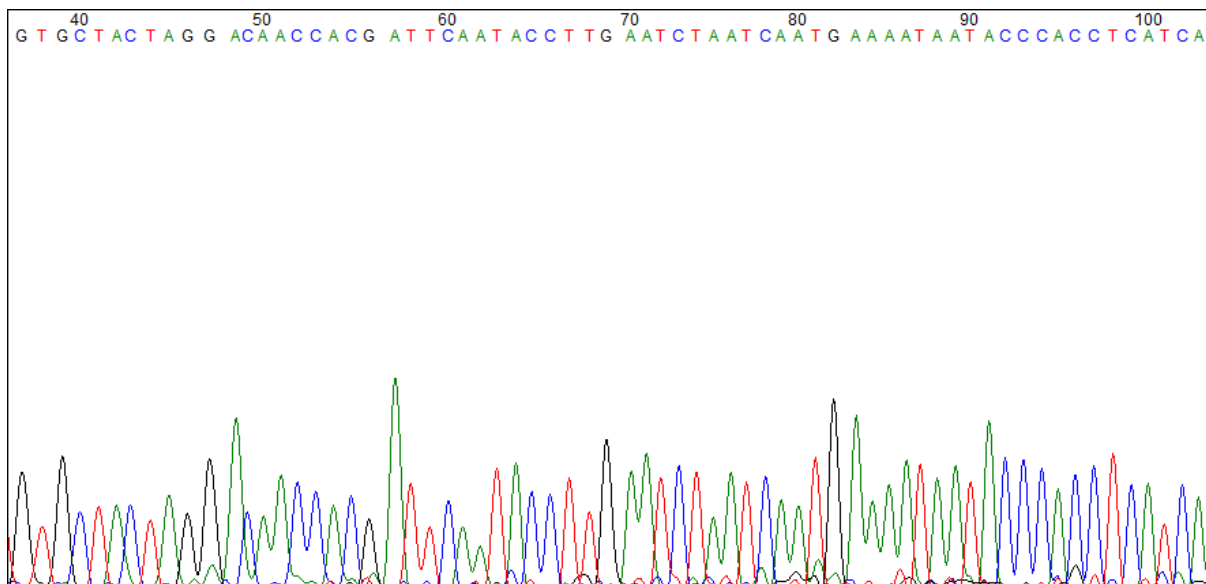


Marqueurs de taille utilisés lors de l'électrophorèse sur gel d'agarose, fournis par Thermo Scientific. a) Marqueur « 1kb » : « GeneRuler 1kb DNA ladder ». b) Marqueur « 100bp » : « GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder ». Les marqueurs de taille nous permettent d'identifier la taille des fragments amplifiés une fois qu'ils ont migré sur le gel d'agarose.

**Annexe 14 : Exemples de qualification des séquences en
« exploitables » ou « non exploitables » après séquençage avec le
logiciel MEGA6.**



Exemple d'une séquence qu'on préfère ne pas exploiter. Chaque pic de couleur correspond à une base A, C, T ou G. Lorsqu'il y a un doute sur la base ou que plusieurs pics se chevauchent, une autre lettre est inscrite (Annexe 15), désignée par une flèche sur la figure. La séquence est visualisée avec le logiciel MEGA6.



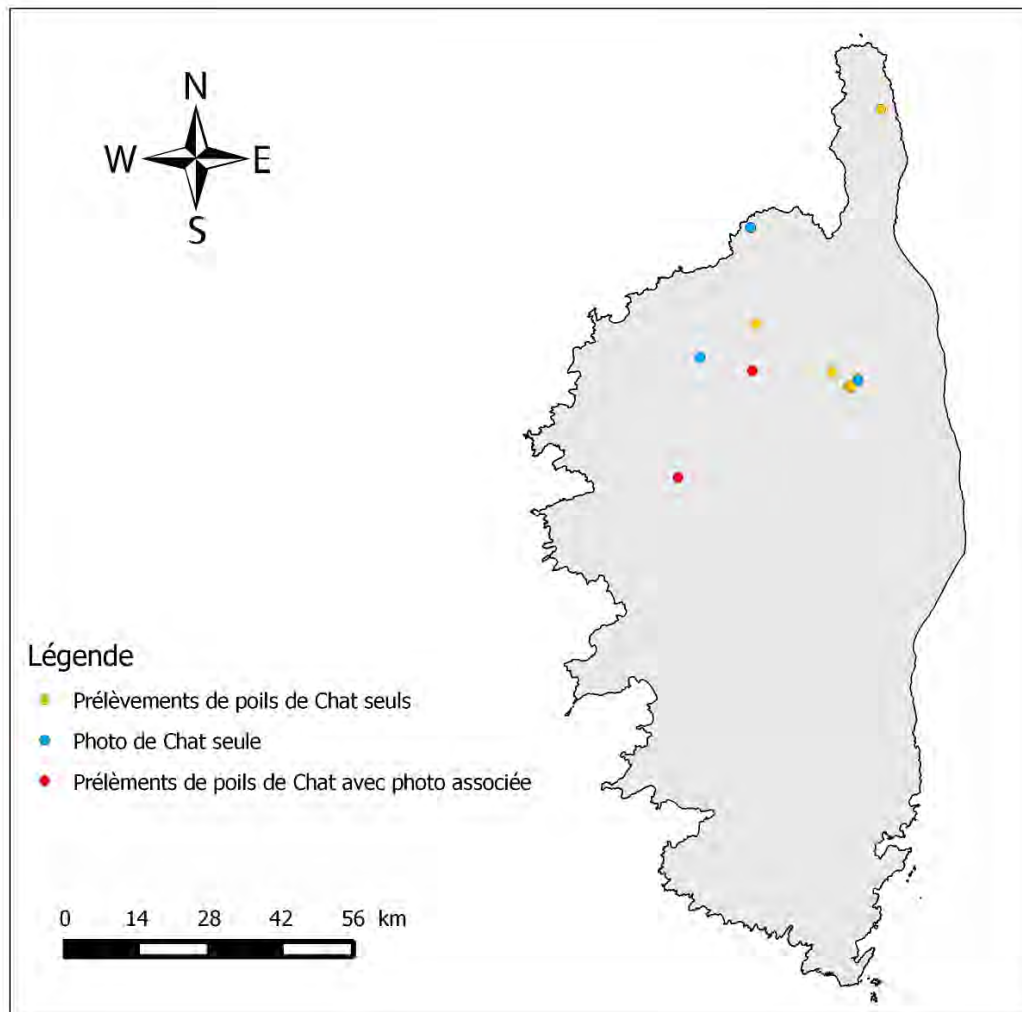
Exemple d'une séquence exploitable. Chaque pic de couleur correspond à une base A, C, T ou G. Les pics sont distincts les uns des autres, il n'y a pas de doute sur l'identité de la base. Si quelques pics se chevauchent sur la séquence, celle-ci reste néanmoins exploitable. La séquence est visualisée avec le logiciel MEGA6.

Annexe 15 : IUPAC single letter codes

« IUPAC single letter codes » (tire de <http://www.megasoftware.net>). Code de lettres utilisé pour corriger les séquences sur MEGA6. Par exemple, lorsqu'un pic A et un pic G se chevauchent, on remplace la lettre de la base par un R.

<u>Symbols</u>	<u>Name</u>	<u>Remarks</u>
DNA/RNA		
A	Adenine	Purine
G	Guanine	Purine
C	Cytosine	Pyrimidine
T	Thymine	Pyrimidine
U	Uracil	Pyrimidine
R	Purine	A or G
Y	Pyrimidine	C or T/U
M		A or C
K		G or T
S	Strong	C or G
W	Weak	A or T
H	Not G	A or C or T
B	Not A	C or G or T
V	Not U/T	A or C or G
D	Not C	A or G or T
N	Ambiguous	A or C or G or T

Annexe 17 : Localisation des pièges positifs pour un prélèvement de Chat et/ou une photo de Chat au phénotype forestier ou tigré.



Localisation des pièges présentant au moins un prélèvement de poils de Chats seul (n=9), des pièges présentant au moins une photo de Chat au phénotype forestier ou tigré (possibilité d'être des hybrides) sans prélèvement associé (n=4) et des pièges présentant au moins un prélèvement de poils de Chat avec photo associée (n=2).

Annexe 18 : Photos de Chats au phénotype « domestique » obtenues.



Photo de Chat au phénotype « domestique », du à la présence de taches blanches, obtenue au piège à poils n°36 (Castagniccia).



Photo de Chat au phénotype « domestique », du à la présence de taches blanches, obtenue au piège à poils n°42 (Castagniccia).

Annexe 19 : Photos de Chats au phénotype « tigré » obtenues



Photos de Chat au phénotype « tigré », obtenues à la même date, au piège n°42 (Castagniccia).



Photos de Chat au phénotype « tigré », obtenues à des dates différentes, au piège n°63 (Basse vallée d'Asco)

Annexe 20 : Photos de Chats au phénotype « forestier » de Corse obtenu.



Photo de Chat au phénotype « forestier » de Corse, obtenue au piège à poils n°14 (RCFS de Tartagine).



Photo de Chat au phénotype « forestier » de Corse, obtenue au piège à poils n°52 (Agriate).



Photos de Chat au phénotype « forestier » de Corse, obtenues à la même date, au piège à poils n°42 (Castagniccia).



Attach 3/30/2014 7:21 PM CuddleTrack



Attach 4/2/2014 5:40 AM CuddleTrack



Attach 5/10/2014 8:46 AM CuddleTrack

Photo de Chat au phénotype « forestier » de Corse, obtenues à des dates différentes, au piège à poils n°56 (Niolo).

Annexe 21 : Echantillons de poils de Chats domestiques de Corse recueillis en 2014.

Liste des échantillons de poils de Chats domestiques de Corse recueillis en 2014 et leur provenance. Tous les Chats prélevés proviennent de particuliers, mis à part l'échantillon 0258 qui a été récupéré sur un Chat domestique (port d'un collier) mort suite à une collision.

Numéro de l'échantillon	Correspondant	Etablissement	Commune provenance	de Département
0291	Dr Anne Guiard-Marigny	Clinique des 4 Portes	20146 Sotta	Corse du Sud
0292	Dr Anne Guiard-Marigny	Clinique des 4 Portes	20144 Ste Lucie de Porto Vecchio	Corse du Sud
0293	Dr Anne Guiard-Marigny	Clinique des 4 Portes	20137 Porto Vecchio	Corse du Sud
0294	Dr Anne Guiard-Marigny	Clinique des 4 Portes	20146 Sotta	Corse du Sud
0295	Dr Anne Guiard-Marigny	Clinique des 4 Portes	20137 Porto Vecchio	Corse du Sud
0296	Dr Anne Guiard-Marigny	Clinique des 4 Portes	20137 Porto Vecchio	Corse du Sud
0297	Dr Anne Guiard-Marigny	Clinique des 4 Portes	20137 Porto Vecchio	Corse du Sud
0298	Dr Anne Guiard-Marigny	Clinique des 4 Portes	20137 Porto Vecchio	Corse du Sud
0299	Dr Anne Guiard-Marigny	Clinique des 4 Portes	20137 Porto Vecchio	Corse du Sud
02100	Dr Anne Guiard-Marigny	Clinique des 4 Portes	20137 Porto Vecchio	Corse du Sud
02101	Dr Anne Guiard-Marigny	Clinique des 4 Portes	20137 Porto Vecchio	Corse du Sud
02154	Dr Marc Memmi	Clinique du Golo	20218 Asco	Haute-Corse
02155	Dr Marc Memmi	Clinique du Golo	20218 Moltifao	Haute-Corse
02156	Dr Marc Memmi	Clinique du Golo	20218 Ponte Leccia	Haute-Corse
02157	Dr Claud D'Angeli	Clinique de l'Orta	20242 Noceta	Haute-Corse
02158	Dr Claud D'Angeli	Clinique de l'Orta	20250 Corte	Haute-Corse
02159	Dr Claud D'Angeli	Clinique de l'Orta	20219 Muracciole	Haute-Corse
02160	Dr Claud D'Angeli	Clinique de l'Orta	20219 Muracciole	Haute-Corse
02161	Dr Claud D'Angeli	Clinique de l'Orta	20219 Muracciole	Haute-Corse
02162	Dr Claud D'Angeli	Clinique de l'Orta	20251 Altiani	Haute-Corse
02163	Dr Claud D'Angeli	Clinique de l'Orta	20231 Venaco	Haute-Corse
02164	Dr Claud D'Angeli	Clinique de l'Orta	20218 Moltifao	Haute-Corse
02165	Dr Claud D'Angeli	Clinique de l'Orta	20250 Corte	Haute-Corse
02167	Dr Bernard Fabrizy	Clinique Lupino	20270 Aléria	Haute-Corse
02168	Dr Bernard Fabrizy	Clinique Lupino	20290 Borgo	Haute-Corse
02169	Dr Bernard Fabrizy	Clinique Lupino	20200 Bastia	Haute-Corse
02170	Dr Bernard Fabrizy	Clinique Lupino	20290 Borgo	Haute-Corse
02171	Dr Bernard Fabrizy	Clinique Lupino	20200 Bastia	Haute-Corse
0250	Olivier Granger	ONCFS	20219 Castifao	Haute-Corse
0258	Pierre Benedetti	ONCFS	20218 Moltifao	Haute-Corse
02105	Frédéric Sanchis	ONCFS	20218 Moltifao	Haute-Corse
02124	Frédéric Cervetti et Fanny Dens	ONCFS	20218 Moltifao	Haute-Corse
02125	Frédéric Cervetti et Fanny Dens	ONCFS	20218 Moltifao	Haute-Corse

02129	Frédéric Sanchis	ONCFS	20218 Piedigriggio	Haute-Corse
02166	Valérie Grisoni	ONCFS	20218 Moltifao	Haute-Corse

Annexe 22 : Listes des échantillons traités.

Liste des échantillons de Chats potentiellement forestiers analysés en 2014. Le suffixe « _F7 » au numéro des prélèvements désigne le couple d'amorces 7. La dénomination « Chat potentiel » désigne des poils issus de pièges à poils n'étant pas avec certitude des poils de Chat. Les échantillons analysés sont ceux pour lesquelles les séquences obtenues ont pu être exploitées.

Nature des poils	Echantillons ayant subis la PCR	Echantillons séquencés	Echantillons analysés
Chat avec certitude issu d'un piège à poils	0239_F7		
Chat avec certitude issu d'un piège à poils	0246_F7		
Chat avec certitude issu d'un piège à poils	0257_F7		
Chat avec certitude issu d'un piège à poils	0264_F7	0264_F7	0264_F7
Chat avec certitude issu d'un piège à poils	0268_F7	0268_F7	0268_F7
Chat avec certitude issu d'un piège à poils	0277_F7		
Chat avec certitude issu d'un piège à poils	0284_F7		
Chat avec certitude issu d'un piège à poils	0290_F7		
Chat avec certitude issu d'un piège à poils	02120_F7		
Chat avec certitude issu d'un piège à poils	02134_F7		
Chat avec certitude issu d'un piège à poils	02135_F7		
Chat avec certitude issu d'un piège à poils	02139_F7		
Chat avec certitude issu d'un piège à poils	02140_F7		
Chat avec certitude issu d'un piège à poils	02141_F7		
Chat avec certitude issu d'un piège à poils	0235_F7	0235_F7	0235_F7
Chat issu de cadavre	0227_F7	0227_F7	0227_F7
Chat issu de cadavre	0228_F7	0228_F7	0228_F7
Chat issu de cadavre	02102_F7	02102_F7	02102_F7
Chat issu de cadavre	02173_F7	02173_F7	02173_F7
Chat potentiel	0232_F7		
Chat potentiel	0240_F7	0240_F7	0240_F7
Chat potentiel	0245_F7	0245_F7	
Chat potentiel	0252_F7		
Chat potentiel	0260_F7		
Chat potentiel	0280_F7		

Total	24	9	8
--------------	-----------	----------	----------

Liste des échantillons de Chats forestiers analysés en 2014. Le suffixe « _F7 » au numéro des prélèvements désigne le couple d'amorces 7. Les échantillons analysés sont ceux pour lesquelles les séquences obtenues ont pu être exploitées.

Nature des poils	Echantillons ayant subis la PCR	Echantillons séquencés	Echantillons analysés
Chat domestique	0250_F7	0250_F7	0250_F7
Chat domestique	0258_F7	0258_F7	0258_F7
Chat domestique	0291_F7	0291_F7	0291_F7
Chat domestique	0292_F7	0292_F7	0292_F7
Chat domestique	0293_F7	0293_F7	0293_F7
Chat domestique	0294_F7	0294_F7	0294_F7
Chat domestique	0295_F7	0295_F7	0295_F7
Chat domestique	0296_F7	0296_F7	0296_F7
Chat domestique	0297_F7	0297_F7	0297_F7
Chat domestique	0298_F7	0298_F7	0298_F7
Chat domestique	0299_F7	0299_F7	0299_F7
Chat domestique	02100_F7	02100_F7	02100_F7
Chat domestique	02101_F7	02101_F7	02101_F7
Chat domestique	02105_F7	02105_F7	02105_F7
Chat domestique	02124_F7	02124_F7	02124_F7
Chat domestique	02125_F7	02125_F7	02125_F7
Chat domestique	02129_F7	02129_F7	02129_F7
Chat domestique	02154_F7	02154_F7	02154_F7
Chat domestique	02155_F7	02155_F7	02155_F7
Chat domestique	02156_F7	02156_F7	02156_F7
Chat domestique	02157_F7	02157_F7	02157_F7
Chat domestique	02158_F7	02158_F7	02158_F7
Chat domestique	02159_F7	02159_F7	02159_F7
Chat domestique	02160_F7	02160_F7	02160_F7
Chat domestique	02161_F7	02161_F7	02161_F7
Chat domestique	02162_F7	02162_F7	02162_F7
Chat domestique	02163_F7	02163_F7	02163_F7
Chat domestique	02164_F7	02164_F7	02164_F7
Chat domestique	02165_F7	02165_F7	02165_F7
Chat domestique	02166_F7	02166_F7	02166_F7
Chat domestique	02167_F7	02167_F7	02167_F7
Chat domestique	02168_F7	02168_F7	02168_F7
Chat domestique	02170_F7	02170_F7	02170_F7
Chat domestique	02171_F7	02171_F7	02171_F7
Total	34	34	34

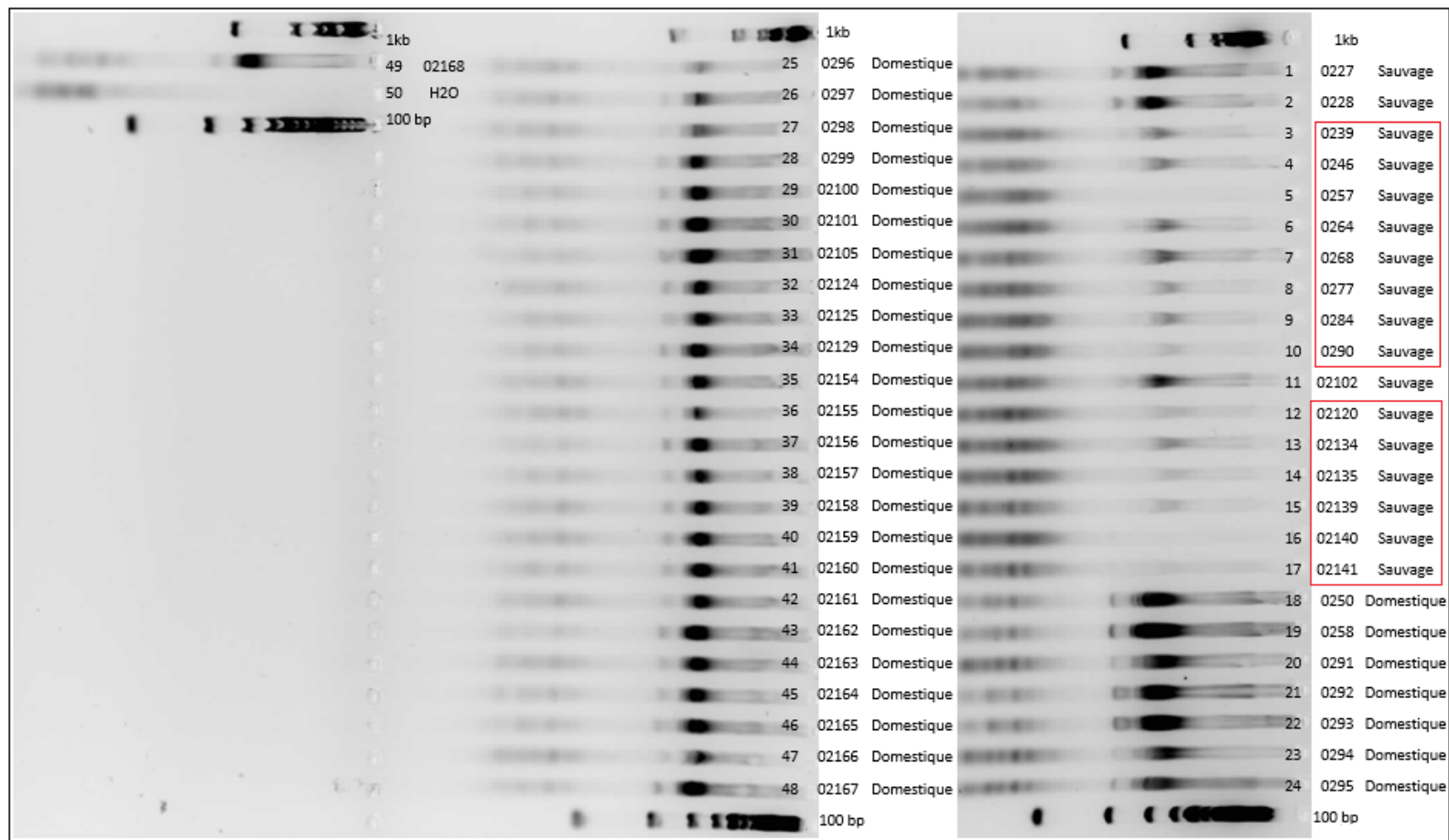
Liste des échantillons de Chats potentiellement forestiers analysés en 2012. Le suffixe « _F7 » au numéro des prélèvements désigne le couple d'amorces 7. Les échantillons analysés sont ceux pour lesquelles les séquences obtenues ont pu être exploitées.

Nature des poils	Echantillons ayant subis la PCR	Echantillons séquencés	Echantillons analysés
Chat extrait en 2012	0223_F7	0223_F7	0223_F7
Chat extrait en 2012	021_F7	021_F7	021_F7
Chat extrait en 2012	0217_F7	0217_F7	0217_F7
Chat extrait en 2012	CRN200_F7	CRN200_F7	CRN200_F7
Chat extrait en 2012	0219_F7	0219_F7	0219_F7
Chat extrait en 2012	0216_F7	0216_F7	0216_F7
Chat extrait en 2012	C19_F7	C19_F7	C19_F7
Chat extrait en 2012	022_F7	022_F7	022_F7
Chat extrait en 2012	027_F7	027_F7	027_F7
Chat extrait en 2012	0212_F7	0212_F7	0212_F7
Chat extrait en 2012	0220_F7	0220_F7	
Chat extrait en 2012	0226_F7		
Chat extrait en 2012	0222_F7		
Chat extrait en 2012	0225_F7	0225_F7	0225_F7
Chat extrait en 2012	0222_F7	0222_F7	
Chat extrait en 2012	0214_F7	0214_F7	0214_F7
Chat extrait en 2012	C20_F7	C20_F7	C20_F7
Chat extrait en 2012	C24_F7		
Chat extrait en 2012	C25_F7	C25_F7	C25_F7
Chat extrait en 2012	0213_F7	0213_F7	0213_F7
Chat extrait en 2012	0210_F7		
Total	21	17	16

Liste des échantillons qualifiés de « douteux » analysés en 2014. Le suffixe « _F7 » au numéro des prélèvements désigne le couple d'amorces 7. Aucun de ces échantillons ne s'est révélé appartenir à l'espèce *Felis silvestris* et n'ont donc pas été séquencés.

Nature des poils	Echantillons ayant subis la PCR	Echantillons séquencés	Echantillons analysés
Douteux	0237_F7		
Douteux	0241_F7		
Douteux	0285_F7		
Douteux	02114_F7		
Douteux	02143_F7		
Douteux	02187_F7		
Douteux	02113_F7		
Douteux	02121_F7		
Douteux	02126_F7		
Douteux	02131_F7		
Douteux	02137_F7		
Douteux	02138_F7		
Douteux	02144_F7		
Douteux	02185_F7		
Douteux	02179_F7		
Douteux	02186_F7		
Total	16	0	0

Annexe 23 : Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose de la PCR réalisée.



Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose réalisée. Les échantillons de poils de Chat domestiques sont désignés par « Domestique ». Les échantillons de poils de Chat potentiellement sauvage de 2014 sont notés « Sauvage ». Les échantillons de poils issus des pièges à poils en 2014 sont entourés en rouge.



Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose réalisée. Les échantillons de poils de Chat domestiques sont désignés par « Domestique ». Les échantillons de poils de Chat potentiellement sauvage de 2014 et 2013 sont notés « Sauvage ». Les échantillons potentiellement de Chat sont notés « Chat ? ». Les échantillons analysés en microsatellites en 2012/2013 sont notés « Chat 2012 ». Les échantillons de poils issus des pièges à poils en 2014 et 2013 sont entourés en rouge.