

Conseil Général de l'Isère  
Pôle de Recherche sur la Biodiversité

Appel à proposition 2013



**Diversité génétique chez un amphibien patrimonial  
anthropophile, le sonneur à ventre jaune  
(*Bombina variegata*)**

**Influence de l'environnement et recommandation pour la  
conservation.**

**Pierre Joly & Hugo Cayuela  
LEHNA, Université Lyon1**





CERFE



Pôle de recherche sur la Biodiversité – Conseil Général de l'Isère – AAP 2013

## Diversité génétique chez un amphibien patrimonial anthropophile, le sonneur à ventre jaune (*Bombina variegata*)

Pierre Joly et Hugo Cayuela  
 UMR 5023 LEHNA  
 (Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés)  
 Université Lyon 1

### Résumé

La gestion patrimoniale du sonneur à ventre jaune nécessite de bien appréhender les déterminants de la dynamique des populations dans des contextes écologiques en général contraints par la forte variabilité des milieux de reproduction. Ces derniers sont en effet de petites pièces d'eau dont l'échelle de dimensions est métrique, ce qui sous-entend de forts risques de dessiccation et de fortes variations thermiques et trophiques. Malgré cette variabilité potentielle, on peut néanmoins discerner deux types de prévisibilité, selon la localisation et la genèse des plans d'eau. Le premier type correspond aux « marmites » rocheuses créées par érosion en bordure de torrents, alors que le second correspond aux ornières laissées par les engins de débardage en forêt (type fréquent d'habitat en Isère). Du point de vue de la prévisibilité spatiale, les mares rocheuses persistent probablement depuis des siècles alors que les ornières forestières sont beaucoup plus labiles et n'offrent des conditions favorables à la reproduction que pendant quelques années. Nous avons comparé les paramètres de survie et de dispersion dans les deux types d'habitat, et nous avons mis en relation les différences observées avec la structuration génétique des populations. Comme nous l'avions supposé, le taux de dispersion est plus élevé dans l'environnement le plus imprévisible, alors que la survie apparente y est plus faible. Ces variations de traits démographiques sont à mettre en relation avec une plus forte structuration génétique des populations en environnement prévisible, aucune structuration n'étant détectable dans les milieux forestiers. Il est possible que ces deux tactiques biologiques reposent sur la différenciation de deux écotypes, ce qui demande néanmoins à être confirmé en focalisant une étude sur cette question. Du point de vue de la gestion, chaque forme doit recevoir un traitement particulier. Dans les environnements forestiers, la réussite de la reproduction revêt plus d'importance qu'en milieu rivulaire. Il est donc nécessaire d'éviter les chantiers de débardage en période de reproduction, ainsi que de prévoir des mesures de compensation (création de sites de substitution) lorsque des chemins et laies forestières sont restaurés pour faciliter l'accès des véhicules de sécurité. En environnement de rive de torrent, les mesures de gestion doivent se concentrer sur la survie adulte et sur le maintien d'une connectivité pour permettre des flux géniques entre populations.

## Rappel du contexte et des objectifs

La gestion patrimoniale des espaces forestiers est souvent déterminée par des compromis entre rentabilité (coupes à blanc, débardage en toute saison), sécurité (entretien d'une voirie pour les véhicules de pompiers), agrément (accueil du public) et protection de la biodiversité. Dans le département de l'Isère, les populations de sonneur à ventre jaune (*Bombina variegata*) illustrent bien cette problématique. Le sonneur est une espèce d'amphibien qui implique un haut niveau de protection de ses habitats, car patrimoniale et inscrite à l'annexe II de la Directive Habitat. Or ce petit anou forestier se reproduit souvent dans des pièces d'eau de petites dimensions, de faible persistance, comme les ornières laissées par les engins sur les chemins et les laies.

Dans un tel contexte, la dynamique des populations de sonneur dépend d'un compromis entre la nécessité d'une certaine artificialisation du milieu forestier (entretien de chemins, fréquentation, exploitation) et le respect des exigences de l'espèce (maintien des ornières, tranquillité en période de reproduction). Au chapitre des excès d'artificialisation, on constate l'empierrement des chemins et des débardages conduits au printemps, pendant la saison de reproduction. L'empierrement est destiné à améliorer la portance des voies pour la rapidité d'intervention des véhicules de sécurité en cas d'incendie ou d'accident, cet empierrement entraînant la disparition des sites favorables à la reproduction. Les débardages en période de reproduction détruisent très probablement de nombreux individus par écrasement et détériorent les conditions de croissance pour les têtards. Au chapitre des excès de protection, une cessation de l'exploitation forestière entraînerait *ipso facto* la disparition de nombreux sites favorables à la reproduction.

L'Isère est un département qui accueille de nombreuses populations de sonneurs à ventre jaune (Noblet 1984, 1998). Le département s'inscrit en effet dans une zone où l'espèce est encore bien présente, qui couvre les régions de l'est de la France, et qui joue un rôle de conservation extrêmement important à l'échelle du continent européen (Zuiderwijk 1980, Morand et Joly 2012). L'aire de répartition semble se contracter à cause des changements climatiques et de l'intensification de l'exploitation forestière (enrésinement) (Lescure et al. 2011). Elle a disparu des régions méditerranéennes, de Belgique et des Pays-Bas (Massemin & Cheylan 2001, Duguet et Melki 2005). En Isère, l'espèce a disparu de la vallée alluviale de l'Isère (Grésivaudan, Noblet 1998) et elle dépend aujourd'hui étroitement des massifs forestiers et donc de la gestion sylvicole.

Dans les milieux forestiers, l'espèce exploite trois types d'habitat :

- des fissures et anfractuosités du sol pour l'hibernation (de septembre à avril). Cet habitat est en général non limitant.
- des sources et autres suintements d'eau souterraine, fraîche en toute saison, occupées en général hors saison de reproduction. Cet habitat est déterminant.
- de petites pièces d'eau, peu profondes et bien exposées au soleil, pour la ponte et le développement des têtards. Cet habitat est aussi déterminant et sa présence dépend en général totalement des activités humaines.

Les habitats de reproduction étant essentiellement des ornières, nous pouvons considérer qu'ils sont fondamentalement instables et spatialement imprévisibles. Qu'on considère les aspects temporels ou spatiaux, ces sites apparaissent et disparaissent au hasard des chantiers à n'importe quel moment et en n'importe quel lieu. La variabilité du trafic et de la nature du sol déterminent une grande diversité de dimensions. Les aléas climatiques interagissent avec ces causes de variabilité pour déterminer une grande diversité de persistance de l'eau et des conditions de développement pour les têtards.

Des analyses comparatives ont révélé la grande originalité biologique du sonneur. La réponse au risque d'échec de reproduction réside en premier lieu dans une extraordinaire longévité (20 ans en conditions naturelles voir par exemple Dino et al. 2010) qui permet d'amortir les

conséquences de multiples échecs de reproduction (Joly et Morand 1994, Morand et Joly 1995, Morand 1997). A cette réponse qui touche à une répartition temporelle des risques d'échec (*bet hedging* temporel, Zeineddine et Janssen 2009), nous supposons que s'ajoute une réponse au niveau spatial qui consisterait à multiplier les sites d'oviposition au cours d'une même saison (« ne pas mettre tous ses œufs dans le même panier ») et/ou à adopter un comportement nomade à l'échelle de plusieurs années (*bet hedging* spatial, Crean et Marshall 2009).

Le présent projet s'inscrit dans cette dernière problématique. Comme il est très difficile et coûteux de suivre individuellement des animaux comme le sonneur sur de grandes échelles spatiales, nous proposons d'utiliser l'outil génétique pour évaluer la réponse spatiale des sonneurs à l'instabilité et l'imprévisibilité du milieu forestier anthropisé.

## Etat de la question

Par rapport aux autres espèces d'amphibiens, la compréhension de l'écologie du sonneur a pris du temps tant il est nécessaire de considérer de grandes échelles spatiales. L'originalité de sa stratégie biologique a été révélée par l'analyse du peuplement d'amphibiens de la vallée du Rhône (Joly et Morand 1994, Morand et Joly 1995). Dans ces études, le Sonneur absorbe à lui seul l'essentiel de la variance dans l'occupation des différents types de milieux. De façon symétrique, il absorbe aussi une grande partie de la variance des traits biologiques par sa grande longévité et la grande taille de ses œufs. L'originalité de la stratégie de reproduction a aussi été caractérisée par rapport aux autres espèces d'anoures pionniers comme le crapaud calamite (Morand 1997). Le fractionnement des pontes et la mobilité entre sites d'oviposition sont considérés comme des réponses adaptatives à l'instabilité et l'imprévisibilité des habitats (Morand 1997, Buschmann 2002).

Les déterminants de sa présence ont été révélés par le doctorat de Julian Pichenot (2005), dont le travail de terrain a été réalisé dans les régions Champagne-Ardenne et Picardie-Artois. Ce travail a révélé la nécessité que soient réunis en un même lieu des milieux aquatiques permanents et frais et des milieux aquatiques temporaires et chauds. Ces exigences imposent une répartition assez fragmentée avec deux grands contextes écologiques, les fonds de vallées et les massifs forestiers exploités sur socle géologique rétenteur d'eau (terrains alluvionnaires par exemple). Dans certaines vallées, les deux types de milieux aquatiques ne dépendent pas d'activité humaine mais de la dynamique hydrologique seule lorsque les petites pièces d'eau favorables à la reproduction sont générées par la seule force de l'érosion sur substrat dur (mares cupulaires sur roche dure ou « *rock pool* »). Ce contexte a été étudié en détail en Ardèche sur la rivière Gluyère (Cayuela et al. 2011). La grande différence entre ce milieu que l'on considère comme originel pour l'espèce et les milieux anthropisés qu'elle a du coloniser à la faveur des activités humaines réside dans la prévisibilité interannuelle des sites de reproduction. A l'échelle de la vie d'un individu (10-20 ans), les systèmes de mares cupulaires sur roche dure sont stables dans leur emplacement. Seule varie la probabilité de mise en eau intra-annuelle, mais cette dernière est en général forte, le substrat étant imperméable. Les systèmes d'ornières forestières sont par essence beaucoup plus instables et imprévisibles, ce qui laisse supposer une utilisation différente de l'espace par les Sonneurs, caractérisée par un surcroît de mobilité et de nomadisme.

Chez le Sonneur à ventre jaune, ces différences reposent notamment sur la durabilité de l'habitat de reproduction à l'échelle pluri-générationnelle. Dans les systèmes « originels » (archipels de mares cupulaires sur substrat rocheux dans le lit majeur des rivières), la durabilité interannuelle de l'habitat de reproduction apparaît supérieure à celle rencontrée dans les systèmes anthropisés (les archipels d'ornières sur les chemins forestiers). Cette différence est notamment reliée à la gestion active appliquées aux forêts de production (remise en état des rémanants et des chemins forestiers après exploitation de parcelle), ainsi qu'à la rapidité du processus d'atterrissement et de colmatage naturel des pièces d'eau.



## Problématique et justification scientifique

Au cours de son histoire, l'homme a façonné les milieux naturels dans lesquels il a évolué. Ces modifications ont souvent contribué à l'apparition d'habitats semi-naturels qui ont favorisé de nombreuses espèces animales et végétales. Au sein de ces environnements anthropisés, les conditions écologiques rencontrées par une espèce anthropophile sont susceptibles de diverger de celles de son habitat originel. Actuellement, nos connaissances concernant l'implication de ces divergences sur le patron de variation génétique au sein des populations naturelles restent fragmentaires. Classiquement, ces variations de fréquences alléliques résultent à la fois de processus démographiques complexes (*genetic drift*, *bottleneck*) et des effets de la sélection naturelle. Cependant, peu d'études ont à ce jour permis de mettre en évidence l'influence de l'artificialisation des habitats naturels sur le patron de variation génétique des populations tout en cherchant à séparer respectivement les effets démographiques et sélectifs.

La sélection naturelle peut conduire à de rapides changements de fréquences alléliques chez les populations naturelles. Ces changements interviennent assez souvent de façon ponctuelle, faisant de la sélection naturelle un agent potentiellement fort mais passager. En effet, des locus peuvent demeurer au cours de longues périodes dans un état sub-neutre tout en passant brièvement par des périodes d'intense évolution sous l'effet de la sélection. A cet égard, l'artificialisation des habitats naturels est susceptible de conduire à l'évolution rapide de certaines régions du génome lorsqu'elle agit comme une force sélective au sein d'une population. Néanmoins, la mise en évidence de tels processus reste complexe puisque les effets de cette sélection sont partiellement dépendants de paramètres démographiques tels que la taille efficace de population  $N_e$  à long terme et le sex-ratio opérationnel. Pour contrôler les effets confondants de ces paramètres démographiques, utiliser différents locus constitue un approche adaptée. De plus, compléter les informations démographiques fournies par cette approche indirecte au moyen de méthodes directes telles que la capture-recapture renforce nos capacités à mieux comprendre les processus populationnels impliqués.

### *Identification des facteurs démographiques impliqués dans le patron de variations génétiques des populations de Sonneur en contexte « originels » et anthropisés*

Les divergences de durabilité-prévisibilité des sites aquatiques de reproduction à l'échelle pluri-générationnelle dans les deux types de milieux sont susceptibles d'influencer certains paramètres démographiques chez les populations de Sonneur à ventre jaune. En contexte anthropisé (ornières forestières), nous suspectons que la faible durabilité des pièces d'eau augmente le comportement nomade des individus. Au moyen de méthodes directes (capture-recapture) nous testerons l'hypothèse que les probabilités de transitions individuelles entre archipels sont plus fortes dans ces systèmes que dans les systèmes originels (mares rivulaires rocheuses). De plus, nous testerons la prédiction selon laquelle la proportion de transients (individus migrants traversant la zone d'échantillonnage) est supérieure dans les systèmes anthropisés. Par corollaire, il est attendu que ces différences de mobilité ont une incidence sur la diversité génétique au niveau local. Au moyen de marqueurs moléculaires neutres, nous testerons la prédiction selon laquelle une plus forte diversité génotypique est attendue dans les systèmes anthropisés. Enfin, nous testerons l'hypothèse d'une plus forte structuration génétique en contexte originel relié à une plus forte fidélité des individus aux archipels de mares. Enfin, nous cherchons à déterminer si la dispersion adopte un caractère sexe-biaisé dans l'un et l'autre contexte.

## Matériel et méthodes

### Sites d'échantillonnage

A l'échelle de notre projet (multi-partenariat : LEHNA, CERFE, ONF), cinq populations (réparties sur un ensemble d'archipels distincts) ont été échantillonnées : deux dans des systèmes « originels » (BG pour rivière Bourges et GL pour rivière Gluyère, département de l'Ardèche, dont une située dans un ENS) et quatre dans des systèmes anthropisés (VE pour Forêts domaniale de Verdun (Meuse), BO pour Forêt domaniale de l'Argonne à Boult-aux-Bois (Ardennes), BL pour massif forestier des Blaches (Isère) et DA pour forêt domaniale de Darney (Vosges)). En Isère, notre projet s'appuie sur des acquis importants obtenus, mais non complètement valorisés à ce jour, sous forme d'un suivi démographique en capture-marquage-recapture de trois ans réalisé dans la forêt des Blaches qui occupe une terrasse alluviale dans le Bas-Dauphiné (travail réalisé en coopération avec l'association Gère Vivante au début des années 2000 par J.P. Léna et P. Joly). Concernant les deux autres populations en systèmes anthropisés, nous utiliserons les données démographiques collectées par l'ONF (6 ans de suivi par capture-recapture en forêt de Verdun) et le CERFE (6 ans de suivi dans la forêt d'Argonne à Boult-au-Bois). Concernant les deux populations situées en systèmes « originels » (vallée de la Bourge et de la Gluyère), nous nous appuyerons sur les travaux déjà effectués par H. Cayuela en collaboration avec le Parc Naturel Régional des Monts d'Ardèche et le Conseil général de l'Ardèche (5 ans de suivi par capture-recapture).

### Méthodes de capture-recapture

La sélection des cinq métapopulations échantillonnées s'est effectuée sur la base de données démographiques (suivi par méthode de capture-recapture) disponibles. Une métapopulation est un ensemble de populations (dèmes) chacune occupant un archipel de points d'eau (Fig. 1)

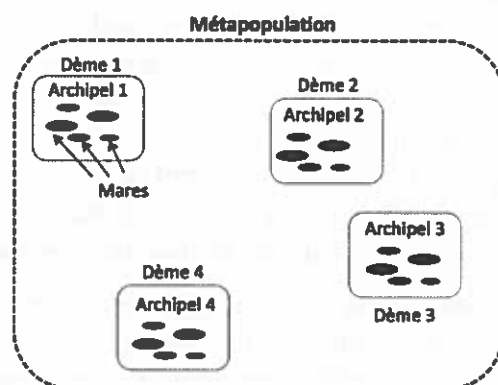


Figure 1. Organisation spatiale de l'échantillonnage d'une métapopulation de sonneurs.

Le suivi de la population des Blaches n'a pas été utilisé car la forte densité et la régularité de distribution des ornières et autres points d'eau dans ce site font qu'il n'est pas possible de définir des dèmes locaux (archipels). La longueur minimale de la série temporelle a été fixée à trois ans pour disposer de données suffisamment robustes et complètes. Nous avons aussi privilégié les jeux de données disponibles impliquant un grand nombre d'individus (500 à 5000 individus) répartis dans un nombre suffisant d'archipels (8 à 64 selon les populations considérées). Nous utilisons des modèles de capture-recapture multi-événements (*multi-events models*, voir Pradel 2005) permettant de modéliser la dispersion au sein de multiples sites de capture (Lagrange et al. 2014). Nous estimerons simultanément des taux de mouvements entre archipels, tout en gérant les problèmes de capturabilité et d'hétérogénéité des probabilités de capture.

Le suivi annuel repose sur trois sessions de capture espacées d'un mois et réalisées pendant la période d'activité des sonneurs (Mai, Juin, Juillet). Tous les points d'eau ont été échantillonnés à chaque session. L'identification individuelle repose sur le patron spécifique de taches noires sur le fond jaune du ventre, enregistré par photo. L'analyse des photos est réalisée par un outil informatique dédié (Extract Compare, Hiby & Lovel 1990).

Nous avons utilisé le modèle de capture-recapture pour multiples sessions développé par Lagrange et al. (2014) pour tester l'hypothèse de l'impact de l'imprévisibilité de l'habitat sur la dispersion. Ce modèle permet d'estimer simultanément les probabilités de survie et de dispersion pour un grand nombre de sites. Comme l'hétérogénéité de recapture a déjà été détectée dans de précédentes études sur *Bombina variegata* (Cayuela et al. 2014), nous avons modifié la paramétrisation du modèle de Lagrange en incluant différents états d'hétérogénéité (voir Péron et al. 2010). Cette nouvelle paramétrisation a été implémentée dans le logiciel E-SURGE (Choquet et al. 2009). L'ajustement des différents modèles construits a été analysé par un classement selon le critère d'information d'Akaike ajusté pour les petits échantillons (AICc) (Burnham & Anderson 2002). Les probabilités de recapture ont été modélisées comme une fonction de l'hétérogénéité inter-individuelle (intitulée HET) et de la variation entre sessions de recapture (TIME). En utilisant systématiquement ces termes explicatifs, nous sommes en mesure de tester les hypothèses selon lesquelles la survie et la dispersion sont : 1) constants (CST) ; 2) différent entre métapopulations (POP) ; 3) entre environnements (prévisibles vs imprévisible) (STATUS).

### *Collectes des échantillons et analyses moléculaires*

Par population, nous avons effectué deux prélèvements salivaires selon la répartition suivante : pour GL, 285 individus dans 41 dèmes ; pour BG, 92 individus dans 13 dèmes ; pour BL, 92 individus dans 13 dèmes ; pour DA, 41 individus dans 43 dèmes. Les populations utilisées sont **DA** et **BL** pour les environnements imprévisibles, et **GL** et **BG** pour les environnements prévisibles. Le nombre d'archipels de points d'eau varie de 13 à 43 au sein de chaque métapopulation. Nous avons échantillonné entre 1 et 41 individus par archipel. Pour prélever sans dommage corporel, nous avons appliqué la méthode d'écouvillonnage buccal (*buccal swabbing*) qui consiste à passer l'extrémité d'un coton-tige à l'intérieur de la cavité buccale. L'ADN a été extrait par une digestion standard (protéinase K [75 µg + 200 µL de tampon TNES [0,05 M Tris, 0,1 M NaCl, 0,01 M EDTA, 0,5% SDSJ]) puis une purification au chloroforme (technique utilisée par Nürnberger et al. 2003).

Tous les individus des 4 métapopulations ont été génotypés pour 15 marqueurs microsatellites. Nous avons tout d'abord utilisé 5 marqueurs développés chez *B. bombina* pour lesquels des produits de PCR sont efficaces chez *B. variegata* (Hauswald et al. 2007): Bobom8A, Bobom9H, Bobom12F, Bobom5F, Bobom10F. Ensuite, 3 marqueurs identifiés par Nürnberger et al. (2003) chez *B. variegata* : Bv24.12, Bv11.2, Bv11.7. Enfin, nous avons développé des protocoles pour 8 nouveaux marqueurs : Bomvar\_DLWD0, Bomvar\_Cons470, Bomvar\_CUSGH, Bomvar\_DORC3, Bomvar\_DM3QM, Bomvar\_4EMX7J, Bomvar\_CWL3Z, Bomvar\_4EGYJ3 (Cayuela et al. soumis). Pour chaque locus, les allèles ont été notés indépendamment par deux opérateurs par GENEMARKER v. 1,95 (SoftGenetics), utilisant le standard de taille GS600 LIZ.

Après avoir effectué les tests de base (détection d'allèles nuls, test de l'équilibre de Hardy-Weinberg) et pratiqué les statistiques descriptives sur la diversité génétique au sein des métapopulations, nous avons appliqué d'une part une méthode de recouvrement et d'autre part une approche corrélative développée en génétique du paysage (Manel et al. 2003) pour analyser la structuration spatiale des populations en relation avec l'imprévisibilité de l'environnement au niveau local.

A cause de l'inéquitabilité du nombre d'échantillons entre archipels due aux variations d'abondance des sonneurs, nous avons calculé l'hétérozygotie avec GENALEX (Peakall &



Smouse 2006). Le coefficient de consanguinité  $F_{is}$  et les déviations à l'équilibre de Hardy-Weinberg ont été évalués par GENEPOP 4.1 (Rousset 2008). La détection d'allèles nuls a été réalisée avec MICRO-CHECKER 2.2.3 (Van Oosterhout et al. 2004).

Nous avons ensuite décrit la structure génétique entre archipels au sein de chaque métapopulation en appliquant une méthode d'assignation basée sur un algorithme d'agrégation bayésien implémenté dans STRUCTURE (Pritchard et al. 2000). Plus précisément, nous avons estimé le nombre de « clusters » génétiques ( $K$ ) dans chaque métapopulation et nous avons établi leur recouvrement spatial. Nous avons testé  $K$  valeurs comprises entre 1 et 10, et, pour chaque valeur, nous avons répété 10 fois l'analyse. Nous avons utilisé STRUCTURE HARVESTER (Earl 2012) pour résumer les résultats et la valeur optimale de  $K$  a été déterminée à la fois par le tracé de log-vraisemblance et la statistique  $\Delta K$  (Evanno et al. 2005). Nous avons suivi l'approche hiérarchique proposée par Coulon et al. (2008) pour tester la validité de sous-structures au sein des clusters.

Une fois cette analyse de structuration effectuée, nous avons appliqué une approche corrélative basée sur des modèles linéaires mixtes pour tester si les distance génétiques entre archipels dépendaient de l'imprévisibilité de l'environnement, après pondération par la distance. Les distances génétiques inter-individuelles ont été calculées à partir de la mesure de dissimilarité de Bray-Curtis (Cushman et al. 2006, Cushman & Landguth 2010, Legendre & Legendre 2012, Castillo et al. 2014). Les métapopulations étudiées sont toutes dans un paysage dominé par la forêt, même si ce dernier est parcellé de cultures et de prairies pour une de celles exposées à l'imprévisibilité (Blâches, Isère). Comme le milieu forestier est favorable aux déplacements de la plupart des espèces d'amphibiens (Rothermel & Semlitsch 2002, Cushman 2006, Popescu & Hunter 2011, Janin et al. 2012), et que c'est aussi le cas pour le sonneur (Cayuela et al. 2015b), nous avons considéré que les paysages avaient un bon degré de connectivité et avons focalisé nos analyses essentiellement sur la distance entre sites. Dans tous les cas, les sites aquatiques sont reliés par des structures linéaires, les rivières dans les milieux prévisibles et les laies forestières dans les milieux imprévisibles. Toutefois, ces deux types de structures linéaires ne sont pas similaires en termes de comportement, les rivières, qui plus est encaissées, pouvant avoir un rôle de connexion plus fort en contraignant les déplacements des sonneurs. Nous avons donc considéré deux hypothèses alternatives. Sous la première, les mouvements des sonneurs ne dépendent essentiellement de la distance euclidienne topographique entre sites (distance au niveau du sol et non à vol d'oiseau). Sous la seconde, dans les populations de milieux prévisibles structurés par des rivières, la distance entre sites est déterminée par le réseau hydrographique, suivant le lit des cours d'eau. Dans les modèles mixtes, la distance génétique entre individus est considérée comme variable dépendante, alors que l'une ou l'autre des distances topographiques ont été introduites comme covariables d'ajustement. L'imprévisibilité du milieu est incluse dans le modèle comme un terme explicatif (variable discrète à deux modalités). Deux modèles distincts ont donc été construits selon ces covariables d'ajustement. La non-indépendance des distances prises deux à deux a été prise en compte par la structure de covariance du modèle. Plus spécifiquement, nous avons appliqué la méthode proposée par Clarke et al. (2002) (adaptée par Selkoe et al. 2010 et van Strien et al. 2012 pour les distances  $F_{st}$  entre populations) utilisant une matrice de Toeplitz(1) comme structure de covariance pour tenir compte de la non-indépendance des distances génétiques entre dèmes pris deux à deux. Cette procédure permet d'inclure les paires de dèmes comme effet additif aléatoire en contraignant ces effets aléatoires de suivre une distribution  $N(0, \sigma_r^2)$ . Les résultats issus de l'application de cette procédure ont été comparés au test usuel de Mantel (Prunier et al. 2013). L'influence de chaque alternative a été évaluée par AIC (Akaike Information Criterion).

## Résultats

### *Estimation de la dispersion au sein des métapopulations*

Les résultats ont été établis à partir des populations VE, BO, GL et BG. Nous n'avons pas intégré les données issues du massif des Blâches (Isère) car la configuration spatiale des archipels, caractérisée par une relative continuité des sites aquatiques (on ne peut pas identifier d'archipels, l'ensemble de la zone échantillonnée étant assimilable à un archipel), n'a pas permis de définir des dèmes, donc un taux de dispersion. Dans les populations étudiées, le nombre global d'individus identifiés est de 3873, basé sur un total de 9859 captures. Les paramètres de survie et de dispersion estimés par les deux meilleurs modèles (différence d'AIC inférieure à 2 et inertie d'AICc du meilleur modèle inférieure à 0,90) ont été moyennés et présentés dans la Fig. 2 (les résultats de l'analyse selon le critère d'Akaike sont donnés par le tableau 1).

**Tableau 1. Estimation de la dispersion au sein des métapopulations à partir de données CMR. Dans les modèles utilisés, les probabilités de recapture dépendent toujours de l'interaction entre les groupes d'hétérogénéité (HET) et le temps (TIME). La survie et la dispersion peuvent être constants (CST) ou peuvent varier entre métapopulations (POP), ou selon la prévisibilité de l'environnement (STATUS). Les modèles sont ordonnés selon AICc et l'inertie relative de ce paramètre ( $w$ ). Le tableau présente aussi le nombre de paramètres utilisés dans les modèles ( $k$ ) et la déviance du modèle.**

r	Modèle	$k$	Déviance	$w$	$AICc$
1	$S_{(POP)}, D_{(STATUS)}, P_{(HET \times TIME)}$	25	19633.18	0.68	19683.31
2	$S_{(POP)}, D_{(POP)}, P_{(HET \times TIME)}$	29	19626.65	0.32	19684.83
3	$S_{(STATUS)}, D_{(STATUS)}, P_{(HET \times TIME)}$	23	19683.75	0.00	19729.86
4	$S_{(STATUS)}, D_{(POP)}, P_{(HET \times TIME)}$	27	19677.23	0.00	19731.38
5	$S_{(POP)}, D_{(CST)}, P_{(HET \times TIME)}$	23	19782.67	0.00	19828.78
6	$S_{(STATUS)}, D_{(CST)}, P_{(HET \times TIME)}$	21	19833.25	0.00	19875.34
7	$S_{(CST)}, D_{(STATUS)}, P_{(HET \times TIME)}$	22	20100.14	0.00	20144.25
8	$S_{(CST)}, D_{(POP)}, P_{(HET \times TIME)}$	26	20093.62	0.00	20145.76
9	$S_{(CST)}, D_{(CST)}, P_{(HET \times TIME)}$	20	20249.64	0.00	20289.72

La survie apparente est significativement plus basse dans les métapopulations situées dans des environnements imprévisibles que dans celles situées dans les environnements plus prévisibles (Fig. 2A). De façon convergente, les paramètres de dispersion (intra-annuel et inter-annuel) sont drastiquement plus élevés dans les populations des environnements imprévisibles (Fig. 2B et 2C).

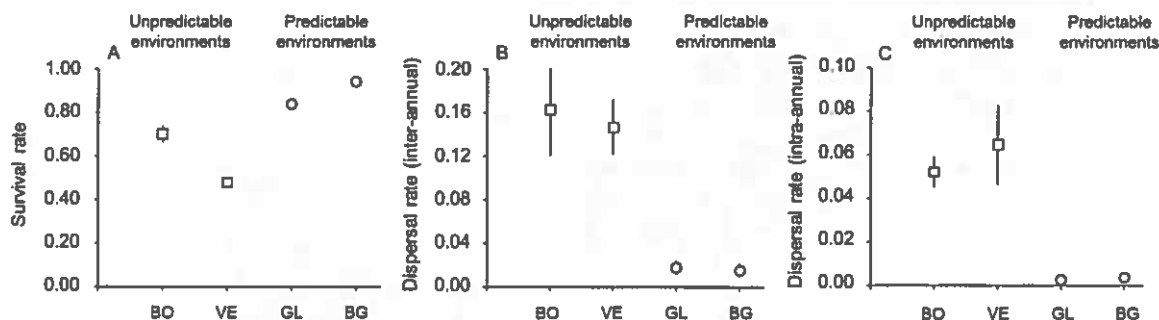


Figure 2. Valeurs moyennes (entre les deux meilleurs modèles) de la survie (A), du taux de dispersion Intra-annuel (B) et du taux de dispersion inter-annuel (C) avec leur déviation standard, dans les quatre métapopulations pour lesquelles les paramètres ont pu être estimés. Environnements imprévisibles (laies forestières) : BO pour forêt d'Argonne à Boult-aux-Bois (Ardennes), VE pour forêt de Verdun (Meuse) ; environnements prévisibles : GL pour rivière Gluyère, BG pour rivière Bourges (toutes deux en Ardèche).

### *Différenciation génétique entre métapopulations*

Quel que soit la taille des échantillons, l'hétérozygotie non biaisée attendue ( $uEH$ ) est plus élevée, et les coefficients de consanguinité ( $F_{is}$ ) sont plus faibles dans les métapopulations exposées à un environnement imprévisible (forêt), et ce pour 87% des locus. De plus, en environnement prévisible (rivière), les déviations à l'équilibre de Hardy-Weinberg sont significatives pour 75% des locus dans la métapopulation BG, et 45% des locus dans la métapopulation GL. En revanche, cette déviation n'atteint que 18% aux Blâches (BL) et 0% à Darney (DA).

L'analyse hiérarchique de la structuration génétique révélée par STRUCTURE montre qu'un unique groupe génétique ( $K = 1$ ) est détectable dans les métapopulations de DA et BL (Fig. 3). En revanche, les métapopulations en environnement prévisible (BG et GL) montrent une structuration génétique complexe et hiérarchisée. Au sein de la métapopulation BG, deux clusters génétiques ont été identifiés (3-A et 3-B), dont l'un (3-A) est aussi sous-structuré en deux sous-clusters (3-AA et 3-AB, Fig. 3). Dans la métapopulation GL, deux clusters ont aussi été identifiés (4-A et 4-B). L'analyse hiérarchique montre que le cluster 4-B est lui-même structuré en 4 sous-clusters (4-BAA, 4-BAB, 4-BAC, 4-BB).

En appliquant l'approche corrélative, nous avons mis en évidence un effet clair de l'organisation dendritique du réseau de rivières sur les distances génétiques (AIC « modèle dendritique » = 100502,2 ; AIC « modèle Euclidien » = 103286,7). En utilisant le meilleur modèle, la relation entre distance paysagère et distance génétique varie significativement en fonction de la prévisibilité de l'environnement (Tab. 2).

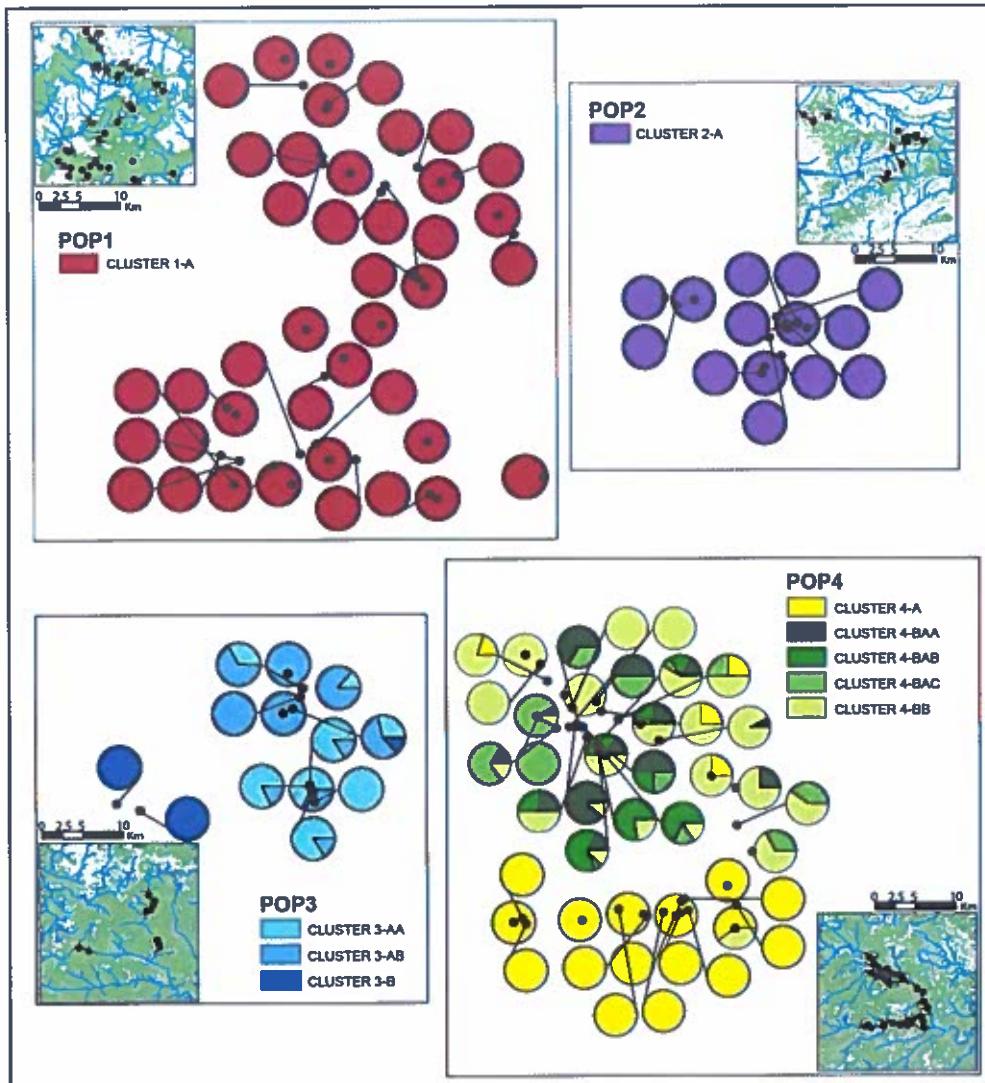


Figure 3. Distribution spatiale des différents clusters génétiques inférés par l'analyse hiérarchique dans STRUCTURE dans les 4 métapopulations étudiées. Dans les métapopulations en environnement imprévisible (POP1 = forêt de Darney, Vosges ; POP 2 = forêt des Blâches, Isère), aucune structuration génétique n'est détectée. En revanche, en environnement prévisible (POP3 = rivière Bourges, POP4 = rivière Gluyère), une structuration génétique complexe et hiérarchisée est observée. Dans la métapopulation BG (Bourges), l'analyse hiérarchique révèle la présence de deux clusters initiaux, 4-A et 4-B, le cluster 4-B étant lui-même structuré en entités plus locales 4-BA et 4-BB. Le sous-cluster 4-BA est lui aussi structuré en entités encore plus fines 4-BAA, 4-BAB et 4-BAC.

## Discussion

De façon générale, les hypothèses testées n'ont pas été réfutées. L'imprévisibilité de l'environnement, estimée ici par la stabilité/instabilité des points d'eau à une échelle pluri-annuelle, a une influence très significative sur la dispersion des individus, dont la conséquence sur la structuration génétique des populations est clairement perceptible. En environnement imprévisible (ornières forestières créées par les engins de débardage), les sonneurs se déplacent beaucoup plus, ce qui induit une relative homogénéité génétique à l'échelle du paysage (de la métapopulation). En revanche, en environnement prévisible (cupules érosives sur substrat granitique ou basaltique), les sonneurs dispersent peu d'un archipel à un autre, avec comme conséquence une forte structuration génétique à l'échelle du paysage.



### *Analyse des taux de dispersion et de survie*

Dans les deux populations occupant les environnements forestiers et leurs ornières, les taux de survie apparente sont plus faibles que dans les populations de bord de rivière. A l'inverse, les taux de dispersion sont plus élevés, ce qui peut expliquer la dispersion d'individus qui ne sont pas nécessairement morts. Ces résultats convergent avec les travaux théoriques qui prédisent que la dispersion est favorisée (sélectionnée) dans les environnements les plus stochastiques (Travis & Dytham 1999, Reigada et al. 2015).

Ces résultats ont été rendus possibles par la durée des suivis qui a permis de tenir compte du fait que les femelles ne se reproduisent pas tous les ans, et ne sont pas, de ce fait, capturable à chaque session. La brièveté du suivi de la métapopulation des Blâches en Isère (3 années) n'a pas permis de ce fait une estimation fiable des paramètres démographiques. Nous avons par ailleurs (résultats non présentés dans le présent rapport) pu montrer que la plus faible espérance de vie dans les milieux forestiers imprévisibles était compensée par un meilleur succès reproducteur (estimé par le recrutement de jeunes adultes) (Cayuela et al. sous presse). La dispersion natale des juvéniles reste une inconnue de poids dans la compréhension du fonctionnement des deux types de métapopulation. L'analyse de la structuration génétique laisse néanmoins supposer qu'elle est plus faible dans les milieux prévisibles de rivière que dans les environnements forestiers. Nous pouvons ainsi prédire que les juvéniles issus de populations de forêt montrent une propension innée au mouvement plus forte que ceux issus des populations de rivière. Cette prédiction est en passe d'être validée (Cayuela et al., en préparation).

### *L'imprévisibilité de l'habitat affecte la structure génétique des métapopulations*

Les métapopulations en environnement prévisible se caractérisent par une substantielle déviation de l'équilibre de Hardy-Weinberg, une faible hétérozygotie attendue et un Fis élevé pour la plupart des locus étudiés. **Ces patrons suggèrent un déclin significatif de la diversité génétique dans ces environnements.**

Malgré cette plus faible diversité génétique en environnement prévisible, nous avons mis en évidence en utilisant une méthode Bayésienne de clustering **une structuration hiérarchique complexe des métapopulations qui ne se retrouve pas dans les métapopulations en environnement imprévisible.** Cette structuration a aussi été confirmée par une approche corrélative.

Dans ces métapopulations de bords de rivière, nous avons aussi montré que **la divergence génétique est organisée selon la configuration dendritique du réseau hydrographique.** Dans ce contexte écologique, les populations de sonneurs obéissent à un modèle d'organisation dendritique des déplacements (Rissler et al. 2000, Lowe et al. 2006, Campbell Grant et al. 2007), ce qui signifie que les déplacements éventuels d'individus entre populations locales suivent le fond des vallées. **Cette organisation peut conduire à de forts isolements de populations** (en particulier vers l'amont des rivières) alors que ces populations peuvent être très proches d'autres populations appartenant à une autre rivière (d'un point de vue Euclidien, « à vol d'oiseau »), les migrations étant contraintes par les éléments topographiques qui les séparent (Fagan 2002, Rissler et al. 2004). Néanmoins, et malgré cette organisation qui devrait faciliter les déplacements d'une population à l'autre le long d'une même rivière, la structuration génétique est particulièrement forte en comparaison de ce qui est observé dans les populations qui occupent les laies forestières.

Dans ce dernier type d'environnement où le niveau d'imprévisibilité et d'instabilité est élevé, nos résultats suggèrent des déplacements multiples et non contraints entre les populations locales, ce qui converge avec les résultats de deux études antérieures chez le crapaud des plaines (*Anaxyrus cognatus*) et le pélobate de Couch (*Scaphiopus couchii*) (Chan & Zamudio 2009), et chez la rainette des canyons (*Hyla arenicolor*), le crapaud tacheté (*Anaxyrus punctatus*) et le pélobate mexicain (*Spea multiplicata*) (Mims et al. 2015).

S'il est tentant de chercher dans les variations de flux géniques entre archipels de mares la cause de la structuration génétique des métapopulations, nous devons aussi tenir compte de l'influence de la dérive génétique, car cette dernière induit de la structuration dans les petites métapopulations isolées, et s'oppose ainsi à l'influence homogénéisatrice des flux géniques (Slatkin 1977, Hutchinson & Templeton 1999, Anderson et al. 2010, Lowe & Allendorf 2010). En conséquence, des différences d'effectifs génétiques (tailles de populations) entre métapopulations selon l'environnement peut représenter un effet confondant non négligeable. Les tailles des populations étudiées apparaissent néanmoins comparables ce qui suggère qu'un tel effet confondant est peu probable dans notre cas.

### *Applications à la conservation du sonneur*

Nos résultats révèlent que le fonctionnement démographique des populations de sonneurs à ventre jaune diffère de façon sensible selon l'environnement. Les populations qui occupent l'environnement de bord de rivière, que nous avons considéré comme relativement prévisible car les cupules granitiques (*rock pools*) ont une forte pérennité, présentent une faible dispersion et une forte structuration génétique. Les populations qui exploitent les ornières forestières, environnement que nous avons considéré comme relativement imprévisible car ces milieux sont de faible durée, mais apparaissent régulièrement à la faveur des coupes, se caractérisent par une forte dispersion et une faible structuration génétique. La plus faible survie apparente dans cet environnement et compensée par un fort recrutement, ce qui suggère un meilleur succès reproducteur, peut-être dû à une meilleure productivité du milieu aquatique en environnement forestier.

Si le sonneur s'est apparemment bien adapté à ces milieux anthropiques que sont les ornières, deux facteurs sont déterminants pour la viabilité de ces populations. Le premier est le risque d'une forte mortalité adulte due aux passages d'engins lors de chantiers de débardage conduits au printemps. Le second réside dans la qualité des sites de reproduction qui doivent permettre un bon développement des têtards. Les meilleurs sites de reproduction sont assez profonds et bien exposés au soleil. Leur comblement, qui peut être conduit pour améliorer la viabilité des laies forestières, peut dramatiquement réduire la production de jeunes et donc le recrutement de jeunes adultes. **Etant donné la structure démographique de ces populations, le succès de la reproduction est à privilégier, en installant par exemple des milieux de substitution en cas de débardage au cours de la période de reproduction ou en cas d'empierrement des chemins forestiers.**

La situation des sonneurs le long des torrents de montagne est paradoxalement plus préoccupante si l'on considère que ces milieux représentent l'habitat originel du sonneur. Dans ce contexte, nous avons montré une forte sédentarité associée à une forte structuration génétique des populations. La production de jeunes y est aussi plus faible qu'en forêt. Ces populations sont donc plus vulnérables à des changements environnementaux qui pourraient affecter la mortalité adulte et la bonne conduite des comportements de reproduction. L'augmentation de la pression touristique peut ainsi constituer une menace si elle se traduit par une augmentation de la mortalité adulte ou une perturbation des activités de reproduction. Sur le long terme, ces populations présentent plus de risques d'effondrement que les populations forestières à cause des risques d'érosion génétique et de consanguinité. Il est par conséquent vital de favoriser la connectivité entre les archipels.

### *Perspectives de ce travail*

Une question-clé est celle des processus d'adaptation à l'imprévisibilité de l'environnement. Il serait intéressant de tester si l'imprévisibilité exerce une pression sélective suffisamment forte et depuis suffisamment longtemps pour que les populations répondent par une propension innée à disséminer. Nous avons d'ores et déjà réalisé des expériences d'élevage en « *common garden* » de descendances issues des deux environnements qui confirment en

effet une plus forte propension au mouvement chez les jeunes issus des populations forestières. De plus, nous avons détecté de fortes différences génétiques entre les populations de bord de torrent et celles qui occupent les environnements forestiers. Pour être tout à fait convaincants, ces résultats préliminaires nécessitent néanmoins d'être complétés par l'échantillonnage de nouvelles populations pour être en mesure de tester l'hypothèse d'une différenciation d'un écotype forestier antropophile.

## Remerciements

Hugo Cayuela a disposé d'une allocation de recherche du ministère de l'enseignement supérieur pour un doctorat réalisé au LEHNA (UMR 5023). Le LEHNA a pris en charge une partie du coût des analyses génétiques. Le suivi de la population de Darney a été financé par la DREAL de Lorraine et l'ONF. Pour les approches démographiques, le projet a bénéficié de collaborations avec Aurélien Besnard et Claude Miaud, membres du Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE, UMR 5175) à Montpellier. Les analyses génétiques

Pour le travail de terrain, l'Association Gère Vivante a été instigatrice, aux côtés de l'ONF, du suivi démographique en forêt des Blâches, réalisé au début des années 2000 (non utilisé dans le présent rapport). L'ONF a aussi produit les données pour la forêt de Verdun et la forêt de Darney (Eric Bonaire). Julian Pichenot, doctorant à l'université de Reims, a produit les données pour la forêt d'Argonne, avec le soutien logistique du CERFE à Boult-aux-Bois et le soutien financier du Conseil général des Ardennes.

Ce travail a fait l'objet de dérogations à la réglementation sur les espèces protégées dans chacun des départements concernés.

## Références citées

- Anderson, C.D., Epperson, B.K., Fortin, M.-J., Holderegger, R., James, P.M.A., Rosenberg, M.S., Scribner, K.T., Spear, S., 2010. Considering spatial and temporal scale in landscape-genetic studies of gene flow. *Molecular Ecology*, 19: 3565–3575.
- Buschmann H (2002) Fecundity of yellow-bellied toads *Bombina variegata* under free-range conditions: an indication of risk-spreading strategy. *Amphibia-Reptilia*, 23: 362–369
- Canestrelli D., Cimmaruta R., Constantini V. et Nascetti G., 2006. Genetic diversity and phylogeography of the Apennine yellow-bellied toad *Bombina pachypus*, with implications for conservation. *Molecular Ecology*, 15 : 3741–3754
- Castillo, J.A., Epps, C.W., Davis, A.R., Cushman, S.A., 2014. Landscape effects on gene flow for a climate-sensitive montane species, the American pika. *Molecular Ecology*, 23: 843–856.
- Cayuela, H., Cheylan, M., Joly P., 2011. The best of a harsh lot in a specialized species: breeding habitat use by the yellow-bellied toad (*Bombina variegata*) on rocky riverbanks. *Amphibia-Reptilia*, 32: 533-539.
- Cayuela H., Besnard, A., Joly P., 2013. Multi-events models reveal the absence of interaction between an invasive frog and a native endangered amphibian. *Biological Invasions*, 15: 2001-2012.
- Clarke, R.T., Rothery, P., Raybould, A.F., 2002. Confidence limits for regression relationships between distance matrices: Estimating gene flow with distance. *JABES*, 7: 361–372.
- Crean A.J. et Marshall D.J., 2009. Coping with environmental uncertainty: dynamic bet hedging as a maternal effect. *Phil. Trans. R. Soc., B*, 364: 1087–1096

- Cushman, S.A., McKelvey, K.S., Hayden, J., Schwartz, M.K., Helberg, A.E.M.E., Losos, E.J.B., 2006. Gene Flow in Complex Landscapes: Testing Multiple Hypotheses with Causal Modeling. *The American Naturalist*, 168: 486–499.
- Cushman, S.A., Landguth, E.L., 2010. Spurious correlations and inference in landscape genetics. *Molecular Ecology*, 19: 3592–3602.
- Dino, M., Milesi, S., & Di Cerbo, A. R., 2010. A long term study on *Bombina variegata* (Anura: Bombinatoridae) in the “Parco dei Colli di Bergamo” (North-western Lombardy). In *Atti VIII Congresso Nazionale SHI (Chieti, 22-26 settembre 2010*, pp. 225-231).
- Duguet R. et Melki F., 2005. *Les amphibiens de France, de Belgique et du Luxembourg*. ACEMAV – Editions Biotope.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J., 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14: 2611–2620.
- Hutchison, D.W., Templeton, A.R., 1999. Correlation of Pairwise Genetic and Geographic Distance Measures: Inferring the Relative Influences of Gene Flow and Drift on the Distribution of Genetic Variability. *Evolution*, 53: 1898–1914.
- Joly P. & Morand A., 1994. Theoretical habitat templates, species traits, and species richness: amphibian in the Upper Rhône and its floodplain. *Freshwater Biology*, 31: 455-468.
- Kendall, W. L., J. D. Nichols, and J. E. Hines. 1997. Estimating temporary emigration using capture-recapture data with Pollock's robust design. *Ecology*, 78: 563-578.
- Legendre, P., Legendre, L.F.J., 2012. *Numerical Ecology*. Elsevier.
- Lescure J., Pichenot J. et Cochard P.O., 2011. Régression de *Bombina variegata* (Linné, 1758) en France par l'analyse de sa répartition passée et présente. *Bull. Soc. Herp. Fr.*, 137 : 5-41
- Lowe, W.H., Allendorf, F.W., 2010. What can genetics tell us about population connectivity? *Molecular Ecology*, 19: 3038–3051.
- Manel, S., Schwartz, M.K., Luikart, G., Taberlet, P., 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology & Evolution*, 18 : 189–197.
- Massemin, D., & Cheylan, E. M., 2001. Éléments bibliographiques sur le statut passé et actuel du Sonneur à ventre jaune *Bombina variegata* (L.)(Anura; Discoglossidae) en région méditerranéenne française. *Bulletin de la Société herpétologique de France*, (97), 41-47.
- Morand A., 1997. Stabilité relative des habitats de développement larvaire et de reproduction de *Bombina variegata* et *Bufo calamita* : l'insuffisance des modèles r-K et r-K-A. *Geobios*, 21 : 23-36.
- Morand A. & Joly P. 1995. Habitat variability and space utilization by the amphibian communities of the French Upper-Rhone floodplain. *Hydrobiologia*, 300/301: 249-257.
- Morand A. et Joly P., 2012. *Bombina variegata*. Pp.98-99 in Lescure J. et de Massary J.-C., Atlas des Amphibiens et des Reptiles de France. Biotope Editions.
- Noblet J.-F. 1984 – Synthèse des observations de reptiles et amphibiens pour le département de l'Isère. *Bull. Soc. Herp. Fr.*, 29: 61-62.
- Noblet J.-F. 1998 – Plan d'Action pour la protection du Crapaud Sonneur à ventre jaune en Isère (38). 7 p.



- Nürnberg B., Hofman S., Förg-Brey B., Praetzel G., MacLean A., Szymura J.M., Abbot C.M. & Barton N.H., 2003. A linkage map for the hybridizing toads *Bombina bombina* and *Bombina variegata* (Anura : Discoglossidae). *Heredity*, 91: 136-142.
- Peakall, R., Smouse, P.E., 2006. genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6 : 288–295.
- Pichenot J., 2008. *Approche multiscalaire des relations espèce-habitat pour la délimitation du voisinage écologique de populations locales chez le Sonneur à ventre jaune (Bombina variegata)*. Thèse, Université de Reims.
- Pradel, R., 2005. Multievent: an extension of multistate capture–recapture models to uncertain states. *Biometrics*, 61: 442-447.
- Prunier, J.G., Kaufmann, B., Fenet, S., Picard, D., Pompanon, F., Joly, P., Lena, J.P., 2013. Optimizing the trade-off between spatial and genetic sampling efforts in patchy populations: towards a better assessment of functional connectivity using an individual-based sampling scheme. *Molecular Ecology*, 22: 5516–5530.
- Reigada, C., Schreiber, S.J., Altermatt, F., Holyoak, M., 2015. Metapopulation dynamics on ephemeral patches. *The American Naturalist*, 185: 183–195.
- Rousset, F., 2008. GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8 : 103–106.
- Selkoe, K.A., Watson, J.R., White, C., Horin, T.B., Iacchei, M., Mitarai, S., Siegel, D.A., Gaines, S.D., Toonen, R.J., 2010. Taking the chaos out of genetic patchiness: seascape genetics reveals ecological and oceanographic drivers of genetic patterns in three temperate reef species. *Molecular Ecology*, 19: 3708–3726.
- Slatkin, M., 1977. Gene flow and genetic drift in a species subject to frequent local extinctions. *Theoretical Population Biology*, 12: 253–262.
- Travis, J.M.J., Dytham, C., 1999. Habitat persistence, habitat availability and the evolution of dispersal. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 266: 723–728.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W.F., Wills, D.P.M., Shipley, P., 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4: 535–538.
- Van Strien, M.J., Keller, D., Holderegger, R., 2012. A new analytical approach to landscape genetic modelling: least-cost transect analysis and linear mixed models. *Molecular Ecology*, 21: 4010–4023.
- Zeineddine, M. and Janssen, V.A.A. 2009. To age, to die: parity evolutionary tracking and Cole's paradox. *Evolution*, 63: 1498-1507.
- Zuiderwijk A. 1980 – Amphibian Distribution Patterns in Western Europe. *Bijdr. Dierk.*, 50: 52-72.

## Annexe 1

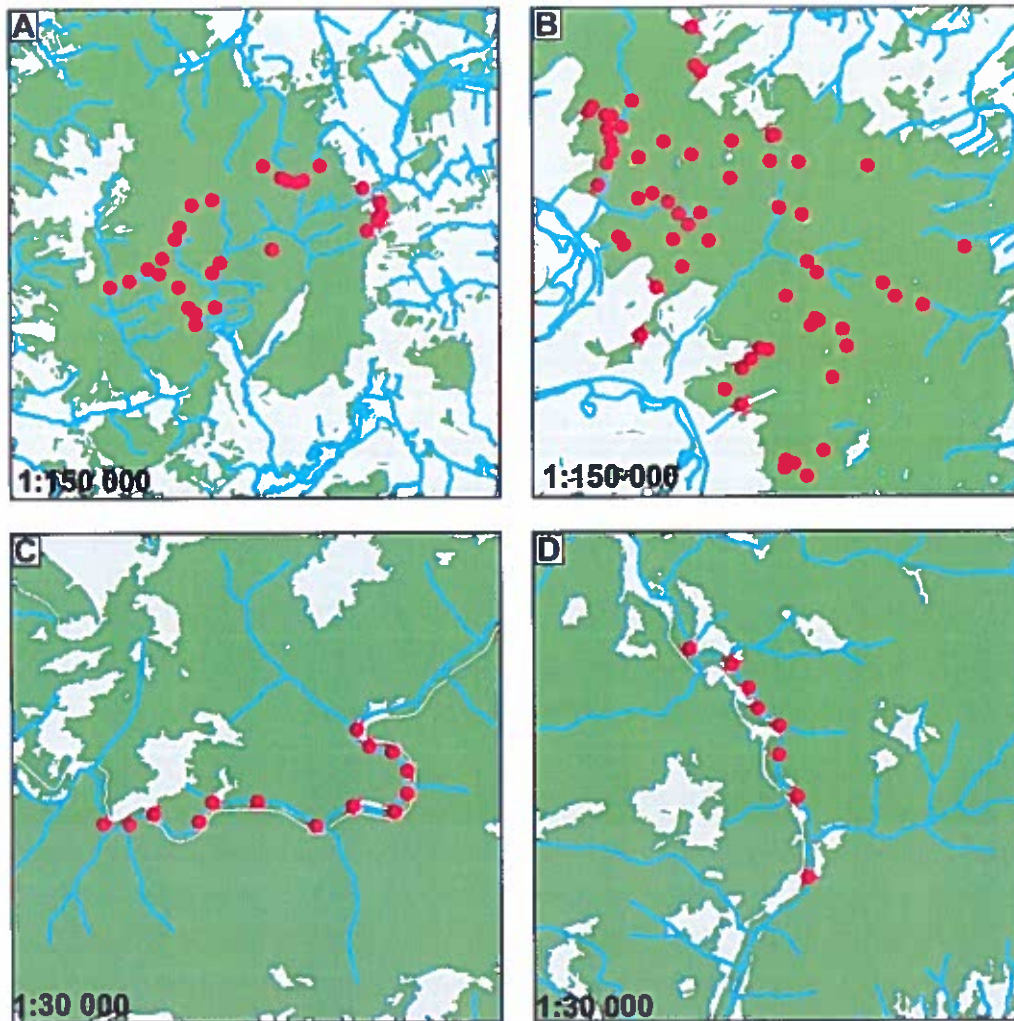


Figure A1. Cartes des différentes métapopulations utilisées pour le suivi démographique. A : Forêt d'Argonne à Boult-aux-Bois (BO, Ardennes). B : forêt de Verdun (VE, Meuse) ; C : rivière Bourges (BG, Ardèche) ; D : rivière Gluyère (GL, Ardèche). Les points rouges représentent des archipels de petits points d'eau occupés par *B. variegata* pour la reproduction. Les forêts sont représentées en vert et le réseau hydrographique en bleu. Les cartes C et D correspondent à l'environnement prévisible.

**Tableau A1. Caractéristiques des populations utilisées pour les suivis démographiques. BO : forêt d'Argonne à Boult-aux-Bois ; VE : forêt de Verdun ; GL : rivière Gluyère ; BG : rivière Bourges.**

Meta-population	Période d'étude	Durée du suivi	Nbre de sessions	Nbres de captures	Nbres d'individus	Nbres d'archipels
BO	2006–2008	3 ans	9	638	305	28
VE	2012–2014	3 ans	9	4587	2531	64
GL	2012–2014	3 ans	9	2672	601	14
BG	2012–2014	3 ans	9	1962	436	8

**Tableau A2. Caractéristiques environnementales des quatre populations utilisées pour le suivi démographique.**

	Persistance de l'archipel	Origine des archipels de mares	Distances moyennes entre archipels (m)	Nombre de mares par archipel
BO	1 à 10 ans	débardage	2864,50 (57%)	3,70 (70%)
VE	1 à 10 ans	débardage	4424,64 (53%)	5,64 (88%)
GL	>10 ans	érosion	676,57 (61%)	4,52 (105%)
BG	>10 ans	érosion	501,62 (61%)	4,71 (93%)

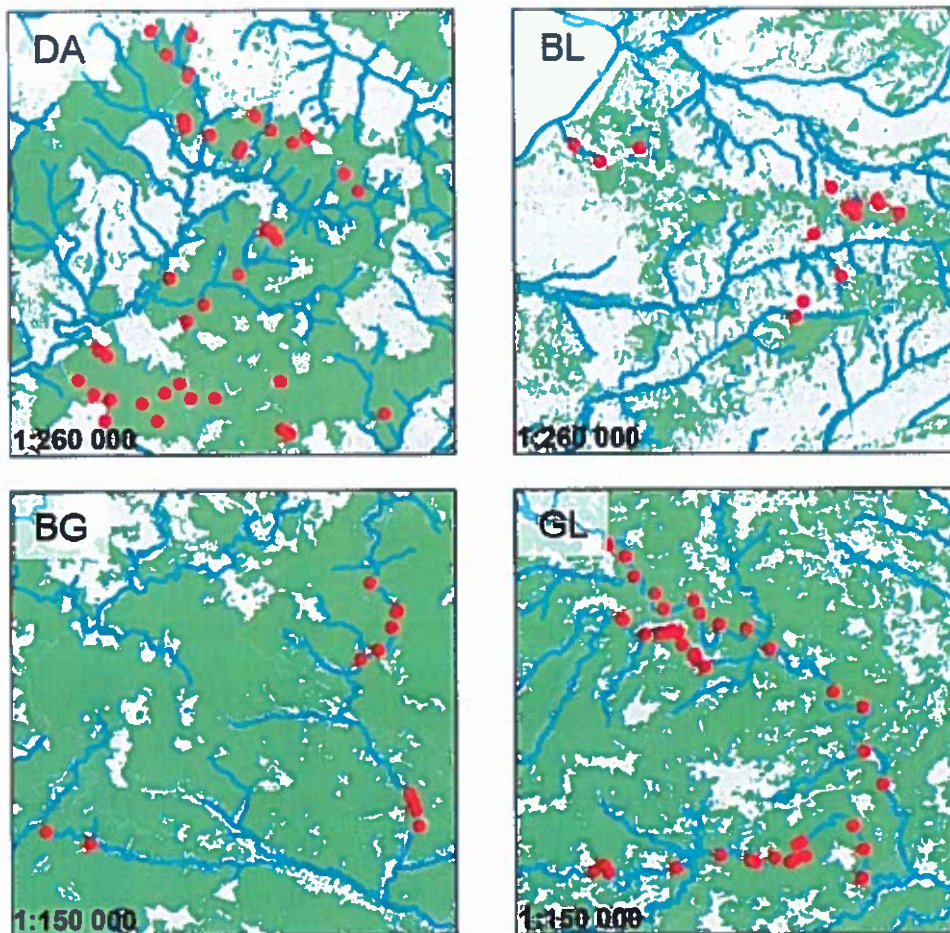


Figure A2. Cartes des métapopulations utilisées pour les analyses génétiques. En haut, environnement imprévisible : DA (forêt de Darney, Vosges) et BL (forêt des Blâches, Isère). En bas, environnement prévisible : BG (rivière Bourges, Ardèche) et GL (rivière Gluyère, Ardèche).



Tableau A3. Caractéristiques des marqueurs microsatellites développés pour cette étude (Cayuela et al., soumis), de ceux développés par Nürnberg et al. (2003) [et par Hauswaldt et al. (2007)]. BG : rivièrè Bourges ; GL : rivièrè Gluyère ; BL : forêt des Blaches ; DA : forêt de Darney. Na : nombre d'allèles par locus ; Ne : effectif génétique par locus ; Ho : hétérozygotie observée ; uHE : hétérozygotie attendue non biaisée ; HWE : déviation à l'équilibre de Hardy-Weinberg (\*\*\*) : significatif ; ns : non significatif), Fis : coefficient de consanguinité ; Null : probabilité de présence d'un allèle nul.

		Cayuela et al.							Nürnberg et al. 2003			Hauswaldt et al. 2007					
		Bomvar_DLWDO	Bomvar_Cons470	Bomvar_CUSGH	Bomvar_DORC3	Bomvar_DM3QM	Bomvar_4EMX7J	Bomvar_CWL3Z	Bomvar_4EGYJ3	bv11.7	bv11.2	Bv24.12	Bobom8A	Bobom12F	Bobom10F	Bobom5F	Bobom9H
BG	Na	2	2	2	4	2	3	2	3	3	2	2	3	8	6	3	6
	Ne	1.49	1.63	1.18	1.57	1.65	1.02	1.13	1.07	1.35	1.24	1.86	1.43	1.77	2.39	1.23	1.95
	Ho	0.26	0.27	0.12	0.31	0.29	0.01	0.09	0.02	0.17	0.13	0.29	0.26	0.34	0.52	0.18	0.33
	uHE	0.33	0.39	0.15	0.37	0.40	0.02	0.12	0.07	0.26	0.20	0.46	0.30	0.44	0.58	0.19	0.49
	HWE	***	***	ns	***	***	***	***	***	***	ns	***	***	***	ns	ns	***
	Fis	0.24	0.34	0.14	0.12	0.33	0.50	0.25	0.68	0.23	0.17	0.30	0.17	0.22	0.07	0.00	0.31
	Null	0.07	0.34	0.03	0.05	0.10	0.04	0.06	0.10	0.19	0.12	0.40	0.06	0.09	0.04	0.00	0.11
GL	Na	2	1	3	3	3	1	2	2	1	2	2	4	3	4	2	3
	Ne	1.03	-	1.32	2.48	1.02	-	1.01	1.98	-	1.44	1.13	2.21	1.13	1.90	1.01	2.01
	Ho	0.03	-	0.17	0.36	0.02	-	0.01	0.42	-	0.24	0.10	0.29	0.03	0.27	0.01	0.45
	uHE	0.03	-	0.25	0.60	0.02	-	0.01	0.50	-	0.31	0.11	0.55	0.11	0.48	0.01	0.50
	HWE	ns	-	***	***	ns	-	-	ns	-	ns	ns	***	***	***	-	ns
	Fis	-0.01	-	0.30	0.39	-0.00	-	-	0.15	-	0.21	0.13	0.48	0.71	0.42	-	0.12
	Null	0.00	-	0.11	0.17	0.00	-	-	0.05	-	0.26	0.10	0.18	0.13	0.14	-	0.03
BL	Na	4	2	2	7	2	4	3	4	2	4	2	5	8	6	6	6
	Ne	1.53	2.00	1.46	3.72	1.89	1.29	2.06	1.25	1.67	2.83	1.07	2.42	4.89	2.68	2.26	2.97
	Ho	0.33	0.54	0.28	0.74	0.49	0.19	0.50	0.18	0.40	0.67	0.06	0.52	0.78	0.66	0.58	0.64
	uHE	0.35	0.50	0.32	0.73	0.47	0.23	0.51	0.20	0.40	0.65	0.06	0.60	0.80	0.63	0.56	0.66
	HWE	ns	ns	ns	ns	ns	***	***	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Fis	0.04	-0.07	0.11	-0.00	-0.03	0.16	0.02	0.10	-0.01	-0.03	-0.03	0.11	0.02	-0.05	-0.03	0.03
	Null	0.05	0.48	0.03	0.03	0.00	0.06	0.12	0.03	0.27	0.00	0.00	0.08	0.01	0.00	0.02	0.03
DA	Na	2	2	2	5	3	2	4	3	1	4	2	4	5	5	3	4
	Ne	1.82	1.97	1.95	2.83	1.63	1.05	1.78	1.56	-	1.95	1.01	1.98	3.61	2.69	1.06	2.13
	Ho	0.49	0.39	0.44	0.62	0.42	0.04	0.32	0.38	-	0.51	0.01	0.55	0.75	0.49	0.03	0.50
	uHE	0.45	0.50	0.49	0.65	0.39	0.04	0.44	0.36	-	0.49	0.01	0.50	0.73	0.63	0.05	0.53
	HWE	ns	ns	ns	ns	ns	-	ns	ns	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns
	Fis	-0.09	0.20	0.10	0.04	-0.07	-	0.28	0.05	-	-0.04	-	-0.10	-0.03	0.23	0.39	0.06
	Null	0.00	0.49	0.03	0.13	0.00	-	0.16	0.00	-	0.14	-	0.00	0.01	0.07	0.06	0.01

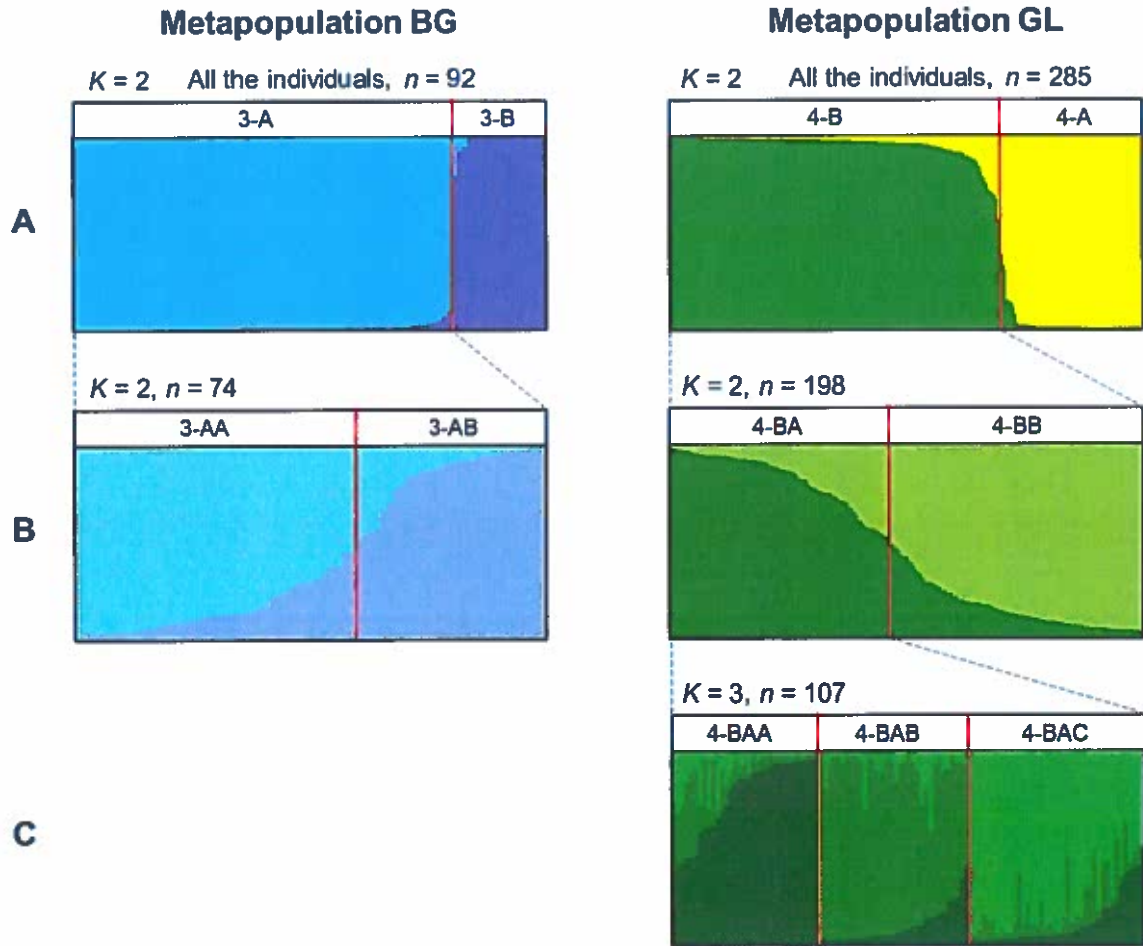


Figure A3. Histogrammes montrant les résultats de l'analyse hiérarchique réalisée par STRUCTURE dans les deux métapopulations où une structuration génétique a été détectée (BG et GL), les deux en environnement prévisible. Chaque barre verticale correspond à un individu. Les segments colorés indiquent l'appartenance statistique de cet individu à chacun des clusters inférés, délimités par une ligne rouge. En BG, deux clusters ont été initialement inférés, et l'analyse hiérarchique a aussi détecté une structure génétique au sein du cluster 3-A avec deux clusters nichés ont aussi été inférés (3-AA et 3-AB). Dans la métapopulation GL, deux clusters ont été inférés en première analyse (4-A et 4-B). L'analyse hiérarchique a permis de détecter des sous-structures au sein du cluster 4-B avec deux clusters (4-BA et 4-BB). L'analyse a ensuite détecté 3 sous-clusters au sein de 4-BA, soit 4-BAA, 4-BAB et 4-BAC.



