



Ligue pour la Protection des Oiseaux

MNEI – 5, place Bir-Hakeim – 38000 GRENOBLE

Tél. : 04 76 51 78 03 – Fax : 04 76 51 24 66 isere@lpo.fr – www.isere.lpo.fr

ISÈRE

**SUIVI DES STATIONS
DE GÉLINOTTE DES BOIS *BONASA BONASIA***

**RÉSERVE NATURELLE NATIONALE
DES HAUTS DE CHARTREUSE**

SUIVI 2006 - 2009

Mars 2010

Maître d'ouvrage

DIREN

208 bis, rue Garibaldi

69422 LYON Cedex 03



Direction Régionale de l'Environnement
RHÔNE-ALPES

Étude réalisée par la :

Ligue pour la Protection des Oiseaux Isère

MNEI – 5, place Bir-Hakeim – 38000 GRENOBLE

Tél. : 04 76 51 78 03 – Fax : 04 76 51 24 66 – isere@lpo.fr – www.isere.lpo.fr

Coordination / rédaction : David Loose, chargé d'études

Relevés de terrain : 2006 : S. Bridelance (technicien de terrain), P. Del Guerra, G. Goujon, J. Prévost, C. Rolland, M. Viguié

2007 : J. Lucas (technicien de terrain), J. Prévost

2008 & 2009 : J. Lucas (technicien de terrain)

Relecture : Jean-Marc Taupiac, directeur

SUIVI DES STATIONS

DE GÉLINOTTE DES BOIS *BONASA BONASIA*

RÉSERVE NATURELLE DES HAUTS DE CHARTREUSE

SUIVIS 2006 - 2009

Mars 2010

Remerciements : J. Bailly (RNHPC), P. Léonard (ONCFS-CNERA), Y. Magnani (ONCFS - OGM), M. Montadert (Univ. Franche Comté) ainsi qu'à tous les naturalistes qui se sont investis dans cette expertise. Qu'ils soient ici vivement remerciés.

Sommaire

Résumé.....	4
Introduction.....	5
État des connaissances.....	6
Approche bibliographique.....	6
Consultation des organismes.....	7
Méthodologie.....	10
Rappel.....	10
Choix de l'échantillonnage.....	10
Résultats 2006 - 2009.....	12
Discussion.....	21
Conclusion.....	22
Bibliographie.....	23
Annexes.....	25
Formation des observateurs.....	25
Informations complémentaires (« favorabilité »).....	26
Étude génétique : protocole et résultats.....	27

Résumé

La gélinotte des bois, d'après la bibliographie et la consultation des organismes compétents, est une espèce bien répartie en Chartreuse, et ce depuis longtemps. Cependant, les tendances d'évolution et les secteurs les plus favorables ne sont pas ou peu connus. Un inventaire et suivi de la gélinotte des bois a donc été mis en place en 2006 (Loose *et al.*, 2006) en bordure de la Réserve naturelle nationale des hauts de Chartreuse sur la base méthodologique proposée par Montadert *et al.*, 2006. Les premières prospections ont été organisées cette même année et le suivi a été réalisé jusqu'en 2009. Ce rapport reprend et met en perspective les résultats de ces quatre années de suivi.

Huit secteurs ont été échantillonnés durant la période d'études, soit près de 800 points différents de recherche et 1 400 avec les répétitions (certains sites ont été prospectés chaque année). Enfin, un protocole de récolte de crottes pour analyses génétiques a été appliqué en 2008 et 2009.

Hormis pour un site, l'objectif de suivi des tendances d'évolution semble difficile à assurer, mais les données récoltées interpellent sur la faiblesse probable des populations de gélinotte sur les secteurs prospectés et constituent un référentiel important pour l'avenir.

Introduction

La gélinotte des bois est une espèce réputée comme étant un bon indicateur d'une gestion forestière favorable à la biodiversité.

Sa présence sur la Réserve naturelle nationale des Hauts de Chartreuse et sa proche périphérie est connue, mais les données sont peu nombreuses et ne permettent donc pas une analyse pertinente pour une prise en compte volontariste dans une politique de gestion forestière.

Outre la Réserve naturelle, le territoire pris en compte est en partie intégré dans le site I20 retenu dans le cadre de la constitution du réseau Natura 2000 sous l'appellation « landes, pelouses, forêts remarquables et habitats rocheux des hauts de Chartreuse et de leurs versants ».

Pour ces différentes raisons, la DIREN Rhône-Alpes et le Conservateur de la Réserve ont souhaité mettre en place un inventaire et un suivi de cette espèce sur le territoire de la Réserve et de ses abords afin de favoriser une meilleure prise en compte de l'espèce dans la gestion des forêts de Chartreuse. Ce travail s'est étendu sur une période de quatre années : 2006, 2007, 2008 et 2009.

Les bases méthodologiques retenues proviennent des travaux de l'ONCFS, et ont été publiées récemment (Montadert *et al*, 2006).

Les sites, ont été sélectionnés en 2006 par la Réserve en fonction des milieux représentés et de leur proximité avec la Réserve. En 2007, de nouveaux sites ont été prospectés en raison des résultats partiellement décevants de 2006. En 2008 deux sites ont été changés et sont issus d'un tirage aléatoire, les deux autres constituant les sites de suivi de tendance à long terme. De plus, un test de la méthode par étude génétique des crottes a été mis en place et réitéré en 2009 sur deux sites.

État des connaissances

Approche bibliographique

Une première approche est possible par l'analyse de la bibliographie, ce que nous avons réalisé en nous limitant aux principales publications (synthèses) ou à celles spécifiques au massif de la Chartreuse.

La synthèse des connaissances du 19^{ème} et début du 20^{ème} siècle a été réalisée par Corti U. A. (1961). La gélinotte y est notée comme commune et répandue en Isère, bien qu'en baisse notable. Curieusement, alors que l'auteur cite abondamment des données de toutes les régions montagneuses de l'Isère, le commentaire est laconique pour la Chartreuse, se bornant à noter sa présence.

Publié dans sa première édition peu après, l'ouvrage de Couturier (1981) cite de nombreux lieux-dits de présence de l'espèce en Chartreuse et considère qu'elle est présente un peu partout entre 900 et 1 500 m d'altitude.

Le premier atlas du CORA (Lebreton, 1977), permet d'avoir une vue synthétique à l'échelle du massif, qui correspond à un district naturel, soit l'unité géographique retenue pour la cartographie des oiseaux dans cet ouvrage. La Chartreuse y est le seul district où l'espèce est considérée comme régulière et répandue. Cela semble également le cas si l'on analyse la carte de répartition du dernier atlas des oiseaux nicheurs de Rhône-Alpes (CORA, 2003) en l'absence de commentaire spécifique sur le massif de la Chartreuse.

Parmi les rares publications faisant le point sur l'avifaune de Chartreuse, celle de Ariagno D. & Noblet J.-F. (1978) fait référence. Les auteurs considèrent la gélinotte comme sédentaire et commune en Chartreuse à partir de 900 m d'altitude et y trouvant son optimum écologique.

Plus spécifique à notre zone de travail, l'étude préalable à la création de la Réserve des hauts de Chartreuse a été réalisée par Drillat B. & Villaret J.-C. (1989). La gélinotte y est citée nicheuse et « assez bien distribuée sur tout le pourtour des hauts plateaux à partir de 900 m d'altitude et jusqu'au pied de la falaise ».

Une étude spécifique sur la gélinotte et l'hétérogénéité forestière en chartreuse a été réalisée (Rothstein, 1998) dans une région à l'ouest du secteur d'études. Une faible densité de gélinotte a été relevée, et les principales caractéristiques de structures verticales et horizontales ont été analysées. Ce travail comporte également des recommandations de gestion forestière favorable à l'espèce.

Enfin, une synthèse des données de la base du CORA Isère, a été publiée par Goubert A. (2000). Elle met en évidence la présence assez large de la gélinotte dans le massif, ainsi que celui du Vercors. Dans la même revue, consacrée aux galliformes de montagne, une comparaison à l'échelle des districts entre le nouveau et l'ancien atlas des oiseaux de Rhône-Alpes est présenté par la rédaction. Ces nouvelles cartes n'apportent cependant pas de nouvelles informations à l'échelle du massif étudié.

Consultation des organismes

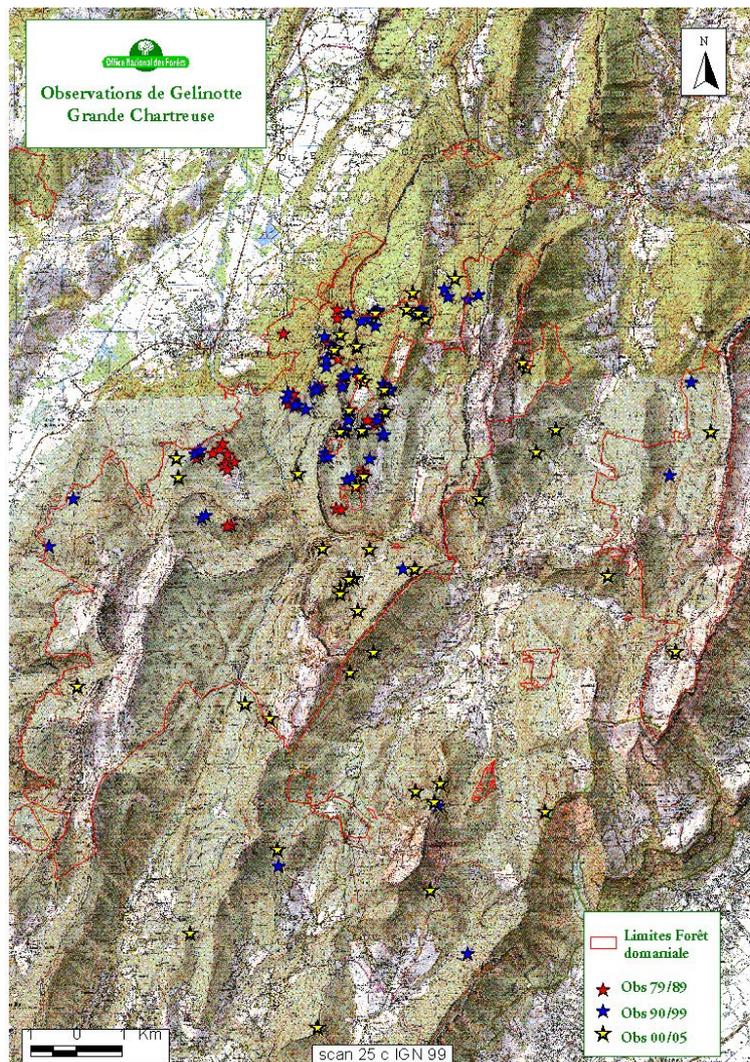
Autres sources d'informations, les associations naturalistes et de chasse que nous avons consultées.

Du côté de la Savoie, la fédération départementale des chasseurs et le CORA Savoie nous ont fait savoir qu'ils ne disposaient pas d'études ou de données particulières concernant l'espèce en Chartreuse.

Concernant l'Isère, les données du CORA Isère peuvent être consultées de façon synthétique sur le site [http://www.isere.lpo.fr/php/commune_espece.php?codlat=BONBON&type_carte=Evolution&espece=G%E9linotte_des_bois_%28Bonasia_bonasia_%28L.\)\)](http://www.isere.lpo.fr/php/commune_espece.php?codlat=BONBON&type_carte=Evolution&espece=G%E9linotte_des_bois_%28Bonasia_bonasia_%28L.))) . La cartographie permet de constater sa présence en Chartreuse, mais le nombre de données est faible (un peu plus de 80 actuellement informatisé pour toute l'Isère) et traduit la difficulté d'observation de l'espèce ainsi que le manque de personnes formées au relevé de ses traces. On notera le déficit d'observations en septembre et octobre ainsi que la légère recrudescence en mars et avril. Pour le reste, le nombre d'observations suit globalement la pression d'observation toutes espèces confondues. Le pic d'observation noté en 1987 correspond à un effet « observateur ».

D'autre part, nous n'avons pas reçu d'autres éléments de la part de la Fédération départementale des chasseurs de l'Isère qui travaille avec l'OGM – voire ci-dessous.

Du côté des acteurs forestiers, nous n'avons pas reçu de réponse de la part de l'Office National des Forêts de Savoie. L'ONF Isère a fourni une cartographie (ci-contre) des données en sa possession. Cette carte présente très certainement un fort biais observateur. Cependant, on notera la présence de l'espèce sur un des secteurs retenus pour la réalisation du suivi en 2006.



Le Centre Régional de la Propriété Forestière, quand à lui, nous a indiqué ne pas disposer de données.

L'Observatoire des galliformes de montagne (OGM) permet de centraliser les informations concernant ces espèces, d'organiser des recensements ainsi que diverses études.

Nous avons donc commandé un rapport (Duchaussoy-Curt T., 2006) sur l'état des connaissances sur la gélinotte des bois en Chartreuse à cet organisme. Les informations sont principalement basées sur les résultats d'enquêtes communales dont la référence concerne la décennie 1950 établis sur la base des données publiées par Couturier (1964). Trois mises à jour relatives aux décennies 1970, 1980 et 1990 sont disponibles et une autre est en cours

Les résultats indiquent que l'espèce est encore largement répartie sur tout le massif et que son aire de présence a peu évolué depuis les années 1950. Aucune estimation d'effectif n'est disponible pour le massif.

Les informations provenant de la Réserve sont celles figurant dans le dernier plan de gestion (Muraz *et al*, 2006).

Le statut de l'espèce et les données disponibles sont synthétisés dans un tableau figurant en annexe :

« Notée fréquente dans l'étude CARENE, peu d'observations récentes. En 2004, 2 contacts (traces) secteur entre Pratcel et Alpette de la Dame. Observation même secteur + La Plagne. En 10/2005, 1 mâle vers col du Granier. Le 04/09/05 1 nichée à Malissard (S.PARMENTIER comm.pers.). Tableaux de chasse nuls, 1 nichée signalée vers la Scia, hors RN, J. GERARD (comm.pers) et forêt du Bresson, hors RN, C. DODE (comm. pers.). Absente d'une partie du subalpin. Espèce à rechercher, suivi à programmer. Plan de chasse en RN : 1 seule demande en Savoie. »

Dans le plan de gestion même, la gélinotte fait l'objet d'une fiche complète que nous reproduisons ci-après :

« La gélinotte des bois
- Habitat

La faible fréquence des observations et l'absence de suivi spécifique ne permettent pas de caractériser précisément les habitats préférentiels de l'espèce en Chartreuse, ni de connaître sa répartition, le niveau et les tendances de la population. Bien qu'occupant également des forêts de plaine, la gélinotte s'est en partie repliée aux cours des dernières décennies dans les habitats de montagne. Généralement, son habitat est constitué de stades forestiers de transition comportant une forte diversité d'arbustes à baies et akènes, avec présence d'une strate herbacée : trouées forestières de régénération (chablis, coupes), taillis, lisières d'alpages et pré-bois. Dans la Réserve Naturelle, les quelques données récentes se situent entre 1 100 m et 1 500 m, principalement en hêtraie sapinière mixte sur les flancs mais aussi sur une petite partie des pessières subalpines. Elle semble curieusement absente de la pessière de l'Aulp du Seuil, alors qu'elle est citée anciennement par des chasseurs sous les rochers de l'Alpe, entre 1 600 m et 1 800 m (Sibut P., 1990). - Aire de présence et abondance (sources OGM) L'espèce occupe les massifs montagneux de l'Est de la France, les forêts de l'Ouest de la Scandinavie et la Sibérie. En France, 85 % de l'aire de répartition sont aujourd'hui concentrés sur les Alpes, le Jura et les

Vosges ; cette aire rapportée aux surfaces communales s'est réduite de 40 % depuis 1960. La population française est estimée à environ 10 000 adultes. La région Rhône-Alpes en abriterait 5 000 (50 %) dont 1 000 en Isère. - Tendances des effectifs (sources OGM) Les indicateurs démographiques étant encore peu développés, les tendances sont surtout évaluées en terme d'aires de présence. La régression est donc forte sur les stations de basse altitude. Les 7 sites alpins et préalpins de référence pour la tendance des effectifs (comptages au chant) montrent une stabilité relative. Un autre indicateur préoccupant réside dans la faiblesse des tableaux de chasse, voire en Chartreuse, l'arrêt de la chasse dans de nombreuses communes (de fait ou par décision des détenteurs) et ce en l'absence de fermeture départementale.

- Statut et priorités de conservation

L'espèce est en forte régression dans la plupart des pays européens. Si elle n'a pas été jugée en déclin à l'échelle du continent (Tucker GM., Heath MF., 1995) du fait du poids de la population russe dans l'évaluation, l'espèce est toutefois à considérer localement comme potentiellement menacée. En France, elle est en déclin. L'effectif nicheur est inférieur ou égal à 10 000 mâles chanteurs, en diminution probable de 20 à 50 % depuis les années 1970 (Rocamora G., Yeatman-Berthelot D., 1999). - Facteurs susceptibles

d'influencer la démographie

1. Modes de sylviculture

En Chartreuse, la gestion en futaie irrégulière semble globalement favorable à l'espèce ; on observe cependant une tendance à l'homogénéisation des classes d'ages et à un enrésinement par sélection favorisant l'épicéa, d'où une densification du couvert et un appauvrissement de la strate arbustive et herbacée. Localement, les travaux de dépressage et de suppression des feuillus « adventices » (sorbier, bouleau, alisier) contribuent à appauvrir l'habitat et la ressource alimentaire. Les coupes forestières contribuent sans doute à diversifier les stades de régénération. Pour autant, la plupart des travaux sont effectués en période de nidification, aucune étude n'existant sur l'évaluation de l'impact des travaux forestiers. L'impact de la densification du réseau de routes de desserte forestière et de l'augmentation de la fréquentation qui en résulte serait également à prendre en compte.

2. chasse

- Statut cynégétique en Rhône-Alpes

La chasse est fermée dans la Drôme et un plan de chasse sans attribution existe dans l'Ain. En Isère, Savoie et Haute-Savoie la chasse ne fait pas l'objet d'une réglementation particulière hormis la période de chasse (de 25 à 45 jours).

- Statut cynégétique dans la Réserve

Naturelle

Pour la plupart des sociétés de chasse, le territoire de chasse pour cette espèce n'est pas majoritairement situé en Réserve Naturelle (la forêt montagnarde étant peu représentée dans le périmètre), mais localement des territoires de chasse propices existent. D'après le décret de création (Cf. annexe n°1 : Décret n°97-905 du 1er octobre 1997, article 9), la gélinotte des bois doit bénéficier d'un plan de chasse réglementaire avec un dispositif de marquage par bracelet individuel sur la

Réserve Naturelle. Actuellement, seul le département de la Savoie met en oeuvre ce dispositif (2 oiseaux en 2005). Il est nécessaire d'étendre ce marquage sur la partie iséroise de la Réserve Naturelle. Localement, certaines sociétés ont fermé la chasse dans leur règlement intérieur ou seraient favorables à une fermeture départementale de l'espèce.

- Prélèvements

D'après les données recueillies par les Fédérations Départementales des Chasseurs au travers des carnets de

prélèvements, l'effectif chassé serait anecdotique (50 oiseaux annuels pour Rhône-Alpes).

En conclusion, même si la Réserve Naturelle n'est concernée territorialement que sur ses bordures, l'espèce doit faire prioritairement l'objet d'un suivi permettant de comparer les densités et les tendances avec les autres massifs où l'espèce est présente. Une attention particulière doit être apportée aux pratiques et aux modes de gestion sylvicoles susceptibles d'influencer la démographie de l'espèce. »

Enfin, l'action SE16 du plan de gestion 2006-2011 correspond au présent travail.

Il ressort de l'ensemble de ces différentes références bibliographiques que l'espèce a toujours été présente sur la massif, sans doute avec des fluctuations liées aux conditions d'exploitation forestière. Mais à cette régularité des observations s'oppose le faible nombre de données et le manque d'études spécifiques qui permettraient de préciser son statut et d'affiner sa distribution sur des bases (semi) quantitatives.

Méthodologie

Rappel

Appliqué à partir de 2003 (après un premier essai en 2001) et publié récemment (Montadert *et al*, 2006), le protocole retenu vise à obtenir un indice d'abondance pour suivre les tendances inter-annuelles sur un même site et comparer les niveaux d'abondances entre sites.

La méthode est basée sur la recherche d'indices de présence selon un échantillonnage systématique sur 100 cercles d'un rayon maximal de 20 mètres, disposés régulièrement selon un espacement de 200 mètres. La recherche de crottes s'effectue en s'éloignant circulairement du point central. La recherche s'arrête avec la découverte de la première crotte récente ou fraîche.

L'indice de présence sur placette circulaire (IPPC) est un indice d'abondance égal à la fréquence des placettes positives. Afin de correctement appliquer la méthodologie, une formation animée par M. Montadert a été suivie (annexe 1).

Choix de l'échantillonnage

En 2006, quatre zones d'études ont été définies par la Réserve . Afin de déterminer l'emplacement des 100 points à l'intérieur de chaque zone, nous avons appliqué une grille d'un pas de 200 m, basée sur les coordonnées géographiques du système UTM WGS84.

Ce choix a été dicté par le souci d'avoir une bonne correspondance entre les outils utilisés sur le terrain, que sont les cartes IGN au 1/25000 (et qui comportent un quadrillage bleu kilométrique de ce référentiel) et le GPS dans lequel les coordonnées ont été stockées.

Cela facilite la lecture et le repérage sur le terrain, et reporte au bureau les manipulations sur Système d'information géographique (SIG) sur lequel l'ensemble des informations sont transposées en coordonnées Lambert II étendu, compatible avec les fichiers (fonds de cartes, orthophotos...) de l'IGN ou les données mises en ligne par la DIREN Rhône-Alpes (limites de réserves, de parcs...).

La grille a été appliquée à l'ensemble de la chartreuse, ce qui permet de disposer d'un carroyage à l'échelle de ce massif sans risque de redondance sur la numérotation des points et ce dans l'éventualité de nouvelles zones de recherche.

Les quatre zones d'étude de 2006 avaient été disposées en bordure de la réserve, deux du côté est et deux du côté ouest.

En raison des résultats décevants de 2006, deux sites ont été supprimés en 2007 (« Lanches Clarets » et « Saint-Hilaire ») pour être remplacés par deux nouveaux sites dans le massif de L'Epine et la forêt de Génieux. De plus, sur le site de « Boutat », les points ont été décalés vers le nord, jugé plus favorable.

En 2008 seul les sites de « Malissard » et de « L'Epine » ont été conservés (suivi de tendance) et deux nouveaux sites ont été prospectés : le « Rachais » et « L'Aulp du Seuil » (échantillonnage aléatoire). De plus, un protocole de ramassage des crottes a été appliqué (annexe 3) pour alimenter un test de la méthode sur la base d'analyses génétiques. Le suivi et le ramassage des crottes ont été réitérés en 2009 sur deux sites : « L'Epine » et « Malissard ».

Massif de l'Epine

2007
2008
2009

Lanches des Clarets

2006

Malissard

2006
2007
2008
2009

l'Aulp du Seuil

2008

Forêt de Génieux

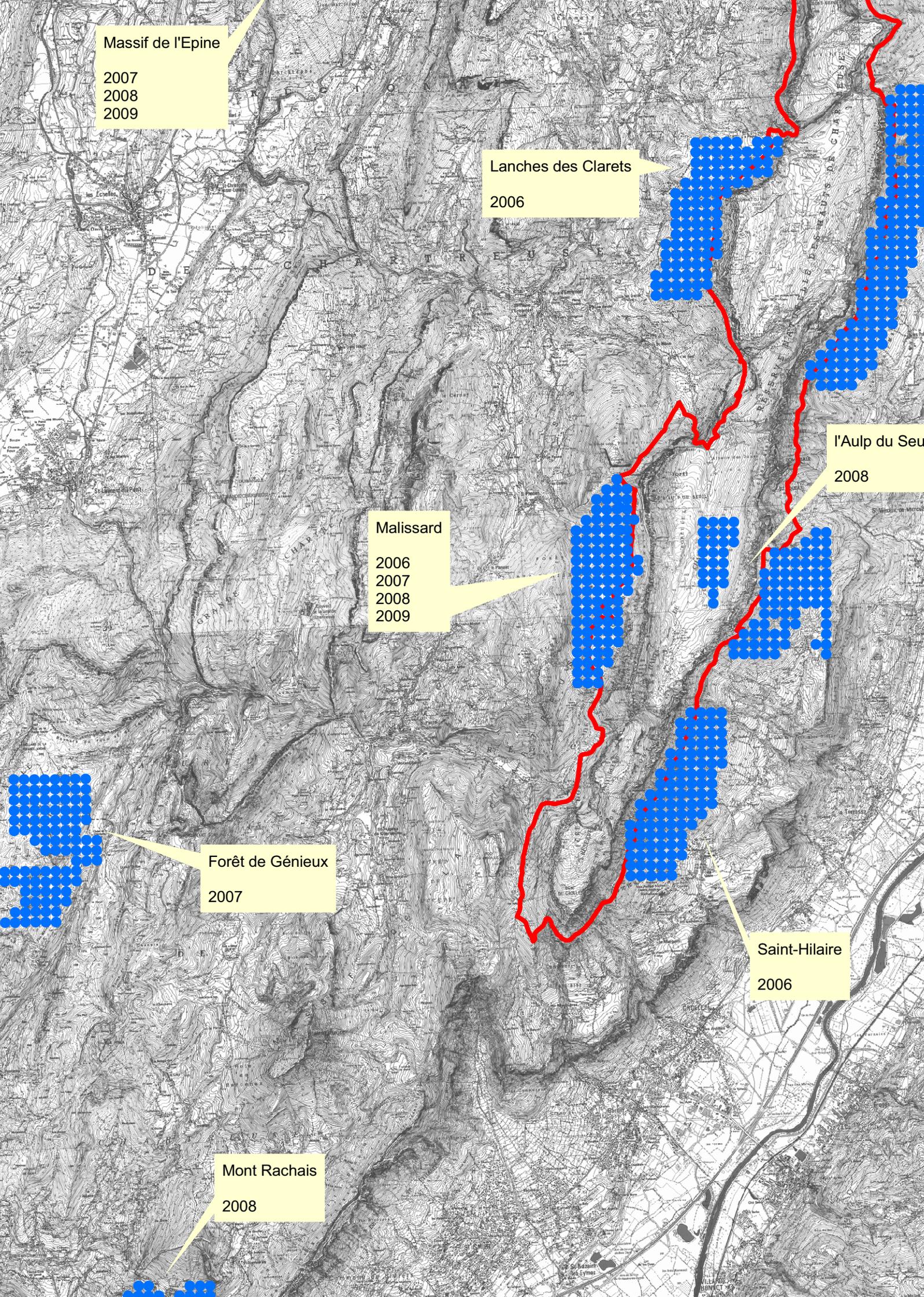
2007

Saint-Hilaire

2006

Mont Rachais

2008



Résultats 2006 - 2009

Le tableau ci-dessous résume les résultats des quatre campagnes (nombre d'indices récents / nombre d'anciens indices).

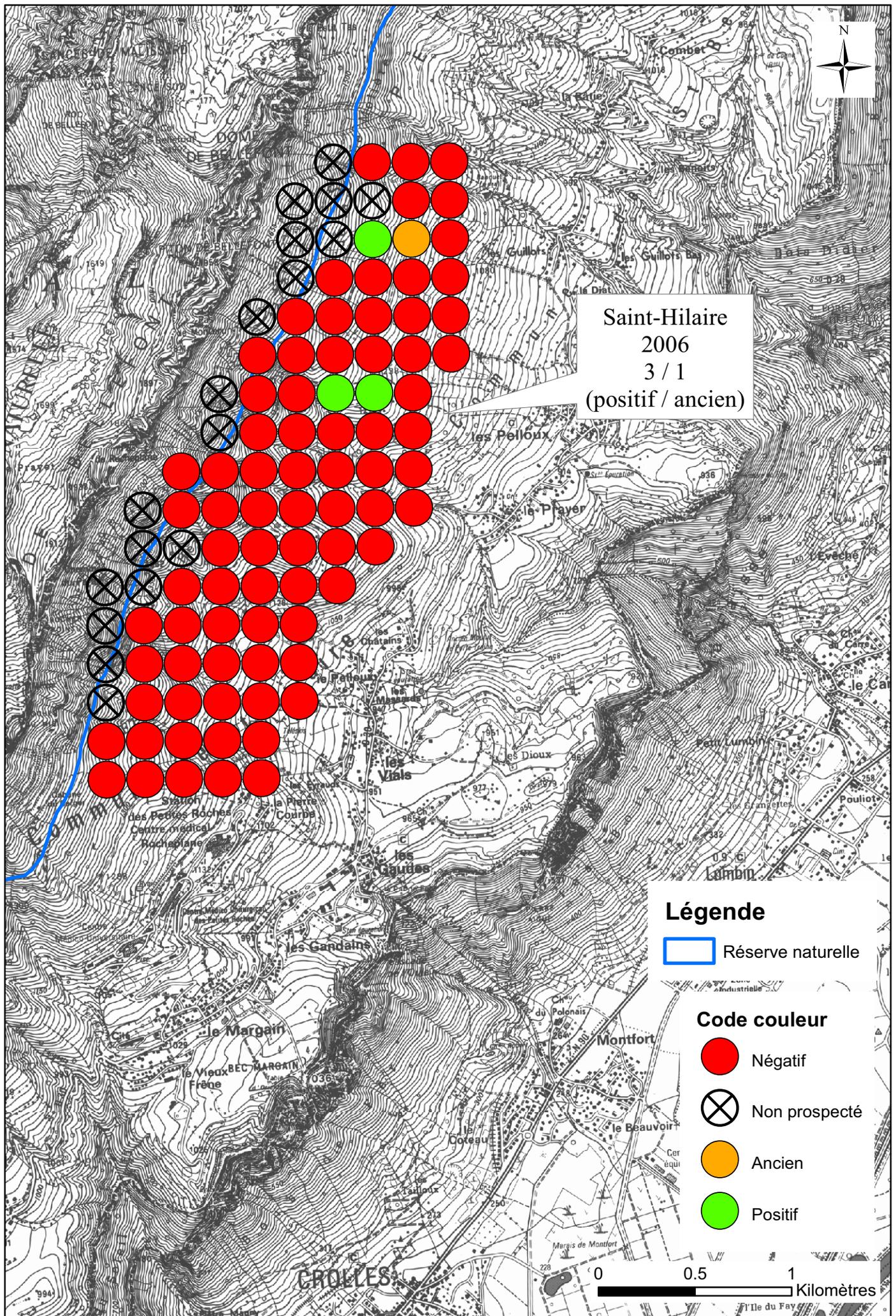
	2006	2007	2008	2009
<i>Saint-Hilaire</i>	3 / 1	-	-	-
<i>Lanches des Clarets</i>	1 / 0	-	-	-
<i>Malissard</i>	5 / 5	2 / 1	3 / 1	3 / 2
<i>le Boutat</i>	3 / 1	0 / 1	-	-
<i>Massif de l'Épine</i>	-	11 / 5	12 / 2	12 / 4
<i>Forêt de Génieux</i>	-	2 / 0	-	-
<i>l'Aulp du Seuil</i>	-	-	4 / 2	-
<i>Mont Rachais</i>	-	-	0 / 0	-

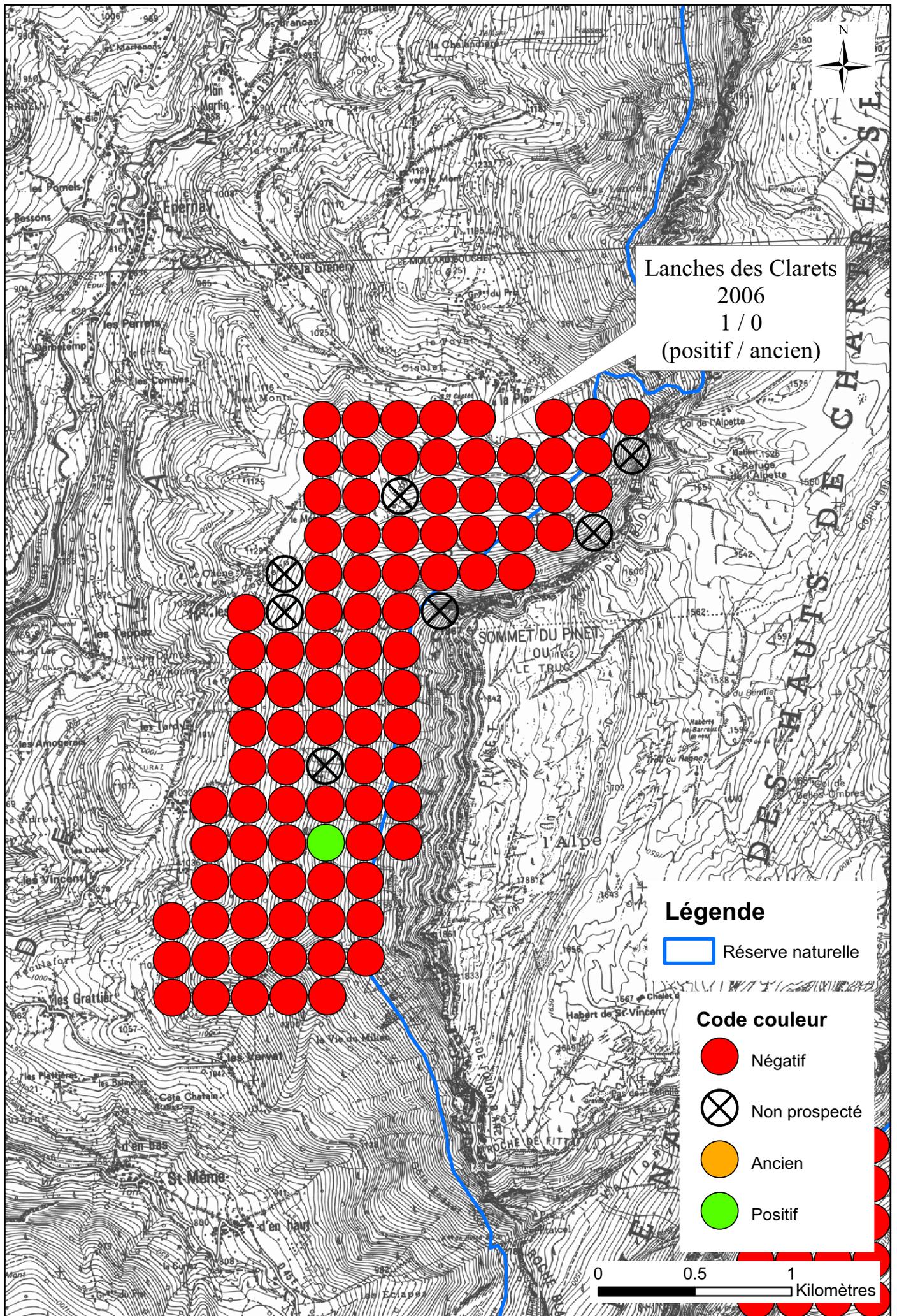
De 2006 à 2008 ce sont chaque année quatre sites de 100 points chacun qui ont été prospectés. En 2009, seul deux sites ont fait l'objet du même type de suivi car en parallèle le protocole de récolte des crottes pour analyse génétique a été réalisé.

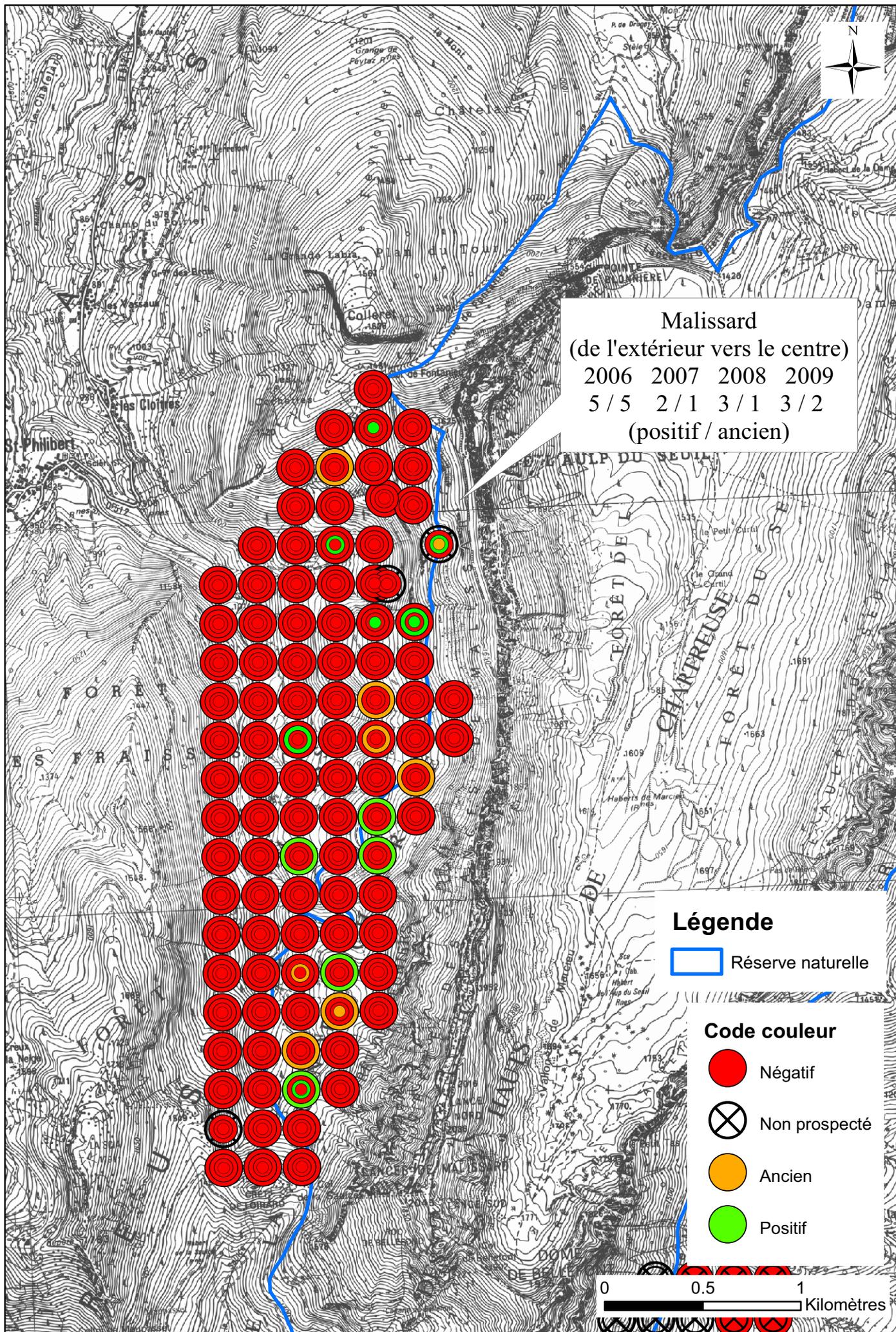
Les sites les plus suivis ont été ceux de Malissard et de l'Épine car ayant les meilleurs résultats.

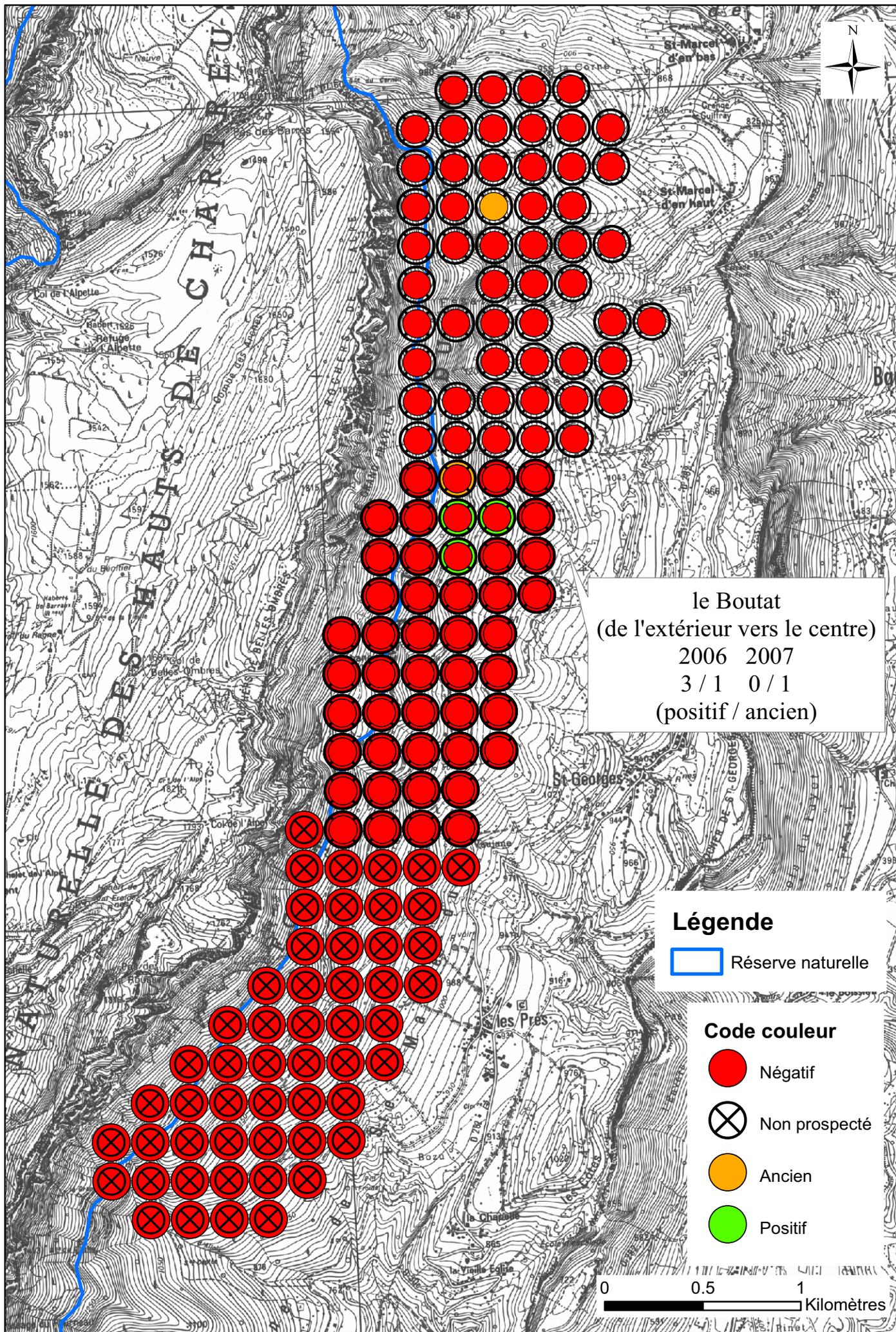
Les cartographies des résultats pour chaque site sont présentées ci-après (pages 13 à 20).

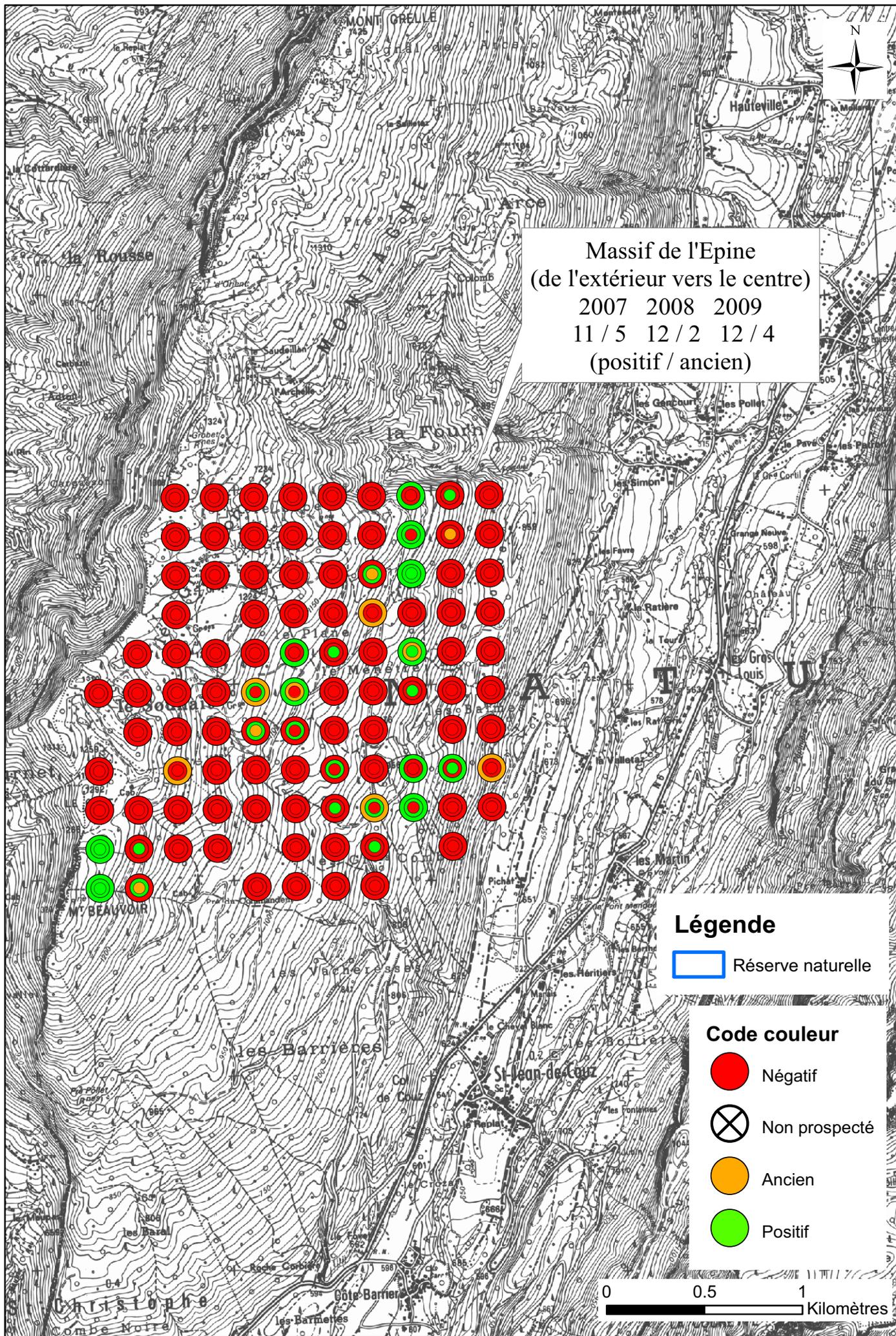
Pour chaque secteur nous présentons le ratio points positifs (cartographiés en vert) / nombre de points prospectés et précisons le nombre de points avec vieilles crottes (cartographiés en orange - non pris en compte pour l'IPPC). Les points non prospectés sont figurés par une croix, et les points « négatifs » sont en rouge. Afin de représenter les différentes années de prospection (lorsque c'est le cas) en une seule carte les différentes années ont été superposées sous forme d'anneaux concentrique allant (le cas échéant) de 2006 à l'extérieur à 2009 à l'intérieur. Les années et les chiffres bruts sont rappelés dans un tableau sur chaque carte.

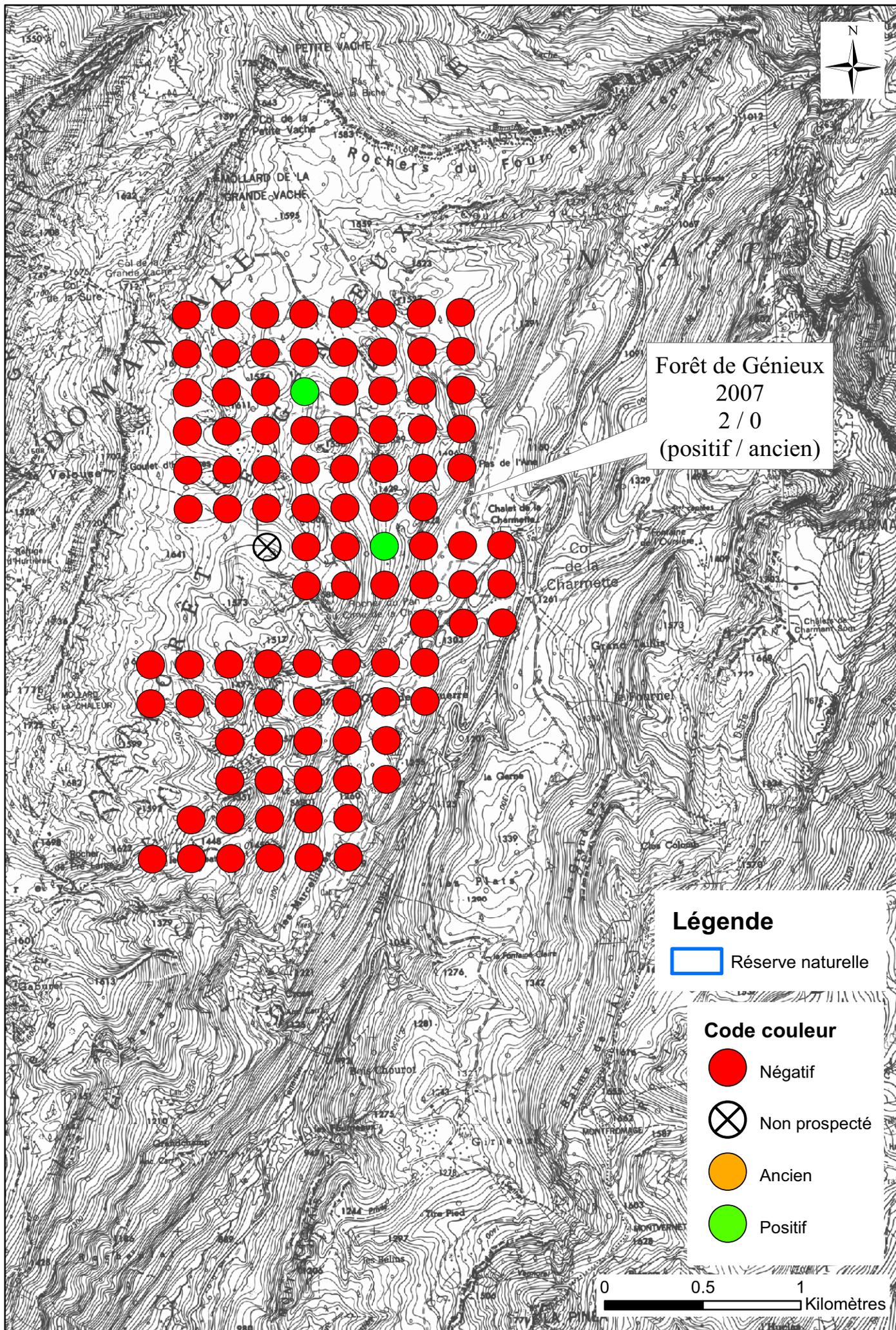


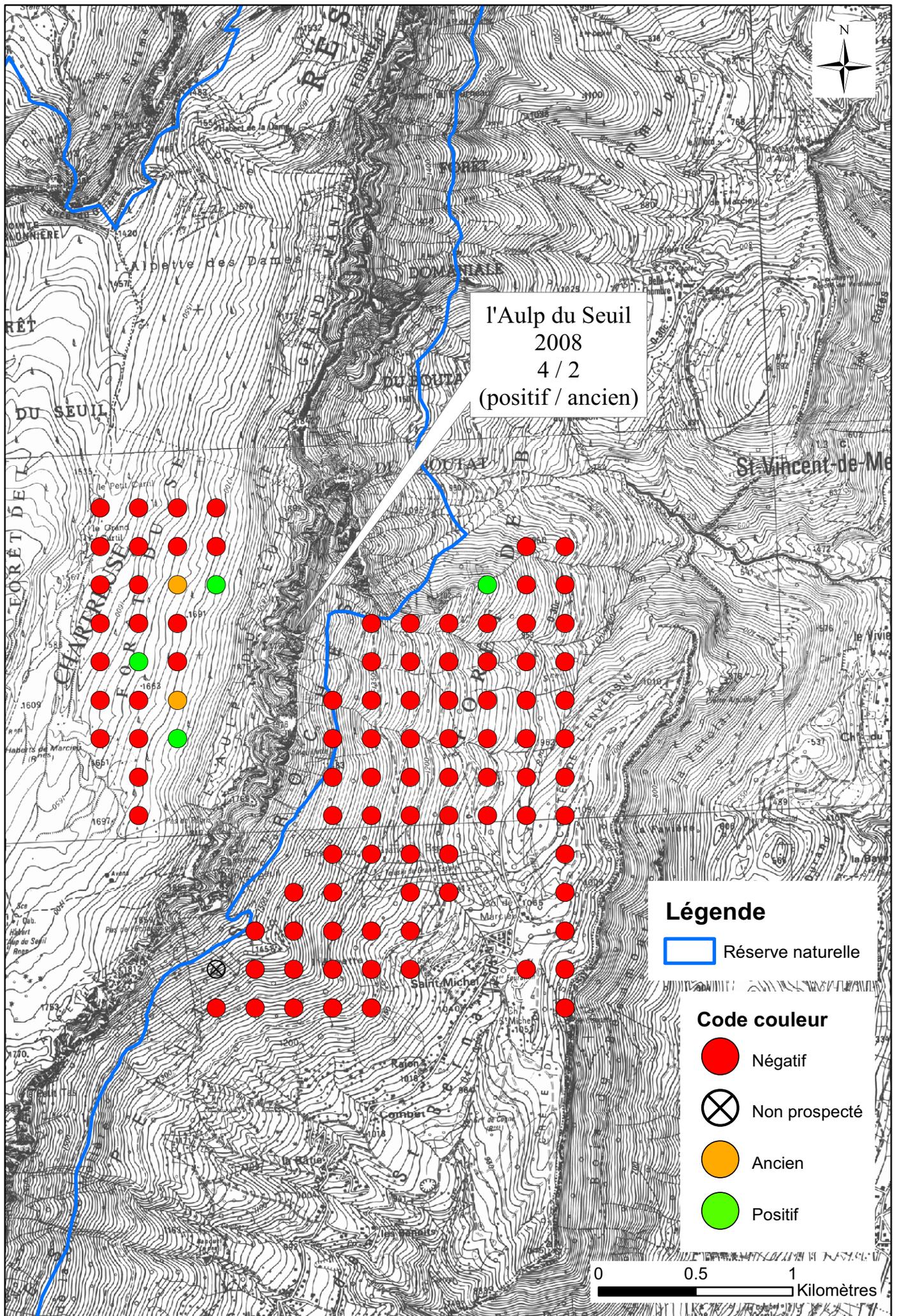


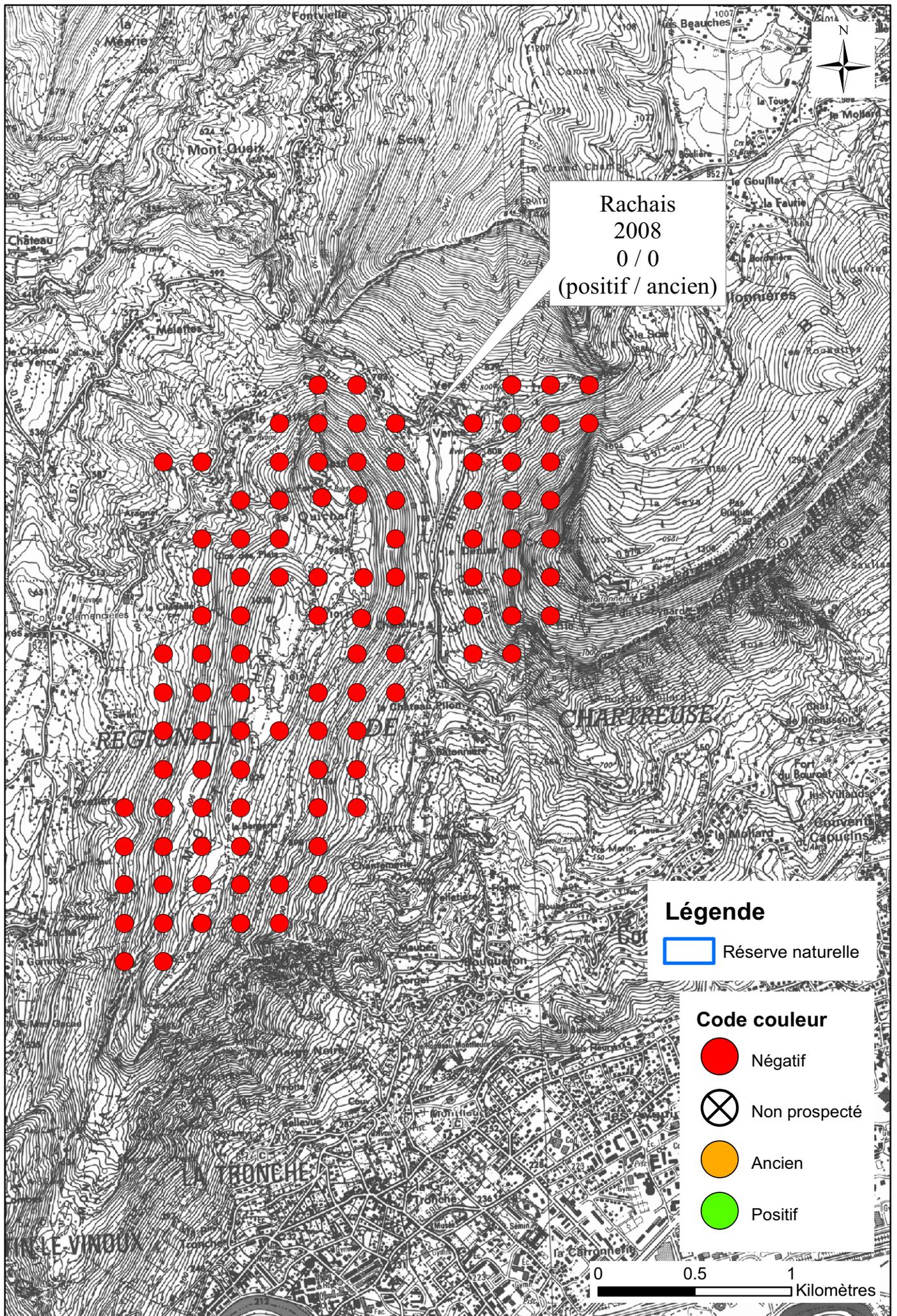












Discussion

Les résultats sont très variables en fonction des sites :

- Saint-Hilaire (p 13) : une seule année de prospection a été faite. Les parties les plus élevées en altitude n'ont pas pu être prospectées en raison des difficultés d'accès. Des indices ont été trouvés sur deux secteurs seulement. En raison des faibles résultats et des contraintes de terrain, la recherche sur ce site n'a pas été maintenue.

- Lanches de Claret (p 14) : une seule année de prospection. Quelques points en pied de falaise étaient inaccessibles en raison de la pente. Un seul point positif sur un site loin d'être défavorable (voire annexe 2). En raison des résultats et dans une moindre mesure des contraintes de terrain, la recherche sur ce site n'a pas été maintenue.

- Malissard (p 15) : quatre années de prospection ; c'est sur ce site qu'il y a eu la plus grande constance en terme de suivi. La superposition des résultats sur quatre années met en évidence l'absence totale d'indices de présence dans la partie ouest du site (pente orientée plein est) et un échelonnement en trois ou quatre zones sur un axe nord – sud dans la partie est du site. Le nombre d'indices trouvés a été le plus élevé en 2006, et moins élevé par la suite mais assez constant les trois années qui ont suivies. Même s'il s'agit d'un des trois sites avec le plus de résultats, ceux-ci restent cependant très faibles au regard de ce à quoi nous nous attendions par rapport à la qualité des habitats forestiers de cette zone.

- le Boutat (p 16) : deux années de prospection, mais sur deux sites qui se recouvrent. En effet, au vu des résultats de la première année de prospection (les 100 points les plus au sud), il a été décidé de ne garder que les points de la partie nord de ce site et d'étendre les recherches plus au nord. La deuxième année a vu donc une prospection sur les 100 points les plus au nord du site, avec un recouvrement partiel au sud avec les points faits l'année précédente. Ce choix d'extension a été fait en raison de la localisation des indices de la première année et d'une analyse sommaire des cartes de végétation et des photographies aériennes. Les résultats n'en ont pas été meilleurs la deuxième année, bien au contraire ! Le suivi sur le long terme de ce site a donc été abandonné.

- Massif de l'Epine (p 17) : trois années de prospection. C'est sur ce site que les meilleurs résultats ont été obtenus. On notera la constance des résultats tant d'un point de vue spatio-temporel (localisation géographique dans le temps) que quantitatif. Le nombre de données récoltées a plaidé pour l'intégration du site dans un échantillonnage pour une étude génétique (annexe 3) conduite en 2008 et 2009. Ce travail a permis en 2008 d'identifier 6 mâles et 2 femelles pour une estimation de la population établie à 8 individus. Le sexe-ratio déséquilibré en faveur des mâles est fréquent, notamment dans les populations à faible densité.

- Forêt de Génieux (p 18) : une seule année de prospection. Seulement deux indices sur un site qui semblait *a priori* favorable. En raison des résultats, la recherche sur ce site n'a pas été maintenue.

- L'Aulp du Seuil (p 19) : une seule année de prospection. Ce site a la particularité d'être en deux parties : la première avec la majorité des points est orientée vers l'est et se situe en

contrebas des falaises qui forment le rebord oriental du massif de Chartreuse. Les autres points se situent « en haut », au sein de la réserve et dans une pente orientée à l'ouest. C'est sur ce dernier secteur que la majorité des indices ont été trouvés. Au vu de ces résultats il serait intéressant de renforcer la prospection et le suivi sur ce secteur de la Réserve.

- Mont Rachais (p 20) : une seule année de prospection. Aucun indice trouvé sur ce secteur qui s'est finalement révélé peu favorable du point de vue du milieu.

Globalement, à une exception près, les résultats restent très faibles. La découverte de « nombreux » indices sur un des secteurs prospectés permet raisonnablement d'exclure un biais « observateur » et ce d'autant plus que de 2007 à 2009 les observations les prospections ont été faites par le même observateur à savoir Jérémie Lucas. : Il est donc plausible de penser que les résultats traduisent une faible ou très faible densité de gélinotte sur les secteurs prospectés.

Rappelons que la sensibilité aux variations d'abondance est considérée comme bonne par Montadert *et al* (2006) « au moins dans les valeurs moyennes de la fréquence entre 20 et 80 % », ce qui a rendu caduc l'objectif de suivi, tel qu'imaginé au départ. Cependant, les informations récoltées constituent un signal d'alerte, sur la base d'un référentiel reproductible, concernant le statut de la gélinotte en Chartreuse. Toutefois le massif de la Chartreuse est situé en bordure l'aire de répartition de la Gélinotte ce qui explique peut-être que les densités soient faibles. De plus, les sapinières froides et humides très présentes dans le massif ne sont pas forcément l'habitat optimum de cet oiseau.

Conclusion

Au total, 800 points différents de recherche ont été prospectés et 1 400 avec les répétitions (certains sites ont été prospectés plusieurs années dont un chaque année). Les résultats obtenus ne permettent pas d'atteindre l'objectif de suivi de population en raison d'un faible nombre d'oiseaux. Le protocole appliqué n'est pas adapté à de si faible densité. Par contre ce résultat met l'accent sur la faiblesse probable des populations de gélinotte de Chartreuse. Cette faible densité est peut-être à mettre en relation avec le fait que le massif de la Chartreuse se trouve en bordure de l'aire de répartition de cette espèce.

Néanmoins cela permet de mettre en lumière l'importance de la prise en compte des exigences écologiques de cette espèce (feuillus, strate buissonnantes) dans la gestion du milieu forestier, et ce dans un contexte où la pression économique sur ce qui est considéré comme une ressource d'avenir (le bois de Chartreuse a reçu le label AOC) est de plus en plus importante.

Enfin, ce travail aura contribué à améliorer significativement la connaissance de l'espèce et de façon protocolée dans le massif de la Chartreuse. Il a aussi permis l'application de la méthode IPPC et sa validation avec l'utilisation de techniques génétiques.

Ce travail constitue un état de référence qu'il sera pertinent de comparer avec de nouveaux suivis.

Bibliographie

Ariagno D. & Noblet J.-F. (1978) Introduction à l'étude des oiseaux du massif de la Grande Chartreuse. Essai de comparaison avec le Vercors. *L'Oiseau et la Revue Française d'Ornithologie* 48 : 191-216.

Corti U. A. (1961) *Die Brutvögel der französischen und italienischen Alpen*. Bischofsberger. 862 pp.

CORA (2003) *Les oiseaux nicheurs de Rhône-Alpes*. CORA. 336 pp.

Couturier M. (1981) *Le gibier des montagnes françaises*. Arthaud, Grenoble. 471 pp.

De Thiersant M.-P. & Deliry C. (2008). Liste rouge des vertébrés terrestres de la région Rhône-Alpes. CORA Faune sauvage / région Rhône-Alpes. 283 pp.

Drillat B. & Villaret J.-C. (1989) *Étude scientifique préliminaire à la protection des Hauts Plateaux de Chartreuse. Projet de création d'une Réserve Naturelle*. Conseil Général de l'Isère / CARENE. 152 pp.

Duchaussoy-Curt T. (2006) *État des connaissances sur la gélinotte des bois dans le Parc naturel régional de la Chartreuse*. Observatoire des galliformes de montagne, Sevrier. Rapport non paginé.

Goubert A. (2000) La Gélinotte des bois (*Bonasa bonasia*) en Isère. Bilan des observations de la Centrale ornithologique du CORA de 1965 à 1989. *La Niverolle* 14-15 : 7 – 13 + annexes A2 & A3.

Lebreton P. (1977) *Atlas ornithologique Rhône-Alpes*. Centre ornithologique Rhône-Alpes, Villeurbanne. 453 pp.

Loose D., Bridelance S., Del Guerra P., Goujon G., Prévost J., Rolland C. & Viguié M. (2006) *Inventaire et suivi des stations de gélinotte des bois Bonasa bonasia. Réserve naturelle des Hauts de Chartreuse. Inventaire 2006*. LPO Isère / DIREN Rhône-Alpes, Grenoble. 17 pp.

Loose D. & Lucas J. (2010) *Suivi des stations de gélinotte des bois Bonasa bonasia. Réserve naturelle des Hauts de Chartreuse. Suivi 2008*. LPO Isère / DIREN Rhône-Alpes, Grenoble. 11 pp + annexes.

Loose D., Lucas J. & Prévost J. (2007) *Suivi des stations de gélinotte des Bois Bonasa bonasia. Réserve naturelle nationale des hauts de Chartreuse. Suivi 2007*. LPO Isère / DIREN Rhône-Alpes, Grenoble. 11 pp.

Loose D., Taupiac J.-M. / LPO Isère & Noblet J.-F., Callec A. / Conseil général de l'Isère (2007). Protégeons la faune sauvage de l'Isère. Liste rouge des vertébrés de l'Isère. LPO Isère / Conseil général de l'Isère. 43 pp.

Montadert M., Léonard P. & Longchamp P. (2006) Les méthodes de suivi de la Gélinotte des bois. Analyse comparative et proposition alternative. *Faune sauvage* 271: 28-35.

Muraz S., Foret S., Bailly J. & Gardet P. (2006) *Plan de gestion 2006 – 2011. Document de Travail*. Réserve naturelle des Hauts de Chartreuse. Parc naturel régional de Chartreuse. 258 pp. + annexes.

Rothstein N. (1998) La gélinotte des bois (*Bonasa bonasia*) et l'hétérogénéité forestière en Chartreuse : éléments pour une gestion intégrée de l'animal et du milieu. DEA Gestion des espaces montagnards. Institut de Géographie Alpine, Université Joseph Fourier Grenoble I, Cemagref Grenoble division écosystèmes et paysages montagnards. 48 pp + annexes.

Annexes

Annexe 1

Formation des observateurs

Afin de correctement appliquer le protocole demandé et de bénéficier d'une expérience de terrain encadrée par des spécialistes, trois personnes du CORA Isère (D. Loose, J. Prévost et M. Viguié) ont participé à deux journées de formation sur la gélinotte organisées par l'Office national de la chasse et encadrées par P. Léonard et M. Montadert.

Cette formation a eu lieu les 15 et 16 mars 2006 à Auzet (04).



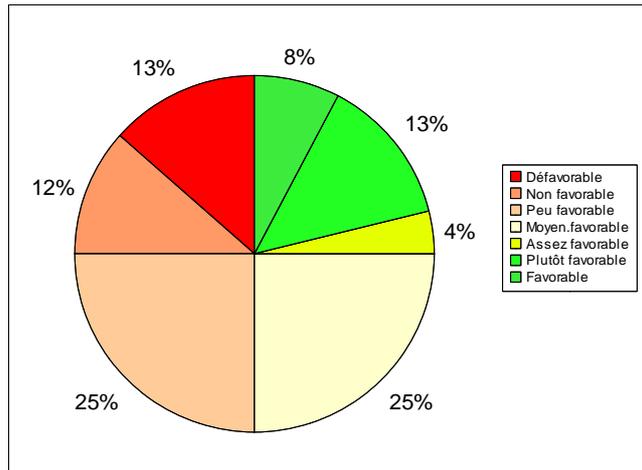
Au delà de la mise en œuvre pratique du protocole, ces journées auront été l'occasion de se familiariser avec les différents indices, et de bénéficier de la grande expérience des formateurs sur les aspects à la fois de méthodologie et d'écologie appliquée à la gélinotte.



Les autres personnes intervenant dans le cadre de ce travail, dont certaines avaient déjà une bonne connaissance des tétraonidés et de la gélinotte en particulier, ont ensuite été formées sur les sites d'études par l'une ou l'autre des trois personnes présentes au stage de formation de l'ONCFS.

Informations complémentaires (« favorabilité »)

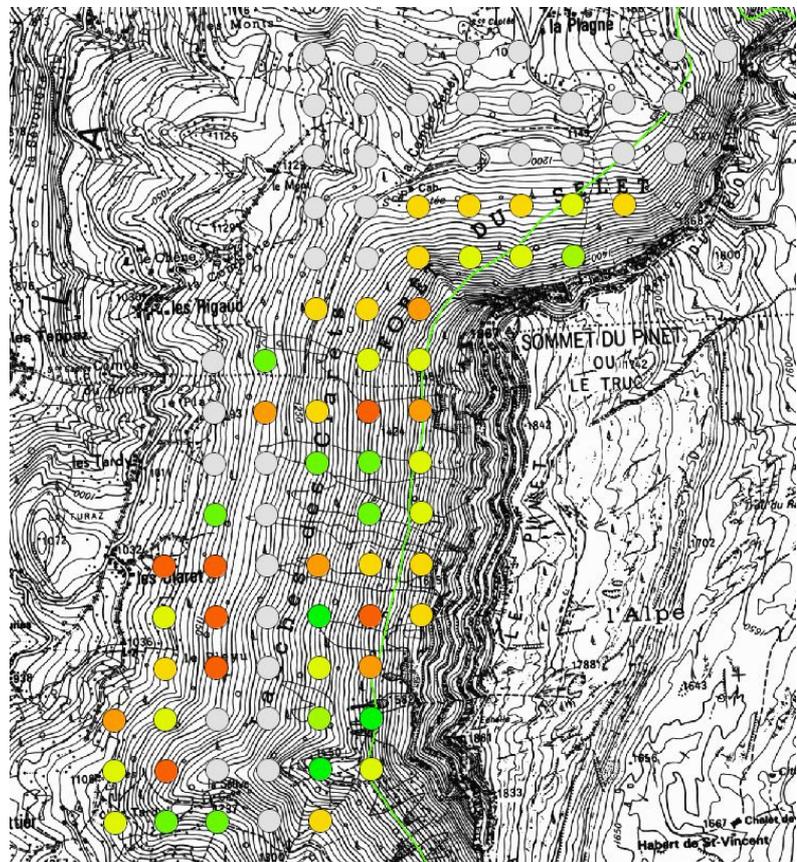
Un essai de caractérisation de la « favorabilité » du milieu a été entrepris sur le secteur des Lanches des Clarets par un des observateurs (J. Prévost). Il s'agit d'une approche partielle, empirique, basée sur les informations issues du stage réalisé et de la littérature et orientés sur les potentialités en nourriture et en abris. Le gradient établi s'échelonne de « défavorable » à « très favorable », ce dernier qualificatif n'ayant jamais été utilisé. Le graphique suivant indique les proportions pour 52 points.



Graphique 1 : proportion points « favorables ». n=52

La répartition des points sur une carte permet de visualiser l'hétérogénéité des milieux favorables à la gélinotte sur la base de la méthode d'évaluation employée.

Il ne s'agissait que de faire un essai de classification afin d'en mesurer les contraintes et les potentialités. Si une telle évaluation devait être généralisée, elle nécessiterait une redéfinition précise, tout en gardant une facilité et rapidité de mise en œuvre afin de ne pas grever d'avantage le temps passé sur le terrain.



Étude génétique : protocole et résultats

Protocole de récolte des crottes de gélinotte pour le test de la méthode IPPC.

Marc Montadert

I – principe du test

Comparaison du résultat de l'IPPC avec une estimation de l'effectif absolu des gélinottes présentes et ce, sur plusieurs massifs différents le long d'un gradient de densité supposé. L'estimation des effectifs est basé sur la "capture-recapture" des crottes dont chacune est analysée génétiquement pour identifier l'individu correspondant.

II – protocole de prospection.

Il se fera en 2 temps au moins :

- lors de la prospection IPPC : toutes les crottes fraîches sont récoltées et stockées dans un pilulier que ce soit celles trouvées **sur les placettes** mais aussi celles trouvées **en dehors des placettes**.

Ne pas toucher les crottes à la main, à mais les pousser avec un petit baton dans le pilulier.

Il s'avère donc nécessaire lors de la prospection IPPC de faire aussi attention lors du cheminement entre 2 placettes pour chercher d'éventuelles crottes. La prospection entre placettes étant moins intensive, il s'agit juste de cheminer directement vers le point suivant mais, lentement en regardant par terre.

- Lors d'un deuxième passage (qui peut être avant ou après) où toutes la superficie (400 ha) doit être reparcourue au moins une fois. Il n'est alors pas nécessaire de reprospection les placettes mais plutôt de se servir du maillage quelles dessinent pour, en passant de l'une à l'autre, s'assurer qu'aucune zone n'est délaissée. Il est recommandé de **choisir un ordre et un chemin différent** de celui suivi lors de la prospection IPPC afin que d'autres secteurs entre les points soient prospectés. Dans ce cas la prospection, se fait en continue en cheminant d'une placette à l'autre et en cherchant les crottes par un cheminement sinueux, en s'attardant sur des micro-sites à priori propice (saule par exemple). Il s'agit maintenant d'augmenter la chance de découvrir une crotte fraîche.

III – protocole de stockage des crottes.

Les crottes ramassées **seront uniquement celles fraîches ou au moins très récentes**, en priorité celles qui semblent les plus fraîches (1-2 jours) (les crottes anciennes ne contiennent plus d'adn exploitables).

- En cas de découverte d'un perchoir nocturne (50-80 crottes) ou d'un reposoir diurne (petit tas compact de 10-30 crottes), **seules 2 ou 3 crottes sont ramassées et mise dans le même pilulier**. On peut dans ces deux cas les mélanger car on est sûr qu'il s'agit du même individu.
- En cas, de découverte de crottes isolées se trouvant à quelques mètres les unes des autres. Il faut dans ce cas, ramasser 4 ou 5 crottes, **chacune stockées dans des piluliers différents** car on ne peut savoir si ces un seul individu ou un couple. Si les crottes dispersées sont vraiment très abondantes sur quelques ares, il faut s'arrêter au bout de 5-6 piluliers. On pourra recollecter après avoir parcouru au moins 100 m.

- Quand le choix est possible entre plusieurs crottes appartenant au même individu, choisir en priorité les crottes à l'ombre (les UV dégradent l'ADN).

Information à renseigner sur le pilulier :

- Mettre 4ml de gel de silica dans un tube avant de partir sur le terrain.
- Utiliser un petit morceau de bois pour les mettre dans les tubes afin d'éviter les contaminations entre échantillons.
- Chaque tube doit comporter, **l'espèce, le nom du site, le nom de l'observateur , la date de récolte. Un N° d'ordre permettant de retrouver les coordonnées de la localisation.** C'est soit le N° de la placette si dans une placette soit un N° autre qui renvoie à une coordonnées GPS stockée dans un tableau et qui a été prise sur le terrain lors de la découverte (ce n'est pas la peine si la crotte est dans une placette dont on a déjà les coordonnées). Prévoir aussi de rajouter un code fraîcheur de type : " CF" : F *comme évidemment frais* et R *comme moins frais(récent) mais quand même très récent.* (cela nous aidera lors de l'analyse génétique en cas d'un trop grand nombre de crottes de commencer en priorité sur les plus fraîches, les plus susceptibles d'avoir de l'ADN exploitable)
- Les tubes + gel de silica + crottes se conservent idéalement à -20°C(congelateur) ou a température ambiante et surtout à l'abri de la lumière. A la fin de la prospection, ils seront redonnés à Marc Montadert

Estimation de la taille de populations de Gélinottes

Compte rendu des travaux réalisés en 2008

Gwenaël Jacob

Institut fédéral de recherche sur la forêt,
la neige et le paysage (WSL)
Zuercherstrasse 111
CH-8903 Birmensdorf

CONVENTION DE PARTENARIAT

Mairie d'Auzet / Office national de la chasse et de la faune sauvage N° 2007/60/6281
(Articles R.1.1. du Contrat d'objectifs 2006-2008 de l'ONCFS) Actions en faveur de la gélinotte des bois

Annexe I : Liste des échantillons analysés et assignement à un génotype.

Annexe II : Description des marqueurs microsatellites utilisés dans la multiplex

Problématique

Comprendre les facteurs influant sur la dynamique d'une population est un facteur primordial pour connaître l'état d'une population et mettre en place un plan de gestion ou de protection d'une espèce. Une méthode fiable pour l'estimation de la taille des populations est cependant nécessaire pour atteindre cet objectif. La Gélinotte (*Bonasa bonasia* L.) est un Tétracidé inféodé aux milieux forestiers. Elle est discrète et ne se rassemble pas autour de places de chants comme les autres Tétracidés forestiers que sont le Grand tétras et le Tétras lyre. Ces caractéristiques comportementales font que la biologie de la Gélinotte reste méconnue, ce qui complique singulièrement le suivi démographique de ses populations (Montadert *et al.* 2005). Montadert *et al.* (2005) ont mis au point une nouvelle méthode d'estimation de la taille des populations de Gélinottes basée sur des relevés de présence sur placettes circulaires. La validation de cette méthode fait l'objet de la présente étude.

Les modèles utilisés pour l'estimation de la taille des populations sont basés sur des fréquences de capture/recapture par individu. Traditionnellement, ces données étaient générées par la capture physique et le marquage des individus, ce qui permettait leur identification lors de captures différentes. Ces méthodes présentent cependant de nombreux désavantages. En effet, la capture physique des individus implique le risque de blessure pour les animaux ainsi qu'une période de stress potentiellement dommageable pour les individus, ce qui les rend difficilement acceptables pour le suivi d'espèces rares ou menacées. Ces techniques de capture induisent aussi des biais méthodologiques du fait qu'une partie des individus modifient leur comportement après avoir été capturés, ce qui invalide l'hypothèse d'une probabilité de capture constante dans le temps pour chaque individu.

Le développement des techniques génétiques permet désormais d'analyser les caractéristiques génétiques d'un individu à partir de faibles quantités d'ADN (Taberlet & Luikart 1999). Ces techniques dites non-invasives sont basées sur l'extraction d'ADN à partir d'échantillons, poils, plumes ou crottes, collectés lors de campagnes de prospection. Chaque individu est ensuite identifié par ses caractéristiques génétiques révélées par l'amplification et l'analyse de marqueurs moléculaires très variables. Ainsi, les traditionnelles étapes de capture/recapture physiques des individus sont remplacées par des opérations de récolte d'échantillons puis d'analyses génétiques. Ces méthodes présentent l'avantage de ne pas, ou peu, déranger les populations suivies et de permettre l'identification de chaque individu par un code unique (son génotype) qui ne peut pas être perdu au cours de l'étude contrairement aux méthodes

traditionnelles de marquage. Miller *et al.* (2005) ont développé un modèle pour estimer la taille de populations petite à moyennes (<200 individus) qui permet de s'affranchir de l'hypothèse que la population étudiée est fermée pendant la durée de l'étude. Ce modèle est donc valable pour estimer l'abondance d'une population sur une partie seulement de sa répartition.

Dans la présente étude, l'analyse d'échantillons de crottes et de plumes par des techniques de biologie moléculaire ont été appliquées à l'estimation de la taille de populations de Gélinoite dans quatre massifs forestiers des Alpes et du Jura.

Matériel et méthodes

Extraction d'ADN

Les extractions d'ADN ont été effectuées avec le QIAmp Stool Mini Kit (Qiagen), selon le protocole décrit par Jacob *et al.* (2009). Tous les tubes et réactifs sont préparés avant que les échantillons ne soient manipulés et toutes les étapes de pipettage sont faites avec des cônes de pipettage équipée d'un filtre en cellulose. Ces précautions limitent le risque de contaminations entre échantillons dus aux aérosols.

Génotypage

Neuf loci microsatellites (Höglund non publié, Annexe II) ont été amplifiés. L'utilisation du Multiplex Kit (Qiagen) nous a permis d'amplifier les neuf fragments en une seule réaction (multiplex). Les microsatellites diffèrent par la taille des fragments amplifiés et/ou la fluorescence de la molécule utilisée pour marquer une des deux amorces (Tableau 1). La détermination du sexe des individus a été effectuée par l'amplification d'un fragment du gène CHD en utilisant les amorces M3 (Bantock *et al.* 2008) et P8 (Griffiths *et al.* 1998). Les amplifications par réactions en chaîne (PCR) ont été effectuées dans des volumes de 10 µl contenant 1 µl d'ADN, 1x Multiplex Kit MasterMix (Qiagen), 1 mM MgCl₂, 0.1 µg/µl Bovine Serum Albumine (BSA) et 160 nM de chaque amorce. Les amplifications ont été faites sur des thermocycleurs PTC-100 (MJ Research) en suivant les étapes suivantes: une étape d'activation de la polymérase à 95°C pendant 15 min, suivie de 37 cycles de température (dénaturation, à 94°C pendant 30 s, hybridation à 56°C pendant 120 s et élongation pendant 30 s) et une étape finale d'élongation à 72°C pendant 45 min. Des contrôles négatives, c'est-à-dire des tubes dans lesquels l'ADN est remplacé par de l'eau distillée, ont été inclus afin de vérifier l'absence de contaminations entre les échantillons pendant l'extraction d'ADN ou la préparation des PCR.

La longueur des fragments microsatellite est déterminée avec le logiciel Genemapper® (Applied Biosystems) en utilisant un marqueur de taille interne (GS 500 LIZ). Un individu dont le génotype est connu (contrôle positif) est intégré dans chaque série d'échantillons, ce qui permet de vérifier que la taille des allèles observés ne varie pas entre les analyses successives. Pour la détermination du sexe des individus, l'électrophorèse sur gel d'agarose à 3 % du fragment amplifié permet de distinguer entre les individus mâles, qui présentent deux allèles de même taille (homozygotes ZZ) et les femelles qui ont deux fragments de tailles différentes (hétérozygotes ZW), comme décrit par Griffiths *et al.* (1998).

Estimation de la taille des populations

Le modèle proposé par Miller *et al.* (2005) est basé sur les fréquences de détection des génotypes dans la population. L'algorithme utilisé décrit les probabilités de capture d'objet dans une urne de taille inconnue. Deux options sont proposées qui décrivent deux modèles biologiques distincts. Le premier, appelé ECM (Even Capture Probability) fait l'hypothèse

que tous les individus dans la population ont la même probabilité de capture. Le second, TIRM (Two Innate Rate Model) fait l'hypothèse que la population échantillonnée peut être séparée en deux sous-groupes différant par leur probabilité de capture. Ce dernier est en fait plus souvent adapté à l'étude de populations naturelles, du fait de l'hétérogénéité de capture inhérentes aux différences de comportements entre les différentes classe d'âge ou des sexes dans une population.

Résultats et discussions

Amplification des marqueurs microsatellites.

Dans cette étude, j'ai amplifié neuf microsatellites dans une seule réaction (multiplex) selon un protocole mis en place par J. Höglund (non publié). Cette multiplex a été développée pour être utilisée chez toutes les espèces de Tétrahydridés, mais n'avait cependant jamais été testée chez la Gélinoche. Dans le cadre de cette étude, j'ai mis en évidence que trois des neuf microsatellites étaient monomorphiques dans les populations de Gélinoche étudiées. Ce point est discuté en détail dans la partie sur l'estimation de la taille des populations.

Proportion d'échantillons génotypés

La proportion d'échantillons pour lesquels 6 ou plus loci ont amplifié (succès de génotypage), varie fortement entre les populations. Le maximum est observé pour les deux séries d'échantillons récoltées dans la population de la Sagne (85.3 et 76.9 %), suivi des populations de l'Epine (75.0 %) et d'Auzet (71.4 %). Le minimum est observé pour Vuache (42.9 %). Deux points semblent à signaler. Premièrement, le succès de génotypage est le plus élevé dans la population pour laquelle les échantillons ont été congelés (La Sagne). Il semble donc que cette méthode de conservation donne de meilleurs résultats et devrait être suivie lors de prochaine campagne de récolte. La préservation dans le gel de silica à température ambiante est suffisante, mais ne permet cependant pas d'obtenir d'aussi bons résultats que lorsque les échantillons sont congelés. Deuxièmement, et de manière générale, la quantité de gel de silica dans les tubes était trop faible pour permettre une dessiccation rapide et suffisante des échantillons. Ces résultats confirment ainsi que les conditions météorologiques rencontrées lors des campagnes d'échantillonnage ont un impact sur la conservation des échantillons. Certains des échantillons étaient encore humides, ce qui suggère que (i) la quantité de gel de silica ajoutée aux échantillons était trop faible et (ii) une attention particulière à la dessiccation correcte des échantillons est recommandée lors de campagnes de récoltes dans des conditions météorologiques humides. Enfin, la présence de microorganismes dans les échantillons fécaux (mycélium) est responsable de la dégradation rapide de l'ADN, et là aussi, la seule solution semble être la dessiccation et la congélation des échantillons.

En conclusion, l'état général des échantillons était satisfaisant, bien que certains échantillons étaient trop petits ou trop dégradés pour pouvoir être utilisé dans des analyses génétiques. Une procédure stricte visant à ne récolter que des échantillons frais, à les conditionner immédiatement dans du gel de silica (dessiccateur) et à les conserver à -20°C est nécessaire afin d'atteindre 100% d'amplification et ainsi limiter les coûts des études génétiques. La récolte et l'analyse d'échantillons dégradés est possible, mais requiert une procédure particulière (et plus coûteuse) qui ne peut être mis en place pour l'analyse d'échantillons en routine et devrait donc être réservé aux échantillons présentant un intérêt particulier.

Tableau 1 : Résultat de l'analyse génétique des échantillons et estimation de la taille des populations étudiées. Sont reportés le nombre d'échantillons analysés, Nb_{ech} , le nombre d'échantillons pour lesquels un génotype à 5 loci ou plus a été obtenu, Nb_{genot} , et le pourcentage de succès de génotypage, le nombre de génotypes uniques trouvés dans chaque population, MNA , le sexe ratio observé, m/f , et la fréquence moyenne de capture par individu, $Freq. capt.$, calculée par le ratio $MNA/Nb. genot.$. Pour chaque population, la taille estimée, N , ainsi que l'intervalle de confiance à 95 % autour de cette valeur est reporté ainsi que le modèle utilisé pour le calculer, $Modèle$.

Population	Nb_{ech}	Nb_{genot}	MNA	m/f	$Freq. capt.$	N (IC 95 %)	Modèle
Auzet	56	40 (71.4 %)	25	13/12	1.6	38 (26–57)	ECM
L'Epine	36	27 (75.0 %)	8	6/2	3.4	8 (8–8)	TIRM
Le Vuache ^a	7	3 (42.9 %)	3	2/1	1.0	NA	NA
La Sagne ^b	26	20 (76.9 %)	12 ^c	8/3	5.8	12 (12–13)	TIRM
La Sagne ^b	82	70 (85.3 %)					

^a Aucune estimation de la taille de la population n'est possible pour la population du Vuache où chaque individu n'a été capturé qu'une fois.

^b La séparation des échantillons de la population de la Sagne reflète le fait que les échantillons ont été récoltés lors de deux campagnes, dans des conditions différentes.

^c Un total de 17 individus (12 mâles, 3 femelles et deux individus dont le sexe n'a pu être déterminé) ont été identifiés, mais seuls les 12 individus contactés durant l'IPPC ont été pris en compte (8 mâles, 3 femelles et un individu dont le sexe n'a pu être déterminé).

Estimation de la taille des populations

La méthode utilisée repose fondamentalement sur notre capacité à identifier les individus d'après leur génotype. Le premier type d'erreur résulte du manque de puissance de la combinaison de marqueurs pour différencier entre les individus, c'est-à-dire que deux individus partagent le même génotype (le cas des jumeaux vrais n'est pas discuté ici car il est inconnu chez les oiseaux). La probabilité que deux individus partagent le même génotype (PI_{sibs}) à un locus donné est inversement liée à la diversité génétique de la population et au nombre de marqueurs génétiques utilisés. Mills *et al.* (2000) recommande une valeur seuil de PI_{sibs} de 0.001 afin d'assurer une puissance suffisante pour différencier entre les individus. Aucune des populations étudiées n'a montré des valeurs aussi basses, ce qui suggère qu'un risque non négligeable que deux individus partagent le même génotype dans ces populations. Ce risque est le plus élevé dans la population d'Auzet. La conséquence de cette puissance insuffisante pour différencier entre les individus serait une sous-estimation du nombre minimum d'individus dans la population (MNA). Les conséquences sur les prédictions du modèle sont cependant plus difficiles à évaluer.

Le second type d'erreur provient de l'étape de génotypage, pendant laquelle la non-amplification d'un des deux allèles d'un individu hétérozygote (ADO) ou des artefacts provenant de la polymérase peuvent créer de faux allèles (FA). Ces erreurs de génotypage peuvent conduire à (i) considérer un génotype connu comme l'observation d'un nouveau génotype (surestimation de MNA) ou (ii) à considérer deux individus comme un seul (sous-estimation de MNA). L'impact de ces erreurs sur les prédictions des modèles d'estimation de taille des populations est difficilement prévisible. Afin de limiter le risque d'ADO ou de FA, le génotype des individus a été déterminé par une approche multi-tube (Taberlet *et al.* 1999). Le génotype à chaque locus a été validé si et seulement si les mêmes allèles étaient observés dans trois des quatre amplifications indépendantes. Lorsque ces conditions n'étaient pas respectées, le locus était considéré comme manquant.

Dans trois des quatre populations étudiées, Sagne, Vuache et Epine, les génotypes observés différaient par au moins deux allèles à deux loci différents, ce qui indique que la variabilité de ces marqueurs était suffisante. Malgré des valeurs de PI_{sibs} plus élevées que le seuil recommandé par Mills *et al.* (2000), il est donc peu probable que deux individus dans ces populations partagent le même génotype. Dans la population restante, Auzet, certains

génotypes ne diffèrent que par un allèle. La probabilité que deux individus partagent le même génotype (PI_{sibs}) est très élevée (0.04), soit un ordre de grandeur au-dessus du seuil recommandé pour l'estimation de la taille des populations. Cette étude montre donc la nécessité de trouver 2–3 nouveaux microsatellites variables chez la Gélinoite. Cela est particulièrement critique pour le suivi des populations d'Auzet et du Vuache qui montrent les valeurs de PI_{sibs} trop élevées ($PI_{sibs} > 0.04$).

La taille des populations a été estimée avec le programme CAPWIRE (Miller *et al.* 2005), qui est un algorithme basé sur un modèle d'urne et qui est particulièrement recommandé pour estimer la taille de petites populations (<200 individus). Deux options sont proposées dans le programme CAPWIRE : ECM (Even Capture Model) fait l'hypothèse que tous les individus dans la population ont la même probabilité d'être détecté, alors que TIRM (Two Innate Rate Model) fait l'hypothèse que les individus sont repartis dans deux groupes présentant des probabilités de détection différentes. L'option TRIM était la plus vraisemblable dans toutes les populations, se qui reflète l'hétérogénéité des fréquences de captures entre les individus.

Aucune estimation n'était possible pour le Vuache (Tab. 1), où seulement trois individus ont pu être génotypés. La seule information disponible pour cette population est donc le nombre de génotypes uniques détectés dans cette population qui permet d'affirmer qu'au moins trois individus s'y trouvaient lors de la campagne d'échantillonnage. Dans la population d'Auzet, 25 individus ont été détectés. La taille estimée est de 50 individus, mais la précision de cette estimation est réduite du fait de la faible fréquence moyenne de capture par individu. Le nombre d'échantillons prélevés et génotypés avec succès a permis une estimation plus précise du nombre d'individus dans deux populations, la Sagne ($N=22$), l'Épine ($N=8$). Les figures 1, 2 & 3 illustrent la distribution spatiale des individus identifiés par le génotypage pour les sites de l'Épine, la Sagne et Auzet.

Comparaison du sexe ratio dans les populations

L'étude génétique a permis de mettre en évidence un sexe ratio (m/f) proche de l'équilibre dans la population d'Auzet (13/12) et fortement biaisé en faveur des mâles dans les populations de l'Épine (6/2) et de la Sagne (12/3).

Ceci est en accord avec ce qui est connu sur le fréquent déséquilibre du sexe ratio en faveur des mâles dans les populations de gélinoites, notamment dans les populations à faibles densités (Montadert & Léonard 2006). Bien que le protocole IPPC ne permette pas une estimation du sexe ratio, celui-ci apparaît cependant être une variable importante, complémentaire de l'estimation de la densité, pour diagnostiquer l'état conservatoire d'une population de gélinoite.

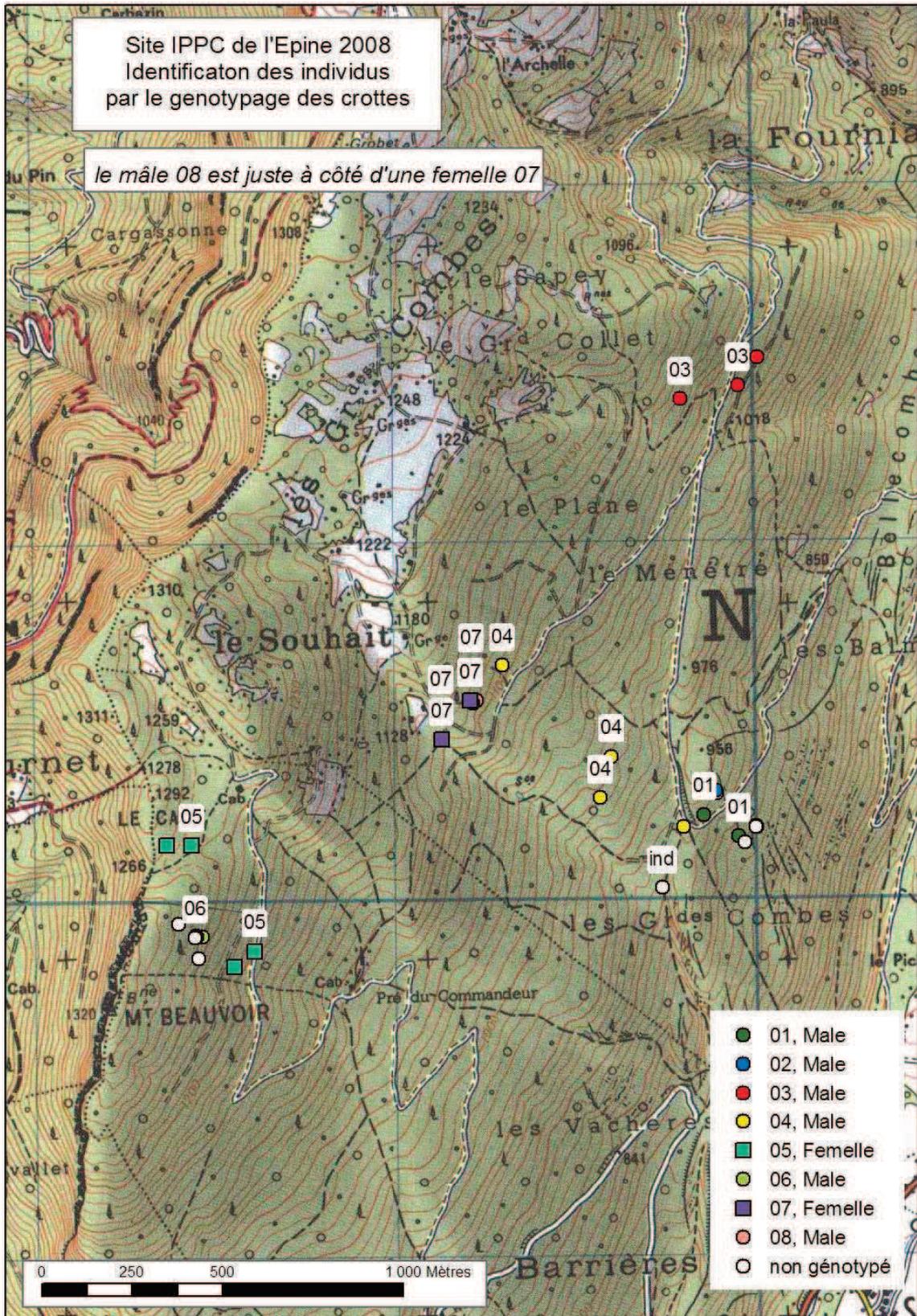


Figure 1 : Site de l'Epine (38). Distribution des gélinottes individualisées par le génotypage des crottes en 2008.

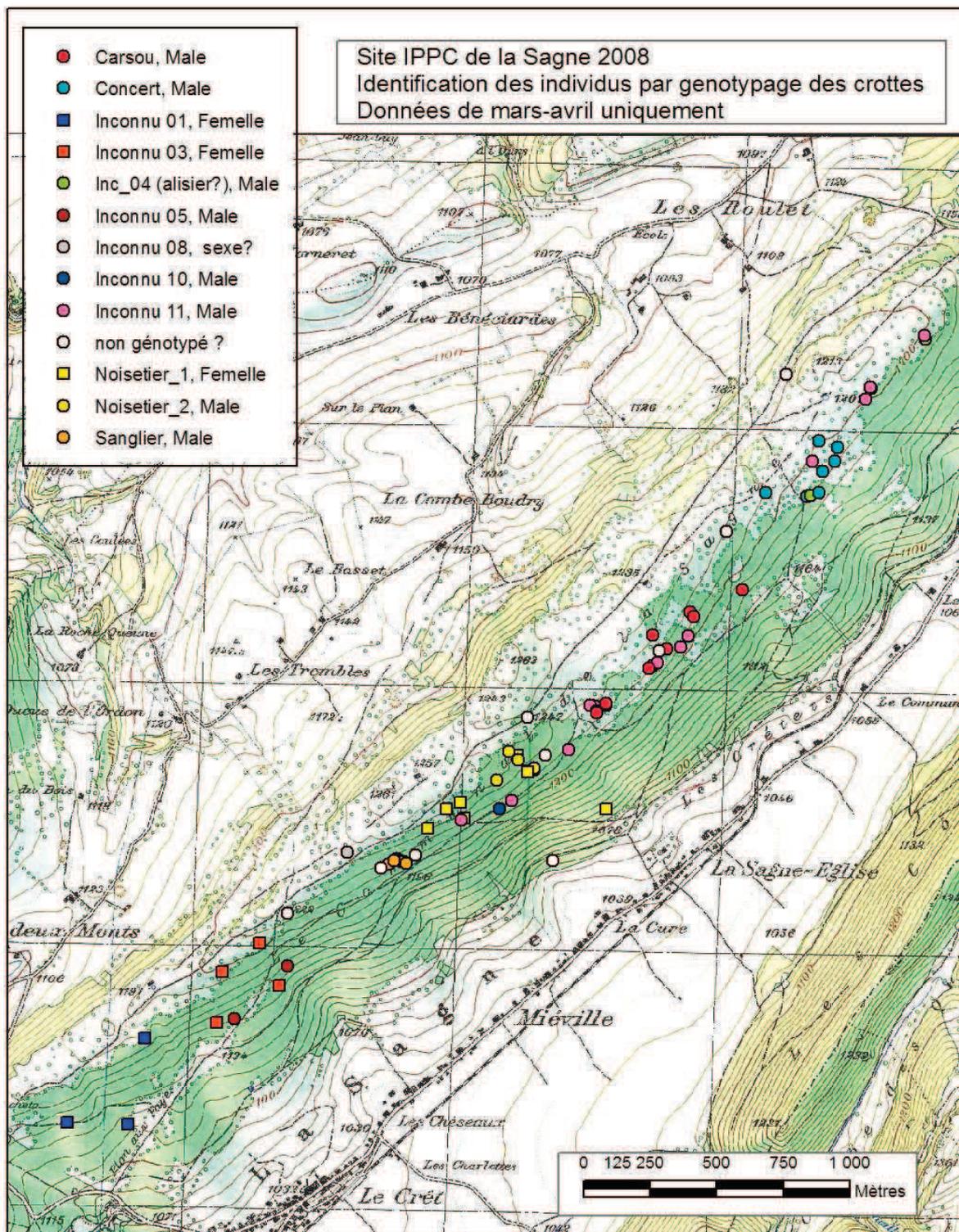


Figure 2 : Site de la Sagne (jura neuchâtelois). Distribution des gélinoites individualisées par le génotypage des crottes en 2008. Les noms attribués à certains mâles correspondent à ceux attribués à des mâles déjà connus par l'individualisation du chant.

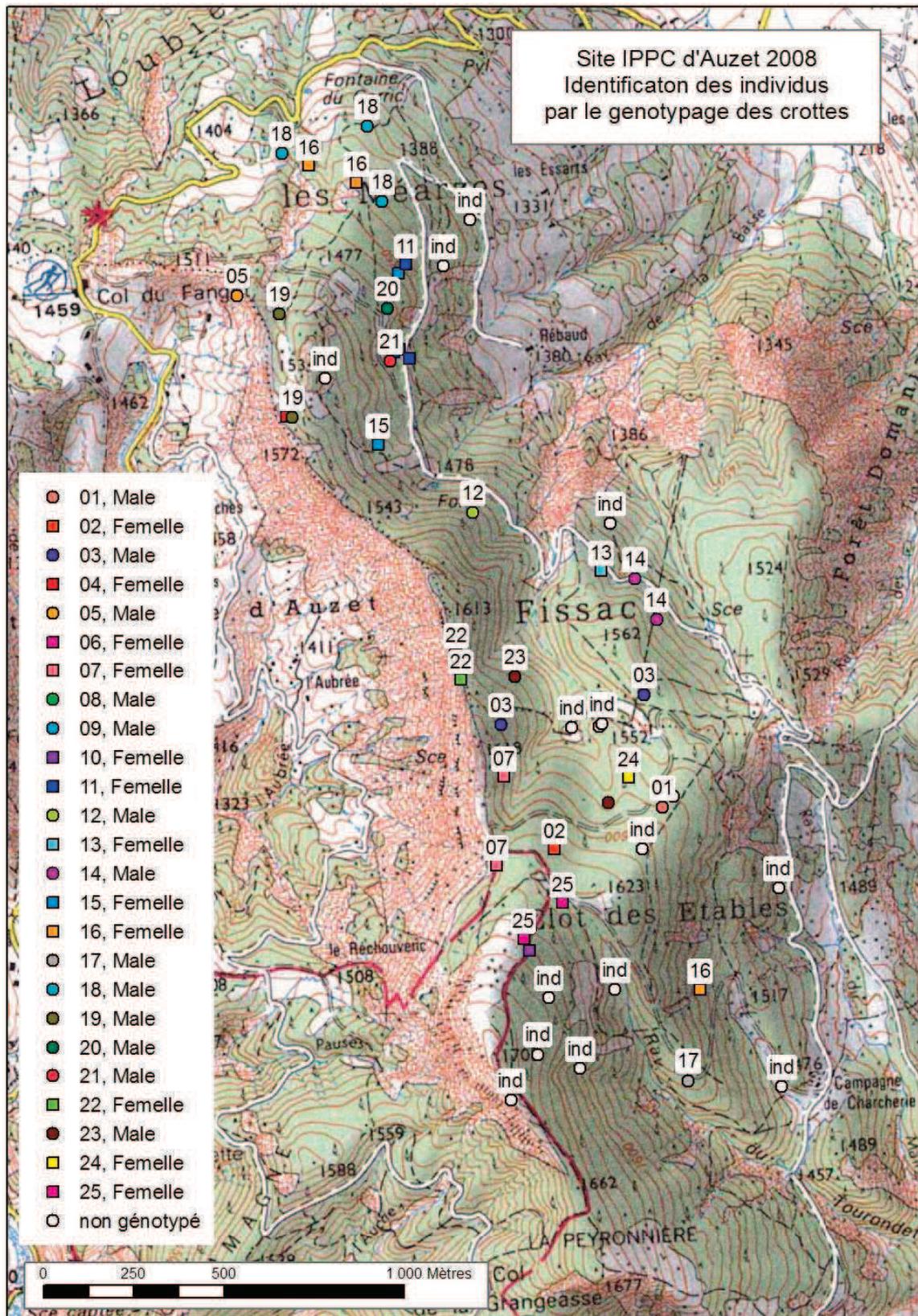


Figure 1 : Site d'Auzet (04). Distribution des gélinottes individualisées par le génotypage des crottes en 2008.

Références

- Bantock TM, Prys-Jones RP, Lee PLM (2008) New and improved molecular sexing methods for museum bird specimens. *Mol. Ecol. Res.*, **8**: 519-528.
- Gibbs M, Dawson DA, McCamley C, Wardle AF, Armour JA, Burke T (1997) Chicken microsatellite markers isolated from libraries enriched for simple tandem repeats. *Animal Genetics*, **28**: 401-417
- Jacob G, Debrunner R, Gugerli F, Schmid B, Bollmann K (2009) Field surveys of capercaillie (*Tetrao urogallus*) in the Swiss Alps underestimated local abundance of the species as revealed by genetic analyses of non-invasive samples. *Conserv. Genet.*, online first.
- Griffiths R, Double MC, Orr K, Dawson RJG (1998) A DNA test to sex most birds. *Mol. Ecol.*, **7**: 1071-1075.
- Miller CR, Joyce P, Waits LP (2005) A new method for estimating the size of small populations from genetic mark-recapture data. *Mol. Ecol.*, **14**: 1991-2005.
- Mills LS, Citta JJ, Lair KP, Schwartz MK, Tallmon DA (2000) Estimating animal abundance using noninvasive DNA sampling: promise and pitfalls. *Ecol. Appl.*, **10**: 283-294.
- Montadert M, Léonard P, Longchamp P (2006) Les méthodes de suivi de la Gélinoite des bois – Analyse comparative et proposition alternative. *Faune Sauvage*, **271**: 28–35.
- Montadert M, Léonard P (2006) Skewed sex ratio and differential adult survival in the hazel grouse *Bonasia bonasa*. *Acta Zoologica Sinica*, **52**: 655-662.
- Piertney SB, Höglund J (2001) Polymorphic microsatellite DNA markers in black grouse (*Tetrao tetrix*). *Molecular Ecology Notes*, **1**: 303–304.
- Segelbacher G, Paxton R, Steinbrueck G, Trontelj P, Storch I (2000) Characterisation of microsatellites in capercaillie (*Tetrao urogallus*) (AVES). *Molecular Ecology*, **9**: 1934–1935.
- Taberlet P, Luikart G (1999) Non-invasive genetic sampling and individual identification. *Biol. J. Linnean Soc.*, **68**: 41-55.

Annexe I:

Liste des échantillons analysés et assignement à un génotype.

Tube_ech	Population	Individu	Sexe	Remarques
Auzet_CRL46	Auzet	Bb_Auzet_01	Male	
Auzet_CRL13	Auzet	bb_Auzet_02	Femelle	Echantillon humide, pas assez de silica gel
Auzet_CRL09	Auzet	Bb_Auzet_03	Male	Echantillon humide, pas assez de silica gel
Auzet_CRL15	Auzet	Bb_Auzet_03	Male	Echantillon humide, pas assez de silica gel
Auzet_CRL03	Auzet	Bb_Auzet_04	Femelle	
Auzet_CRL08	Auzet	Bb_Auzet_05	Male	
Auzet_CRL19	Auzet	Bb_Auzet_06	Femelle	
Auzet_CRL14	Auzet	Bb_Auzet_07	Femelle	Echantillon humide, pas assez de silica gel
Auzet_CRL20	Auzet	Bb_Auzet_07	Femelle	
Auzet_CRL21	Auzet	Bb_Auzet_08	Male	
Auzet_CRL22	Auzet	Bb_Auzet_09	Male	
Auzet_CRL23	Auzet	Bb_Auzet_10	Femelle	
Auzet_CRL05	Auzet	Bb_Auzet_11	Femelle	
Auzet_CRL06	Auzet	Bb_Auzet_11	Femelle	
Auzet_CRL26	Auzet	Bb_Auzet_11	Femelle	
Auzet_CRL27	Auzet	Bb_Auzet_11	Femelle	
Auzet_CRL29	Auzet	Bb_Auzet_12	Male	
Auzet_CRL31	Auzet	Bb_Auzet_13	Femelle	
Auzet_CRL32	Auzet	Bb_Auzet_14	Male	
Auzet_CRL36	Auzet	Bb_Auzet_14	Male	Echantillon humide, pas assez de silica gel
Auzet_CRL17	Auzet	Bb_Auzet_15	Femelle	Echantillon humide, pas assez de silica gel
Auzet_CRL33	Auzet	Bb_Auzet_15	Femelle	
Auzet_CRL34	Auzet	Bb_Auzet_16	Femelle	
Auzet_CRL35	Auzet	Bb_Auzet_16	Femelle	Contamination possible Auzet_CRL34
Auzet_CRL39	Auzet	Bb_Auzet_16	Femelle	Contamination possible Auzet_CRL35
Auzet_CRL42	Auzet	Bb_Auzet_17	Male	
Auzet_CRL02	Auzet	Bb_Auzet_18	Male ?	
Auzet_CRL07	Auzet	Bb_Auzet_18	Male ?	Echantillon humide, pas assez de silica gel
Auzet_F07	Auzet	Bb_Auzet_18	Male ?	
Auzet_CRL04	Auzet	Bb_Auzet_19	Male ?	
Auzet_F13	Auzet	Bb_Auzet_19	Male ?	
Auzet_F15	Auzet	Bb_Auzet_20	Male	
Auzet_F19	Auzet	Bb_Auzet_21	Male	
Auzet_CRL18	Auzet	Bb_Auzet_22	Femelle	
Auzet_F44	Auzet	Bb_Auzet_22	Femelle	
Auzet_CRL11	Auzet	Bb_Auzet_23	Male	
Auzet_F45	Auzet	Bb_Auzet_23	Male	
Auzet_F58	Auzet	Bb_Auzet_24	Femelle	
Auzet_CRL12	Auzet	Bb_Auzet_25	Femelle	
Auzet_F72	Auzet	Bb_Auzet_25	Femelle	
Auzet_CRL01	Auzet			
Auzet_CRL10	Auzet			Coecum, 300 µl pour extraction
Auzet_CRL24	Auzet			
Auzet_CRL25	Auzet			
Auzet_CRL28	Auzet			
Auzet_CRL30	Auzet			Echantillon disloqué en petits bouts
Auzet_CRL37	Auzet			
Auzet_CRL38	Auzet			
Auzet_CRL40	Auzet			Silica gel noir, échantillon fermenté
Auzet_CRL41	Auzet			
Auzet_CRL43	Auzet			

Auzet_CRL44	Auzet			
Auzet_CRL45	Auzet			
Auzet_F51	Auzet			
Auzet_F89	Auzet			Mycelium +++
Auzet_F94	Auzet			
Epine_03	Epine	Bb_Epine_01	Male	Tubes échantillons (Epine_02, 03, 04) indifférenciables
Epine_05	Epine	Bb_Epine_01	Male	
Epine_10	Epine	Bb_Epine_01	Male	
Epine_07	Epine	Bb_Epine_02	Male	
Epine_09	Epine	Bb_Epine_02	Male	résidus d'Inhibitex dans la solution de Prot K
Epine_11	Epine	Bb_Epine_03	Male	
Epine_13	Epine	Bb_Epine_03	Male	
Epine_14	Epine	Bb_Epine_03	Male	petits bouts
Epine_01	Epine	Bb_Epine_04	Male	
Epine_15	Epine	Bb_Epine_04	Male	
Epine_16	Epine	Bb_Epine_04	Male	
Epine_29	Epine	Bb_Epine_04	Male	
Epine_17	Epine	Bb_Epine_05	Femelle	
Epine_18	Epine	Bb_Epine_05	Femelle	
Epine_23	Epine	Bb_Epine_05	Femelle	
Epine_25	Epine	Bb_Epine_05	Femelle	
Epine_20	Epine	Bb_Epine_06	Male	
Epine_24	Epine	Bb_Epine_06	Male	
Epine_26	Epine	Bb_Epine_06	Male	Tubes échantillons (Epine_26, 27) indifférenciables
Epine_30	Epine	Bb_Epine_07	Femelle	résidus d'Inhibitex dans la solution de Prot K
Epine_31	Epine	Bb_Epine_07	Femelle	
Epine_32	Epine	Bb_Epine_07	Femelle	Tubes échantillons (Epine_32, 33) indifférenciables
Epine_33	Epine	Bb_Epine_07	Femelle	Tubes échantillons (Epine_32, 33) indifférenciables
Epine_35	Epine	Bb_Epine_07	Femelle	Tubes échantillons (Epine_34, 35) indifférenciables
Epine_36	Epine	Bb_Epine_07	Femelle	
Epine_28	Epine	Bb_Epine_08	Male	
Epine_34	Epine	Bb_Epine_08	Male	Tubes échantillons (Epine_34, 35) indifférenciables
Epine_02	Epine			Tubes échantillons (Epine_02, 03, 04) indifférenciables
Epine_04	Epine			Tubes échantillons (Epine_02, 03, 04) indifférenciables
Epine_06	Epine			Silica gel noir, échantillon fermenté
Epine_08	Epine			Silica gel noir, échantillon fermenté
Epine_12	Epine			
Epine_19	Epine			
Epine_21	Epine			petit échantillon
Epine_22	Epine			
Epine_27	Epine			Tubes échantillons (Epine_26, 27) indifférenciables
JLZ_08.09	Sagne	Bb_Sagne_01	Femelle	Hors période IPPC
JLZ_08.10	Sagne	Bb_Sagne_01	Femelle	Hors période IPPC
JLZ_08.12	Sagne	Bb_Sagne_01	Femelle	Hors période IPPC
JLZ_08.13	Sagne	Bb_Sagne_01	Femelle	Hors période IPPC
JLZ_08.14	Sagne	Bb_Sagne_01		Hors période IPPC
JLZ_08.43	Sagne	Bb_Sagne_01	Femelle	
JLZ_08.44	Sagne	Bb_Sagne_01	Femelle	
Sagne_98	Sagne	Bb_Sagne_01	Femelle	
JLZ_08.11	Sagne	Bb_Sagne_02	Male	Hors période IPPC
JLZ_08.17	Sagne	Bb_Sagne_02	Male	Hors période IPPC
JLZ_08.16	Sagne	Bb_Sagne_03	Femelle	Hors période IPPC
JLZ_08.18	Sagne	Bb_Sagne_03	Femelle	Hors période IPPC
JLZ_08.47	Sagne	Bb_Sagne_03	Femelle	Inversion avec JLZ_08.46 (corrigée)
JLZ_08.48	Sagne	Bb_Sagne_03	Femelle	
JLZ_08.49	Sagne	Bb_Sagne_03	Femelle	
Sagne_503	Sagne	Bb_Sagne_03	Femelle	

JLZ_08.54	Sagne	Bb_Sagne_04	Male	
JLZ_08.58	Sagne	Bb_Sagne_04	Male	
Sagne_80	Sagne	Bb_Sagne_05	Male	
Sagne_86	Sagne	Bb_Sagne_05	Male	
JLZ_08.04	Sagne	Bb_Sagne_06	Male ?	Hors période IPPC
JLZ_08.05	Sagne	Bb_Sagne_07	Male ?	Hors période IPPC
JLZ_08.30	Sagne	Bb_Sagne_08		
Plumée	Sagne	Bb_Sagne_09	Male	Plumes, hors période IPPC
Sagne_62	Sagne	Bb_Sagne_10	Male	
JLZ_08.35	Sagne	Bb_Sagne_11	Male	
JLZ_08.36	Sagne	Bb_Sagne_11	Male	
JLZ_08.37	Sagne	Bb_Sagne_11	Male	
JLZ_08.51	Sagne	Bb_Sagne_11	Male	
JLZ_08.57	Sagne	Bb_Sagne_11	Male	
JLZ_08.60	Sagne	Bb_Sagne_11	Male	
JLZ_08.64	Sagne	Bb_Sagne_11	Male	
JLZ_08.67	Sagne	Bb_Sagne_11	Male	
JLZ_08.69	Sagne	Bb_Sagne_11	Male	
JLZ_08.73	Sagne	Bb_Sagne_11	Male	
JLZ_08.74	Sagne	Bb_Sagne_11	Male	
JLZ_08.81	Sagne	Bb_Sagne_11	Male	
Sagne_01	Sagne	Bb_Sagne_11	Male	JLZ_08.32
Sagne_02	Sagne	Bb_Sagne_11	Male	JLZ_08.33
Sagne_05	Sagne	Bb_Sagne_11	Male	
Sagne_09.1	Sagne	Bb_Sagne_11	Male	Tube échantillons (Sagne_09.1, 09.2) indifférenciables
JLZ_08.19	Sagne	Bûcheron??? (Bb_sagne_12???)		Hors période IPPC
JLZ_08.25	Sagne	Carsou	Male	Hors période IPPC
JLZ_08.52	Sagne	Carsou	Male	
JLZ_08.71	Sagne	Carsou	Male	
JLZ_08.72	Sagne	Carsou	Male	
JLZ_08.76	Sagne	Carsou	Male	
JLZ_08.77	Sagne	Carsou	Male	
JLZ_08.82	Sagne	Carsou	Male	
JLZ_08.83	Sagne	Carsou	Male	Plumes, hors période IPPC
Sagne_48	Sagne	Carsou	Male	
Sagne_501.1	Sagne	Carsou	Male	Tube échantillons (Sagne_501.1, 501.2) indifférenciables
Sagne_501.2	Sagne	Carsou	Male	Tube échantillons (Sagne_501.1, 501.2) indifférenciables
Sagne_502	Sagne	Carsou	Male	
JLZ_08.34	Sagne	Concert	Male	
JLZ_08.53	Sagne	Concert	Male	
JLZ_08.55	Sagne	Concert	Male	
JLZ_08.56	Sagne	Concert	Male	
JLZ_08.59	Sagne	Concert	Male	
JLZ_08.70	Sagne	Concert	Male	
JLZ_08.75	Sagne	Concert	Male	
Sagne_14	Sagne	Concert	Male	
Sagne_20	Sagne	Concert	Male	
Sagne_21	Sagne	Concert	Male	
JLZ_08.20	Sagne	Noisetier_1	Femelle	Hors période IPPC
JLZ_08.21	Sagne	Noisetier_1	Femelle	Hors période IPPC
JLZ_08.24	Sagne	Noisetier_1	Femelle	Hors période IPPC
JLZ_08.26	Sagne	Noisetier_1	Femelle	
JLZ_08.27	Sagne	Noisetier_1	Femelle	
JLZ_08.29	Sagne	Noisetier_1	Femelle	
JLZ_08.40	Sagne	Noisetier_1	Femelle	
JLZ_08.63	Sagne	Noisetier_1	Femelle	
JLZ_08.68	Sagne	Noisetier_1	Femelle	

JLZ_08.78	Sagne	Noisetier_1	Femelle	
Sagne_61	Sagne	Noisetier_1	Femelle	
Sagne_64	Sagne	Noisetier_1	Femelle	
JLZ_08.22	Sagne	Noisetier_2	Male	Hors période IPPC
JLZ_08.23	Sagne	Noisetier_2	Male	Hors période IPPC
JLZ_08.38	Sagne	Noisetier_2	Male	
JLZ_08.45	Sagne	Noisetier_2	Male	
JLZ_08.46	Sagne	Noisetier_2	Male	Inversion avec JLZ_08.47 (corrigée)
JLZ_08.65	Sagne	Noisetier_2	Male	
JLZ_08.66	Sagne	Noisetier_2	Male	
JLZ_08.28	Sagne	Sanglier	Male	
JLZ_08.50	Sagne	Sanglier	Male	
JLZ_08.61	Sagne	Sanglier	Male	
JLZ_08.62	Sagne	Sanglier	Male	
JLZ_08.79	Sagne	Sanglier	Male	
Sagne_68.1	Sagne	Sanglier	Male	Tube échantillons (Sagne_68.1, 68.2) indifférenciables
Sagne_68.2	Sagne	Sanglier	Male	Tube échantillons (Sagne_68.1, 68.2) indifférenciables
JLZ_08.01	Sagne			Hors période IPPC
JLZ_08.02	Sagne			Plumes, hors période IPPC
JLZ_08.03	Sagne			Hors période IPPC
JLZ_08.06	Sagne			Hors période IPPC
JLZ_08.07	Sagne			Hors période IPPC
JLZ_08.08	Sagne			Hors période IPPC
JLZ_08.15	Sagne			Hors période IPPC
JLZ_08.31	Sagne			
JLZ_08.39	Sagne			
JLZ_08.41	Sagne			
JLZ_08.42	Sagne			
JLZ_08.80	Sagne			
Sagne_09.2	Sagne			Tube échantillons (Sagne_09.1, 09.2) indifférenciables
Sagne_41	Sagne			
Sagne_504	Sagne			
Sagne_505	Sagne			
Sagne_71	Sagne			
Sagne_73	Sagne			
Vuache_95	Vuache	Bb_Vuache_01	Male	
Vuache_96	Vuache	Bb_Vuache_02	Male	
Vuache_98	Vuache	Bb_Vuache_03	Femelle	
Vuache_52	Vuache			
Vuache_93	Vuache			Plumes
Vuache_97	Vuache			
Vuache_99	Vuache			

Annexe II:

Caractéristiques des marqueurs génétiques utilisés. Pour chaque locus, nous indiquons le nom, *Locus*, la séquence (F+R), la taille et le nombre d'allèles observées et la référence citant ces marqueurs. NA indique les trois loci qui n'ont pas amplifié.

Locus	Séquences des amorces (5'-3')	Tailles (Nbre)	Référence
ADL142	F: CAGCCAATAGGGATAAAAAGC R: CTGTAGATGCCAAGGAGTGC	219–255 (12)	Cheng, unpublished
ADL184	F: GCCTCCTCACCCACAAAACC R: TCAGTAACACCACGAAATGCC	NA	Cheng, unpublished
BG 18	F: CCATAACTTAACTTGCACCTTTC R: CTGATACAAAGATGCCTACAA	138–162 (7)	Piertney & Höglund 2001
BG 15	F: AAATATGTTTGCTAGGGCTTAC R: TACATTTTTTCATTGTGGACTTC	125–141 (4)	Piertney & Höglund 2001
LEI098	F: CAGTTAGCAGAGATTTTCCTAC R: TGCCACTGATGCTGCTACTG	NA	Gibbs et al. 1997
TUT 1	F: GGTCTACATTTGGCTCTGACC R: ATATGGCATCCCAGCTATGG	187–199 (4)	Segelbacher et al. 2000
TUT 2	F: CCGTGTCAAGTTCTCCAAAC R: TTCAAAGCTGTGTTTCATTAGTTG	168–204 (9)	Segelbacher et al. 2000
TUT 3	F: CAGGAGGCCTCAACTAATCACC R: CGATGCTGGACAGAAGTGAC	203–229 (8)	Segelbacher et al. 2000
TUT 4	F: GAGCATCTCCAGAGTCAGC R: TGTGAACCAGCAATCTGAGC	NA	Segelbacher et al. 2000