



HAL
open science

De la physiologie à la répartition : adaptations climatiques et sensibilité thermique chez une relique glaciaire

Michaël Guillon

► **To cite this version:**

Michaël Guillon. De la physiologie à la répartition : adaptations climatiques et sensibilité thermique chez une relique glaciaire. Sciences de l'environnement. Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées - Université de Poitiers, 2012. Français. NNT: . tel-00996071

HAL Id: tel-00996071

<https://theses.hal.science/tel-00996071v1>

Submitted on 26 May 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THESE

Pour l'obtention du Grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS

(Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées)
(Diplôme National - Arrêté du 7 août 2006)

Ecole Doctorale : Sciences pour l'Environnement Gay Lussac.

Secteur de Recherche : Physiologie, biologie des organismes, populations, interactions

Présentée par :

Michaël GUILLON

**DE LA PHYSIOLOGIE A LA REPARTITION :
ADAPTATIONS CLIMATIQUES ET SENSIBILITE THERMIQUE
CHEZ UNE RELIQUE GLACIAIRE**

Directeur de Thèse : Olivier LOURDAIS (CR1)

Soutenue le 23 Avril 2012

devant la Commission d'Examen

JURY

Philippe VERNON (Directeur de recherche, Université de Rennes 1, UMR 6553)

Claude MIAUD (Professeur, EPHE/CEFE, UMR 5175)

Tahar SLIMANI (Professeur, Université de Marrakech, Maroc)

Luca LUISELLI (Professeur, Institute of Environmental Studies, Italie)

Frédéric GRANDJEAN (Professeur, Université de Poitiers, UMR 6556)

Olivier LOURDAIS (Chargé de recherche, CEBC, UPR 1934)

Yves CHEREL (Directeur de recherche, CEBC, UPR 1934)

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Examineur

Directeur de Thèse

Co-directeur

Remerciements

Et bien voilà !!! A l'heure où j'écris ces quelques lignes, le moment tant espéré d'avoir fini ce travail est encore loin dans ma tête. Toutefois, si vous lisez ce travail, c'est qu'il doit être abouti et je n'aurais jamais pu en être là sans toutes ces rencontres et ces soutiens vers qui j'adresse ces remerciements.

Je voudrais remercier tout d'abord les rapporteurs, Philippe Vernon et Claude Miaud ainsi que les examinateurs, Tahar Slimani, Luca Luiselli et Frédéric Grandjean pour avoir accepté de faire parti de mon jury de thèse.

Je voudrais remercier Olivier Lourdais, mon directeur de thèse, qui m'a permis de faire cette thèse, Yves Cherel qui m'a aussi permis de faire cette thèse et surtout Hervé Cubizolle d'avoir tant soutenu ce projet et sans qui rien ne se serait passé... ainsi que Vincent Bretagnolle pour m'avoir accueilli dans son laboratoire.

Je remercie Sylvie Perez de l'université de Poitiers et Sabrina Biais de l'école doctorale Gay Lussac pour leur disponibilité, leur gentillesse et avoir toujours facilité les démarches administratives malgré la distance.

Un gros merci aux personnes qui ont contribué à finaliser ce manuscrit dans les temps, Oli, Andréaz, ma Cha <3, François, Fred A., Max et Sophie. Merci pour vos contributions essentielles !!

La vie est curieuse surtout lorsqu'on regarde par-dessus son épaule son parcours et notamment les événements qui font prendre, quelques fois par défaut, des chemins assez étranges.

Ma découverte du CEBC et plus particulièrement de l'équipe herpéto en est un bon exemple. Obligé de redoubler une demi année de fac afin de faire un stage de 2 mois au village des tortues où je décide finalement de faire ma licence à Tours, où ce cher professeur Monsieur Leroux, m'apprend l'existence de Xavier Bonnet !!! Enfin l'existence... où presque, vu que c'est surtout Oli qui m'a accueilli au labo en 2000 et avec qui j'ai découvert, la science, les vipères et le rap (non, j'écoute toujours pas, mais lui oui... personne n'est parfait !!!). Et hop, c'est ainsi que tout commença ...

Je voudrais remercier Oli pour m'avoir fait découvrir et partager ses connaissances et notamment sur la vie de nos amies communes (non, je ne parlerai pas de l'époque « free turning », trop tard !!!). Merci de la confiance que tu as su me donner lors de cette proposition de thèse et enfin, merci pour nos discussions et ton soutien constant jusqu'au bout, « la power mec !! ».

Je voudrais également remercier mon « maître de stage » préféré, Frédéric Lagarde, qui m'a énormément apporté tant au niveau scientifique, orthographique mais surtout humain. Merci Fredo de m'avoir fait découvrir le Maroc, Millevaches et les Arthropodes...

À mes grands parents ...

RESUME

De la physiologie à la répartition : Adaptations climatiques et sensibilité thermique chez une relique glaciaire

L'un des objectifs majeurs en écologie est de comprendre les déterminants de la distribution des organismes. La répartition des espèces est le produit d'une réponse dynamique face à l'environnement biotique et abiotique. Il est primordial d'élaborer des inférences solides sur les contraintes pour identifier les facteurs proximaux de la distribution des espèces. Chez les ectothermes, la température corporelle est directement dépendante de la température ambiante qui va affecter la physiologie, le budget d'activité et par conséquent la plupart de leurs traits d'histoire de vie. La prévalence des facteurs abiotiques (climat) sur la distribution des espèces est largement pressentie notamment sur les espèces spécialisées dans l'économie d'énergie. Seul un petit nombre d'espèces d'ectothermes est capable d'exploiter des milieux froids ce qui soulève des questions sur leurs spécificités physiologiques et leurs réponses face aux changements globaux.

Nous avons étudié l'écophysiologie et la distribution d'une espèce boréale, la vipère péliade (*Vipera berus*) dont l'aire de répartition très vaste trouve sa limite sud de répartition en France, dans le Massif Central. Nous avons réalisé des suivis comparatifs avec la vipère aspic (*Vipera aspis*), espèce sœur à répartition parapatrique limitée au Sud-ouest de l'Europe. Nos travaux sur la thermorégulation, le métabolisme, la sensibilité hydrique et la phénologie de reproduction montrent que l'espèce boréale présente des adaptations spécifiques au froid qui la rendent particulièrement vulnérable aux températures élevées notamment en période estivale. Nos résultats de modélisation corrélative soulignent clairement que le climat est suffisant pour prédire la majeure partie de la répartition des espèces. En parallèle, les modèles de niches physiologiques démontrent l'importance de la dépendance thermique des coûts de maintenance et de la phénologie de la reproduction. En effet, les limites Sud de distributions des deux espèces seraient liées à des contraintes énergétiques et hydriques trop fortes alors que l'altération des performances reproductrices limiterait *V. aspis* au Nord. Les variations climatiques passées (cycles glaciaire/interglaciaire) ont largement impacté la structuration génétique des populations de vipère péliade. Les scénarios de changements climatiques futurs pourraient avoir un impact majeur sur la persistance de l'espèce d'ici 2100 dans les landes et tourbières en zone amont de la Loire.

Mots-clés : Squamates, biogéographie, performances, approche mécanistique, niche physiologique, niche écologique, approche diachronique, conservation

SUMMARY

From physiology to distribution: Climatic adaptations and thermal sensitivity in a glacial relict

A major goal in ecology is to understand the determinants of species distribution. Species distributions result from a dynamic response to biotic and abiotic factors. It is of crucial importance to identify limiting factors and their relevance, to identify proximate factors shaping species distributions. In ectotherms, ambient temperature directly influences body temperature and therefore affects physiology, activity budget, and most life history traits. Consequently, abiotic factors (climate) should have a prevalent influence on the distribution of ectotherms. Few species are able to exploit cold climates, raising the problem of their physiological specificities and responses to global change.

We studied the ecophysiology and distribution of a boreal species, the adder (*Vipera berus*). This geographically widespread species (Eurosiberian) meets its southern limit in France (Massif Central). We compared *V. berus* with the asp viper (*Vipera aspis*), a sister species with a parapatric distribution limited to southwestern Europe. Our work on thermoregulation, metabolism, hydric sensitivity, and reproductive phenology reveals specific cold adaptations in *V. berus* that make this species vulnerable to high temperatures, especially during summer. Correlative modeling indicated that climate largely explains the species' distribution. In parallel, mechanistic niche modeling demonstrated the importance of thermal dependence of maintenance costs and reproductive phenology. For instance, southern distribution limits in both species are linked to energetic and hydric constraints while northern limits in *V. aspis* likely involve altered reproductive performance. Past climatic variations (glacial/interglacial periods) have strongly affected the genetic structure of adder populations. Scenarios of future climate change are likely to impact the persistence of this species by 2100 in heathland and peat bogs in the Loire upstream zone.

Keywords: squamates, biogeography, performances, mechanistic approach, physiological niche, ecological niche, diachronic approach, conservation.

Cette thèse a été conduite au Centre d'Etudes Biologiques de Chizé (Unité Propre de Recherche 1934 du Centre National de la Recherche Scientifique), dans l'équipe Ecophysiologie Evolutive, grâce à un contrat de thèse CNRS et supportée financièrement par le "Programme opérationnel plurirégional Loire FEDER" (# PRESAGE 30810), l'"Etablissement Public Loire", le "Parc Naturel Régional de Millevaches en Limousin" et l'ANR (ECTOCLIM project). Elle a été effectuée dans l'Ecole Doctorale Gay Lussac - Sciences pour l'Environnement, à l'Université de Poitiers (département Sciences Fondamentales et Appliquées).

SOMMAIRE

INTRODUCTION	14
1. Comprendre la distribution des espèces	15
1.1. Les déterminants de la distribution	15
1.2. Implications sur les prédictions	17
2. L'ectothermie et la sensibilité des performances	19
2.1. Définition	19
2.2. Dépendance thermique des performances	20
2.3. La thermorégulation	23
3. Comprendre la distribution des ectothermes	26
3.1. Importance des performances	26
3.2. Adaptations climatiques	27
3.3. Les situations parapatriques	28
4. Modélisation de la distribution: approche corrélative et mécaniste	28
4.1. Concept de niche écologique	28
4.2. Modèles corrélatifs	32
4.2. Modèles mécanistes	33
4.3. Intérêt de l'approche combinée	34
5. Problématique de la thèse et prédictions générales	35
5. 1. Limites actuelles	35
5.2. Hypothèses et prédictions	36
5.3. Les objectifs	36
5.4. Axes de recherche	37

MATERIEL D'ETUDE ET METHODES	40
1. Modèle d'étude : la vipère péliade (<i>Vipera berus</i> ; Linné 1753)	41
1.1 Répartition actuelle	41
1.2 Biologie générale de l'espèce	42
1.3. Cycle de vie et reproduction	43
1.4. Ecologie thermique	44
1.5. Situation de sympatrie avec <i>V. aspis</i>	45
1.6. Phylogéographie	46
2. Mise en évidences des adaptations physiologiques et comportementales	46
2.1 Le métabolisme de repos	48
2.2 Les taux de perte en eau par évaporation	50
2.3 Etude des performances de thermorégulation	52
2.4 Suivi de populations en syntopie	55
3. Modélisation spatiale de la niche réalisée et de la niche fondamentale	56
3.1 Données de présence	56
3.2 Données environnementales	59
3.3 Méthode corrélative : BIOMOD	61
3.4 Méthode mécaniste : Niche mapper™	63
4. Génétique des populations	65
4.1 Echantillonnage et amplification de l'ADN	65
4.2 Amplification des microsatellites	67
4.3 Analyses statistiques	67

RESULTATS	68
CHAPITRE I : Comprendre la spécialisation climatique d'une relique glaciaire	70
Résumé du chapitre	71
I.1. Article 1 : Spécialisation climatique chez les vipères	74
I.2. Phénologie de la reproduction de <i>Vipera berus</i> et <i>Vipera aspis</i> en zone de syntopie	92
I.3. Article 2 : Sensibilité hydrique chez <i>V. berus</i>	96
CHAPITRE II : Combiner l'approche mécaniste et corrélative pour comprendre la distribution	108
Résumé du chapitre	109
II. Article 3 : Modélisation de la distribution d'espèce à faibles besoins énergétiques	112
CHAPITRE III : Approche diachronique de la distribution d'une relique glaciaire : implications en termes de conservation	142
Résumé du chapitre	143
III.1. Recolonisation post-glaciaire de la vipère Péliade (<i>Vipera berus</i>) dans l'Europe de l'ouest.	145
III.2. « Locked in the South » : Impact du changement climatique sur la distribution d'une relique glaciaire.	154

DISCUSSION & PERSPECTIVES	164
1. Comprendre les déterminants de la distribution	165
2. Contraintes thermique et adaptations climatiques	166
2.1 Thermorégulation et métabolisme	166
2.2 Contraintes thermiques du développement	169
3. Etude de la distribution	171
3.1 Approche corrélative	172
3.2 Approche mécaniste	173
3.3 Intérêt d'une approche combinée	174
4. Approche diachronique chez une relique glaciaire	175
4.1 Impact des variations climatiques durant le dernier maximum glaciaire	175
4.2 Impact des projections climatiques futures	177
5. Conclusions générales et perspectives	177
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	180
ANNEXE	208

Introduction



1. Comprendre la distribution des espèces

1.1. Les déterminants de la distribution

L'un des enjeux majeurs en écologie est de comprendre la distribution et l'abondance des organismes dans l'espace et dans le temps (Andrewartha & Birch 1954 ; Krebs 1972 ; MacArthur 1984). Cette problématique est au cœur des préoccupations actuelles de nos sociétés faisant face aux changements climatiques (IPCC 2007) et à l'érosion de la biodiversité (Thomas et al. 2006). Afin d'évaluer l'impact des perturbations du climat sur la biodiversité, il est nécessaire de connaître les réponses des espèces tout en prenant en compte leur sensibilité propre. La distribution peut donc se définir comme étant le résultat d'une réponse dynamique d'une espèce face à un environnement donné. Toutefois, les interactions entre les organismes et l'environnement sont multiples et complexes. Il est par conséquent difficile d'élucider facilement l'ensemble des mécanismes et leurs interactions qui régissent la répartition des espèces. Néanmoins, même si l'environnement se constitue d'une multitude de composantes qui interagissent entre elles, il est possible de les regrouper en trois catégories : les paramètres **abiotiques**, les interactions **biotiques** ainsi que les facteurs **historiques**

Le climat a un rôle fondamental sur la distribution des organismes. Cette influence est particulièrement marquée chez les ectothermes (Walther et al. 2002 ; Parmesan 2006 ; Deutsch et al. 2008). Des travaux récents se basant sur des suivis de terrain montrent une réponse claire de l'ensemble des espèces animales et végétales au réchauffement climatique déjà en cours. En effet, on observe aussi bien une progression des limites nord de distribution qu'une régression des limites sud. (Parmesan & Yohe 2003 ; Root et al. 2003 ; Lesica & McCune 2004 ; Franco et al. 2006). De plus les aléas climatiques extrêmes semblent également avoir des effets importants sur la distribution des espèces (Easterling et al. 2000 ; Parmesan et al. 2000). Même si les conditions globales (climat) conditionnent l'environnement microclimatique exploité par les organismes, l'habitat (végétation), de par sa structure, permet de diversifier et de tamponner ces contraintes générales. La sélection de l'habitat par les ectothermes est d'ailleurs essentiellement déterminée par la thermorégulation (Reinert 1984) et détermine l'occupation spatiale des organismes à une plus fine échelle. Ainsi la disponibilité et la structure des habitats peuvent avoir un impact à large échelle sur la distribution des espèces (Kearney et al. 2009b).

Les interactions **biotiques** peuvent également avoir un rôle sur la distribution d'une espèce. En effet, ces facteurs peuvent directement interférer sur la capacité des organismes à exploiter leur environnement. Par exemple, la compétition par interférence (directe) a été largement étudiée chez des espèces très actives (les oiseaux et les mammifères) mais a également pu être montrée chez des espèces moins mobiles. C'est le cas des salamandres du genre *Plethodon* qui présentent des distributions parapatriques. La présence d'une des espèces diminue la condition corporelle de l'autre et provoque également la réduction de la population (Hairston 1981 ; Cunningham et al. 2009). Des interférences directes telles que l'agressivité (territorialité) pourraient expliquer comment une espèce subordonnée pourrait être limitée par l'autre (Cunningham et al. 2009 ; Deitloff et al. 2009). L'influence des interactions agressives sur les limites de distribution a également pu être montrée chez les lézards du genre *Podarcis* (Downes & Bauwens 2002) et *Niveoscincus* (Melville 2002). Ainsi, la présence d'un compétiteur peut maintenir, en équilibre, la limite de distribution de l'espèce et le retrait de ce compétiteur permettrait à l'espèce de progresser jusqu'à ce que les conditions abiotiques lui soient défavorables (Hairston 1981 ; Downes & Bauwens 2002). Les facteurs biotiques peuvent également agir de manière indirecte sur le comportement de thermorégulation des organismes. Chez les ectothermes terrestres, la thermorégulation nécessite souvent de s'exposer au soleil et par conséquent, le risque d'attirer l'attention des prédateurs (Webb & Whitting 2005). En réponse, les modèles théoriques prédisent que les organismes pourraient ajuster leur prise de risques en restant dans leur refuge plus longtemps, mais avec pour conséquence, une diminution de la qualité de leur thermorégulation (Polo et al. 2005). Les observations sur le terrain chez les lézards du genre *Iberolacerta* et *Podarcis* semblent concorder avec les prédictions des modèles (Lopez & Martin 2001 ; Diego-Rasilla 2003). En garantissant leur survie, le risque de prédation peut engendrer une thermorégulation inefficace (Herczeg et al. 2008) et pourrait impacter les traits d'histoire de vie des organismes en lien direct avec la fitness, comme la croissance ou la reproduction (Downes 2001). Comme pour la prédation, le parasitisme peut également être un coût supplémentaire à la thermorégulation. Kerr & Bull (2006) ont pu montrer chez un lézard (*Tiliqua rugosa*) que le risque de parasitisme a une incidence sur l'utilisation des refuges, essentielle à la thermorégulation de cette espèce.

Enfin le facteur **historique** est une variable immuable qui doit être prise en compte car la distribution actuelle d'une espèce est en grande partie le résultat de son passé (Glor & Warren 2011). En effet, des modifications majeures passées ont largement contraint la distribution des espèces et parmi les plus récentes, les oscillations climatiques du pléistocène

(conditions froides glaciaires et chaudes interglaciaires) en sont un bon exemple. En Europe, durant le dernier maximum glaciaire (entre -23 à -18 k. ans), les conditions climatiques froides ont provoqué un déplacement altitudinal et latitudinal considérable des biomes (Hewitt 2004) et une baisse du niveau des mers d'environ 120 m (Rohling et al. 1998). La plupart des espèces tempérées ont alors trouvé les conditions favorables à leur maintien dans les péninsules d'Europe du sud (hypothèse des refuges méditerranéens), suivi d'une recolonisation de l'ensemble de l'Europe par différentes voies de colonisation lors du réchauffement interglaciaire (Taberlet et al. 1998 ; Hewitt 2000). En se basant sur des études phylogéographiques, des refuges plus nordiques dits « cryptiques » ont, semble-t-il, pu exister permettant aux espèces continentales et tempérées de persister sous des latitudes plus importantes grâce à des conditions topographiques et microclimatiques favorables (Stewart & Lister 2001 ; Provan & Bennett 2008). Ceci permet d'ailleurs de mieux expliquer les événements de dispersion longue distance sur-estimant les capacités de recolonisation des espèces (« paradoxe de Reid » ; Clark et al. 1998). Toutefois, toutes les espèces n'ont pas réagi de la même façon durant les périodes glaciaires. Ainsi les espèces tempérées ont probablement subi une série de contractions de leurs aires de distribution en périodes glaciaires. Inversement, les espèces adaptées au climat froid subiraient actuellement (période « chaude ») une contraction plus ou moins importante de leur aire de distribution (Schmitt 2007 ; Svenning et al. 2008). Ainsi, ceci pourrait expliquer par exemple la répartition en aire disjointe de certaines espèces adaptées aux climats froids dites « reliques glaciaires » (Varga & Schmitt 2006).

1.2. Implications sur les prédictions

Identifier les facteurs limitants de la distribution n'implique pas la compréhension des mécanismes qui affectent directement les organismes. En effet, du fait des particularités intrinsèques aux espèces (morphologie, physiologie, comportement, histoire de vie), un même environnement peut avoir des conséquences très différentes sur les performances individuelles ou sur les paramètres démographiques. Il est donc important de prendre en compte les caractéristiques propres à chaque espèce afin de formuler des inférences robustes sur les facteurs environnementaux limitants et notamment leur pertinence fonctionnelle (O'Connor et al. 2006).

Alors qu'il est possible de quantifier et de spatialiser les facteurs environnementaux grâce au développement des systèmes d'information géographique (SIG), élucider les

réponses fonctionnelles des organismes face aux variations biotiques et abiotiques est difficile à mettre en œuvre. En effet, la persistance des organismes dépend d'interactions complexes avec le milieu mais aussi avec les autres espèces. Une des pistes pour mieux comprendre ces relations consiste à acquérir des connaissances empiriques solides sur la physiologie et les performances des organismes dans leurs milieux (écophysiologie).

Les relations fonctionnelles entre la physiologie des espèces et leur histoire de vie (Ricklefs & Wikelski 2002) nous apportent des éléments de compréhension sur les réponses des organismes face aux variations spatiales et temporelles de leur environnement (Chown & Gaston 1999 ; Bernardo & Spotila 2006). C'est justement l'intérêt des approches mécanistes qui permettent de tester l'impact de facteurs proximaux sur la persistance locale des organismes ou la distribution d'une espèce (Dormann 2007 ; Kearney & Porter 2009 ; Buckley 2010). Cette démarche peut s'appliquer chez de nombreuses espèces. La dépense thermique des organismes a par exemple été abordée chez les insectes (Kingsolver & Watt 1983 ; Bryant et al. 2002 ; Kearney et al. 2009a), les amphibiens (Sutherst et al. 1996 ; Kearney et al. 2008), les reptiles (Christian et al. 1983 ; Buckley 2008), les oiseaux (Root 1988) et les mammifères (Porter et al. 1994 ; Porter & Kearney 2009). Elle présente également l'avantage d'avoir en théorie une force explicative et un pouvoir prédictif plus importants qu'une démarche corrélative plus simple à mettre en œuvre (Helmuth et al. 2005 ; Kearney 2006 ; Broennimann et al. 2007).

La capacité à élaborer des prédictions robustes sur la distribution des espèces est un élément essentiel, tout particulièrement dans un contexte d'évaluation de l'impact des changements globaux sur la biodiversité. Pour cela les approches corrélatives nécessitent d'identifier les variables qui correspondent au plus près aux processus qui contraignent la distribution des espèces choisies (Pearson & Dawson 2003 ; Dormann 2007 ; Broenimann et al. 2007) alors que les démarches mécanistes réclament une connaissance approfondie des processus majeurs limitant la survie et la reproduction des organismes (Helmuth et al. 2005 ; Porter & Kearney 2009 ; Buckley 2010).

2. L'ectothermie et la sensibilité des performances

2.1. Définition

La majeure partie de la biodiversité animale est constituée d'espèces dites ectothermes (Wilson 1992). Ce terme est lié au mode de thermorégulation de ces organismes, que l'on distingue des endothermes (mammifères et oiseaux). Les espèces endothermes possèdent des adaptations physiologiques leur permettant de produire une grande quantité de chaleur. Additionnée à des adaptations morphologiques et comportementales, cette production de chaleur est essentielle pour maintenir leur température corporelle stable. Au contraire, les ectothermes produisent au repos une quantité de chaleur métabolique infime. Leur température corporelle est donc directement dépendante des conditions microclimatiques entourant l'organisme. Ils utilisent principalement des moyens physiologiques et comportementaux pour ajuster leur température corporelle (Heinrich 1974 ; Beitinger & Fitzpatrick 1979 ; Brattstrom 1979 ; Huey 1982 ; Danks 2004 ; Lagerspetz & Vainio 2006).

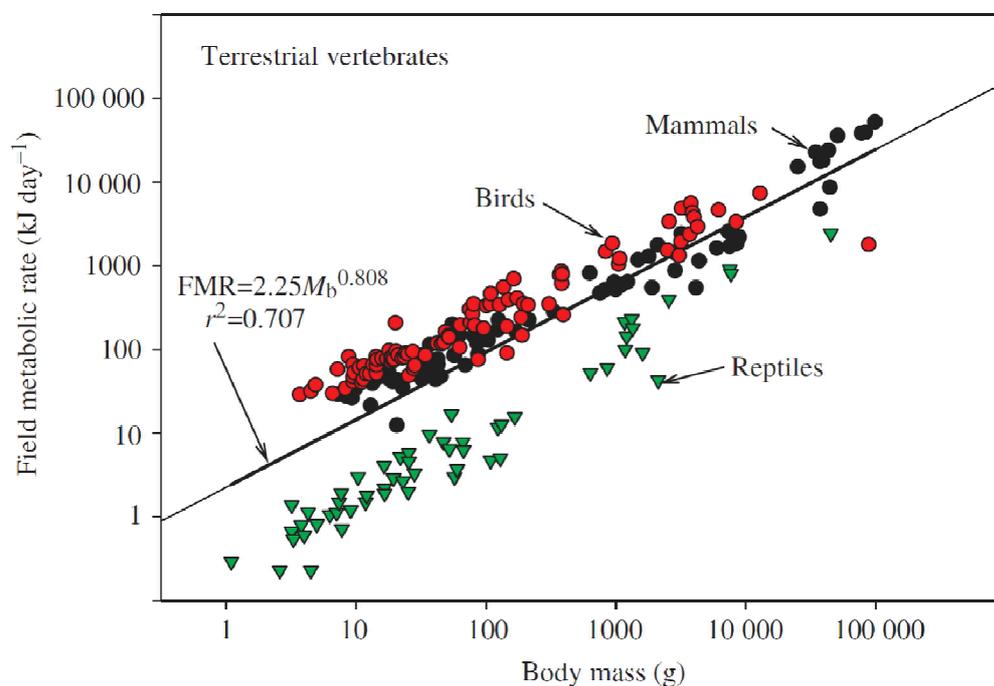


Figure 1. Dépense énergétique journalière chez 229 espèces de vertébrés terrestres en fonction de leur masse corporelle La régression des moindres-carrés pour l'ensemble des données est représentée par la ligne noire. D'après Nagy (2005).

L'ectothermie apporte des avantages en terme de coûts de maintenance. Ces organismes présentent des dépenses énergétiques 12 à 20 fois plus faibles par rapport aux endothermes qui investissent la majeure partie de leur budget énergétique dans la production de chaleur (Pough 1980 ; Nagy 2005 ; Figure 1). Les ectothermes possèdent ainsi un bénéfice énergétique net bien supérieur, en allouant la majeure partie de l'énergie acquise dans la croissance ou la reproduction. Cette particularité a permis à ce groupe de développer une grande diversité d'histoire de vie. Par exemple, certaines espèces possèdent des modes de vie assez extrêmes en cumulant à la fois une faible fréquence d'alimentation, une reproduction sur réserves ainsi que des évènements reproducteurs peu fréquents. Les exemples les plus poussés se trouvent chez certaines espèces d'insectes où les adultes sont incapables de se nourrir dû à l'absence de pièces buccales (Tammaru & Haukioja 1996 ; Wheeler 1996).

2.2. Dépendance thermique des performances

La température influence directement la cinétique des réactions biochimiques à la base de l'activité cellulaire des organismes (Hochachka & Somero 2002). Cette dépendance thermique proximale impacte par conséquent les performances des individus, de leur physiologie jusqu'à leur comportement. Par exemple, la locomotion (McConnell & Richards 1955 ; Bennett 1980 ; Hirano & Rome 1984 ; Weinstein 1998 ; Ojanguren & Braña 2000 ; Angilletta et al. 2002b), la capacité à accéder aux ressources trophiques (Greenwald 1974 ; Van Damme et al. 1991 ; Ayers & Shine 1997) et l'assimilation des ressources (Kaufmann & Pough 1982 ; Waldschmidt et al. 1986 ; Avery et al. 1993 ; Howe & Marshall 2002) sont toutes influencées par la température corporelle. Les performances sont, en général, représentées par une relation asymétrique comprise dans une gamme de tolérance avec une valeur maximale atteinte pour une température optimale (Figure 2.).

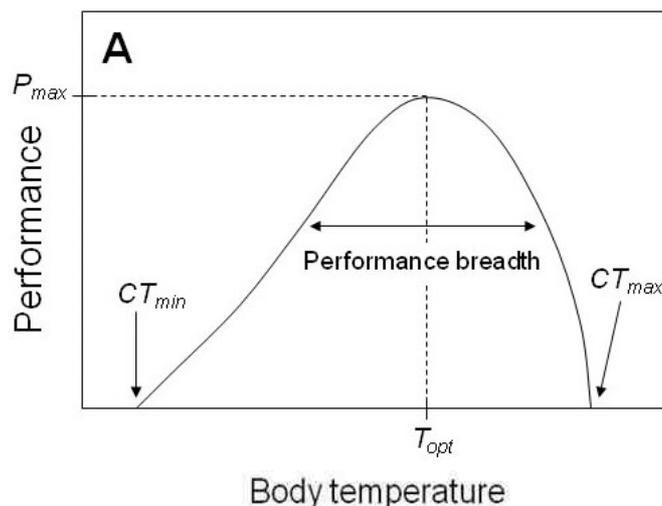


Figure 2. Courbe de performance théorique en fonction de la température corporelle des organismes ectothermes. La performance atteint son maximum (P_{max}) lorsque la température corporelle est optimale (T_{opt}). La gamme de performance est comprise entre les températures critiques inférieure (CT_{min}) et supérieure (CT_{max}). D'après Angilletta (2009) adapté de Huey & Stevenson (1979).

Toutefois, la relation température/performance est très variable suivant les espèces. Ainsi pour comprendre l'évolution de la sensibilité thermique des ectothermes, et notamment le lien entre la performance à la température optimale et la gamme de tolérance des organismes, deux hypothèses ont été émises (Huey & Hertz 1984). La première « hotter is better » prévoit que la performance maximale sera plus grande si la température optimale est plus élevée (Figure 3. A). La deuxième « A jack-of-all-temperatures is a master of none » prédit que plus la gamme de tolérance thermique est importante et moins la performance maximale sera élevée (Figure 3. B).

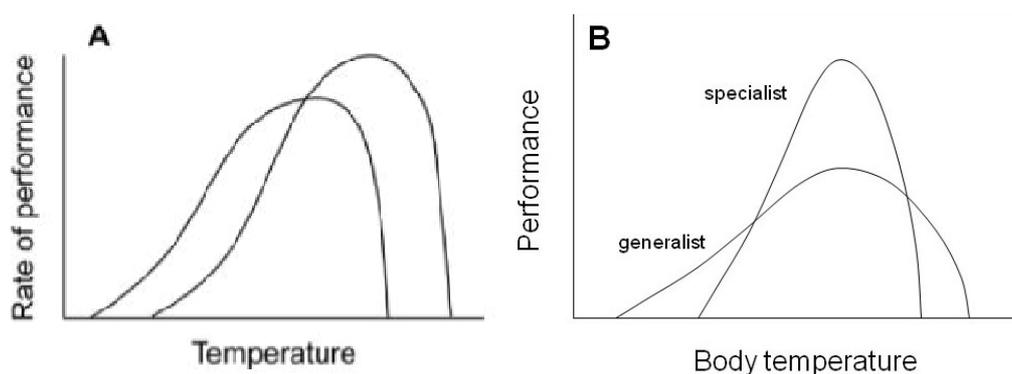


Figure 3. : Représentation théorique des relations entre les performances et les adaptations thermiques chez les ectothermes. A) D'après l'hypothèse de « hotter is better », l'élévation de la température optimale induit un gain de performance. B) L'hypothèse « a jack-of-all-temperatures is a master of none » prédit un compromis entre la gamme de performance de l'espèce et la performance maximale (spécialiste *versus* généraliste). D'après Angilletta (2009) et Angilletta et al. (2010).

Cette dernière hypothèse traduit les avantages et inconvénients entre une espèce généraliste (eurytherme), qui bénéficie d'une plus large gamme de performance moyenne et une espèce spécialiste (sténotherme) possédant une forte performance dans une gamme thermique plus restreinte. Toutefois, les modèles théoriques n'expliquent pas complètement l'évolution de la sensibilité thermique des ectothermes (Angilletta 2009).

Ainsi, la température devrait de manière ultime impacter la valeur adaptative des individus (fitness). Les performances telles que la croissance, le développement, la reproduction ou la survie, montrent des liens évidents avec la fitness des organismes (Angilletta 2009). Toutefois ce lien direct avec la fitness ne semble pas être avéré pour toutes les performances. Par exemple la locomotion a été largement étudiée chez les lézards (Angilletta et al. 2002b). On conçoit facilement l'importance de cette performance car elle permet notamment aux individus de fuir face aux prédateurs ou d'augmenter leur probabilité d'acquisition de ressources. Néanmoins, les individus s'exposent souvent aux prédateurs lorsque les conditions thermiques sont sub-optimales. La majeure partie du temps, la vitesse de fuite en conditions naturelles est bien inférieure aux performances maximales mesurées en laboratoire (Angilletta et al. 2002a). En l'occurrence, savoir fuir en conditions non optimales apporte un avantage évident non exprimé par la seule courbe de performance de vitesse maximale de déplacement. De plus, la pertinence des performances varie suivant les organismes. Le choix des performances à adresser doit prendre en considération les particularités écologiques de chaque espèce (Bennett & Huey 1990) pour garantir le lien fort avec les *proxi* de la fitness comme la survie, la fécondité, la croissance ou la maintenance.

Par opposition à ces mesures ponctuelles de performance ou de gammes de tolérance thermique des individus (températures critiques minimum et maximum), les processus physiologiques s'expriment sur une échelle de temps plus longue. La croissance, la reproduction ou la digestion permettent une intégration temporelle plus complexe (moyen à long terme) de la dépendance thermique tout en s'adressant à un ensemble de performances physiologiques et comportementales. En plus d'avoir un lien assez direct avec la fitness, ces traits peuvent être mesurés aussi bien dans un contexte naturel qu'en conditions contrôlées.

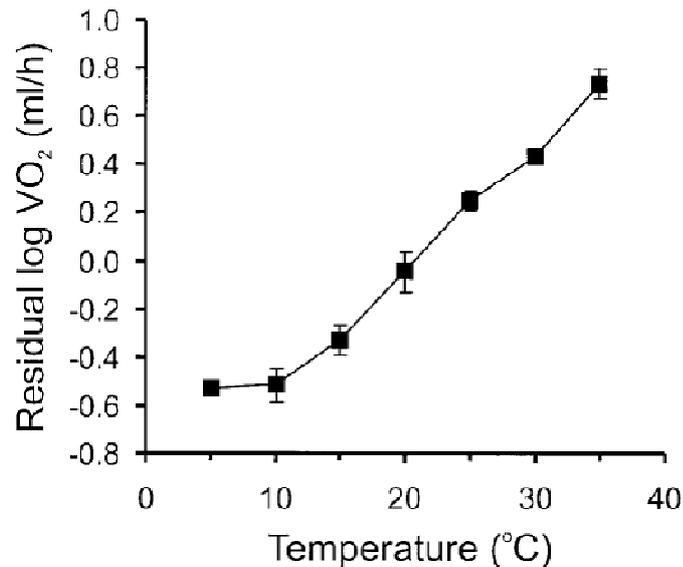


Figure 4 Résidus du \log_{10} de la consommation d'oxygène au repos (VO_2) ajustée par la masse corporelle d'une espèce de squamate (*Crotalus adamanteus*) dans une gamme de température allant de 5 à 35°C. Les valeurs sont représentées par la moyenne et l'erreur standard. D'après Dorcas et al. 2004.

Une autre variable biologique très importante est le taux métabolique car il résume la manière dont les individus traitent leur énergie (Hochachka & Somero 2002). Le métabolisme présente un caractère intégrateur car il détermine la plupart des activités des organismes et contrôle la croissance, la reproduction et la survie (Brown et al. 2004). Il est également un moyen de comparer les patrons d'utilisation de l'énergie entre les organismes (budget énergétique). Les liens entre le taux métabolique et la fitness d'un individu sont par conséquent multiples. Le métabolisme d'un organisme (mesuré de manière indirecte par sa consommation d'oxygène par exemple) est dépendant de la masse de l'individu et de sa température corporelle (Bennett & Dawson 1976). Tout comme avec la masse corporelle, la dépendance thermique du métabolisme est différente des courbes de performances classiques. La norme de réaction métabolique présente une augmentation exponentielle caractéristique (Figure 4). Cette augmentation non linéaire est par conséquent importante à prendre en compte afin de bien évaluer la sensibilité thermique des ectothermes.

2.3. La thermorégulation

Du fait de cette forte dépendance thermique des ectothermes face aux conditions environnementales, les variations spatiales (habitat) et temporelles (journalières et saisonnières) du milieu contraignent le temps disponible des individus pour être actifs et pour

atteindre leur température optimale. Les ectothermes possèdent de nombreuses réponses adaptatives pour tamponner cette hétérogénéité thermique de l'environnement (Angilletta 2006). Toutefois, les moyens comportementaux sont principalement utilisés pour réguler de manière optimale leur température corporelle en exploitant au mieux l'habitat et les micro-habitats (Reinert 1984 ; Adolph 1990 ; Grover 1996 ; Row & Blouin-Demers 2006). Les ectothermes peuvent par exemple s'exposer directement au soleil et emmagasiner les radiations solaires (heliothermie) ou au contraire utiliser des substrats chauds (thigmothermie). Il existe un grand nombre de comportements de thermorégulation (Stevenson 1985) intégrant les 3 voies d'échanges thermiques possibles entre l'animal et son milieu : la radiation, la conduction et la convection. Des ajustements physiologiques peuvent également jouer un rôle (ou inverser l'ordre des mots) tels que la circulation sanguine, le métabolisme ou l'évaporation (Bartholomew 1982 ; Seebacher & Grigg 2001 ; DeNardo et al. 2004). La forme, la masse et la couleur de l'animal modifient également les propriétés physiques des échanges de chaleur avec l'environnement.

Parmi la grande variété de stratégies de thermorégulation décrites, il existe un continuum entre deux extrêmes (Figure 5.a). La « thermoconformité » est la plus simple et se caractérise par l'absence complète de thermorégulation. La température corporelle est directement conditionnée par la température environnante. A l'autre extrémité du continuum se trouvent les thermorégulateurs « parfaits » capables de maintenir leur température cible indépendamment des conditions environnementales. La majorité des ectothermes terrestres sont des thermorégulateurs imparfaits se distribuant ainsi le long de ce continuum.

Ces stratégies de thermorégulation dépendent en grande partie du niveau d'activité des organismes et de leur prise de décisions comportementales (Figure 5.b). Cette prise de décision doit intégrer les besoins propres de l'organisme d'ordre physiologiques et comportementaux, mais également les coûts associés à cette prise de décision. C'est dans ce cadre que s'inscrit le modèle d'optimalité de la thermorégulation (Huey & Slatkin 1976).

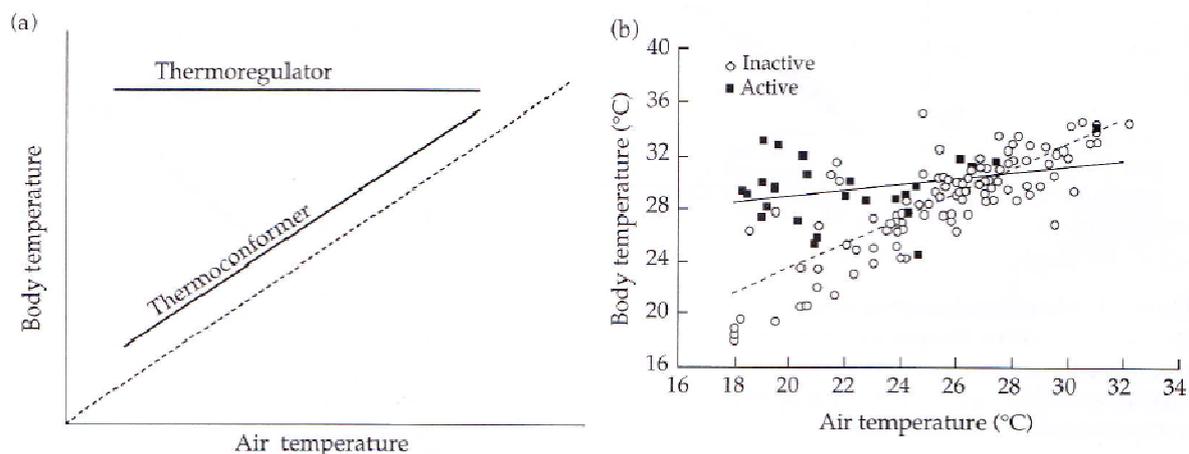


Figure 5 Stratégies de thermorégulation chez les ectothermes. (a) La relation théorique entre la température de l'air et la température de l'organisme chez un thermorégulateur parfait et un thermoconformeur. (b) Exemple de relation enregistrée chez un lézard au cours d'une journée. L'organisme est thermoconforme pendant ses périodes d'inactivités alors qu'il thermorégule pendant la journée (adapté de Bauwens et al. 1999). D'après Angilletta 2009.

Les bénéfices liés à la thermorégulation sont assez évidents. Ils permettent d'augmenter la température corporelle des organismes et de la maintenir à une valeur cible pour optimiser leurs performances (« warmer is better » Bennett 1987). D'autres bénéfices peuvent s'ajouter aux simples gains physiologiques et comportementaux. Cela peut être le cas lorsque les besoins thermiques sont importants comme lors de la reproduction (vitellogenèse et gestation) (Shine 1980). Les besoins thermiques peuvent également être modifiés lors d'une infection pour maximiser la survie de l'individu (Zbikowska 2004).

Les coûts associés à la thermorégulation peuvent se regrouper en 3 types. Tout d'abord au niveau physiologique, l'augmentation de la température corporelle va induire une augmentation des dépenses énergétiques (Stevenson 1985 ; Angilletta et al. 2002a ; Blouin-Demers et al. 2003) et des pertes en eau par évaporation (coûts de maintenance). Du fait de la norme de réaction métabolique, les dépenses énergétiques vont augmenter de manière exponentielle avec la température corporelle. De plus, les déplacements associés à la recherche de sites favorables de thermorégulation vont également augmenter les coûts de maintenance. Deuxièmement, les organismes vont également perdre des opportunités pour accomplir d'autres comportements (Huey & Slatkin 1976 ; Gregory et al. 1999). En effet, il peut y avoir des conflits d'activités entre les comportements de thermorégulation et la recherche d'un partenaire sexuel ou la recherche et l'acquisition de nourriture. Enfin la thermorégulation peut entraîner des interactions biotiques à risques. L'accès à une placette de

thermorégulation peut générer de la compétition intra ou inter-spécifique (Medvick et al. 1981). Ce comportement peut également obliger l'individu à s'exposer à des risques de prédation plus élevés (Pianka & Pianka 1970 ; Huey 1974 ; Hertz et al. 1982 ; Webb & Whiting 2005) ou à des risques de parasitisme plus importants (Kerr & Bull 2006).

3. Comprendre la distribution des ectothermes

3.1. Importance des performances

Ainsi, Le modèle théorique de Huey et Slatkin (1976) prédit que le comportement de thermorégulation peut se mettre en place lorsque les bénéfices sont plus importants que les coûts. Toutefois ce compromis est variable en fonction des besoins propres à l'organisme (préférences thermiques spécifiques et statut physiologique), ainsi que des contraintes abiotiques (qualité thermique de l'habitat, climat) et biotiques (prédation, compétition, parasitisme) environnementales.

Ainsi, l'organisme doit sélectionner une température corporelle dite « préférée » lui permettant de maximiser ses performances et *in fine* sa fitness. L'hypothèse de coadaptation thermique appliquée aux ectothermes (Huey & Bennett 1987 ; Angilletta et al. 2002b) pose le fait que la sélection naturelle devrait favoriser, pour un environnement donné, une évolution harmonieuse du comportement de thermorégulation (température préférée), des performances physiologiques (les optimums thermiques) et des traits d'histoire de vie. Ainsi, la température préférée devrait correspondre à la gamme des températures optimales des processus physiologiques clés de l'organisme, c'est-à-dire les plus reliés à la fitness.

Pour cerner les stratégies de thermorégulation, il est crucial de développer une approche intégrant à la fois les **choix comportementaux**, la **sensibilité thermique des performances clés** ainsi que l'identification des **coûts associés**. Cependant, les performances clés sont différentes suivant les organismes. Par exemple, le cadre conceptuel des stratégies de thermorégulation s'est largement appuyé sur des espèces comme les lézards où il existe un lien fort entre l'activité et la fitness. La locomotion a été considérée comme le paradigme de la performance (Huey & Slatkin 1976 ; Hertz et al. 1983 ; Huey & Hertz 1984 ; Hertz et al. 1988 ; Angilletta et al. 2002b ; O'connor et al. 2006 ; Angilletta 2009). Ces espèces présentent la particularité d'être très actives et mobiles (Hertz et al. 1988), où les comportements d'alimentation sont une composante majeure de leur budget d'activité. Cette

forte activité implique une forte dépense énergétique et l'acquisition d'énergie devient par conséquent, un enjeu essentiel pour la survie de l'organisme et le maintien des populations (O'Connor et al. 2006).

3.2. Adaptations climatiques

Chez les ectothermes, nous avons pu voir que la dépendance thermique est très forte du fait de leur fonctionnement physiologique (partie 2.). Cette forte dépendance thermique rend les ectothermes très sensibles aux facteurs **abiotiques**. Les patrons biogéographiques liés aux clines latitudinaux et altitudinaux sont des phénomènes omniprésents qui reflètent des contraintes climatiques et suggèrent des adaptations physiologiques spécifiques (Hochachka & Somero 2002).

Parmi les facteurs proximaux, le métabolisme a attiré un intérêt scientifique important notamment chez les invertébrés et les poissons. L'hypothèse d'adaptation métabolique au froid (Clarke 1993) prédit que le taux métabolique est plus élevé chez les ectothermes vivants dans un environnement plus froid que ceux vivants dans un environnement tempéré (Addo-Bediako et al. 2002). Cette adaptation permettrait de compenser une diminution de la durée des conditions environnementales favorables ou de faire face à des conditions globalement plus froides nécessitant une activité à plus basse température. Le coût associé à cette adaptation serait par conséquent une augmentation des dépenses énergétiques associée à un taux métabolique plus important pour une même température corporelle. Toutefois cette théorie est encore controversée notamment lorsqu'elle a été testée à l'échelle intraspécifique (Lardies et al. 2004). Pour soutenir l'hypothèse d'adaptation au froid, des variations latitudinales et altitudinales ont pu être également observées pour les gammes de tolérance thermique. En effet les espèces de zones tempérées présenteraient des températures minimales critiques plus basses que les espèces tropicales plus sténothermes (Janzen 1967 ; Van Berkum 1988 ; Addo-Bediako et al. 2000 ; Ghalambor et al. 2006 ; Deutsch et al. 2008). Le même patron semble exister pour les seuils thermiques de développement (Chown et al. 2002).

Si le métabolisme est un élément physiologique important en régissant le budget énergétique, la balance hydrique des organismes est également un élément majeur de l'histoire de vie des vertébrés terrestres (Moen et al. 2005). La perte en eau provient de différents mécanismes comme les échanges gazeux (respiration) et de mécanismes passifs

(échanges transcutanés). La perte en eau par évaporation correspond à la majeure partie de la perte en eau chez de nombreuses espèces d'ectothermes (Dmi'el & Zilber 1971 ; Moen et al. 2005). En élevant leur température corporelle (thermorégulation, activité), les ectothermes augmentent significativement leur perte en eau en modifiant les processus physiologiques proximaux et en s'exposant à des conditions environnementales plus desséchantes. Ainsi les espèces de milieux arides, notamment les squamates (lézards et serpents), ont pu développer des stratégies pour réduire les pertes en eau en augmentant la résistance de leur peau, en réduisant leur métabolisme ou en utilisant des moyens comportementaux (Gans et al. 1968 ; Prange & Schmidt-Nielsen 1969 ; Dmi'el 1972 ; Bradshaw 1997 ; DeNardo et al. 2004 ; Davis et al. 2008).

3.3. Les situations parapatriques

La distribution parapatrique est un phénomène fréquent chez les ectothermes terrestres. La compréhension de la parapatrie fait souvent appel au concept de compétition pour expliquer comment une frontière commune peut se maintenir sans barrière physique (Bull 1991). Toutefois, les interactions compétitives ne peuvent qu'expliquer le maintien en équilibre de la zone de contact. En effet, les distributions parapatriques peuvent également être le résultat d'adaptations constatées entre des espèces exploitant de manières différentes les gradients environnementaux (Bull & Burzacott 2001). C'est le concept de parapatrie écologique qui s'oppose à celui de parapatrie compétitive (Haffer 1986). La distribution parapatrique peut ainsi s'expliquer par la combinaison d'adaptations contrastées dans le gradient environnemental et d'interférences compétitives (Cunningham et al. 2009). Ainsi, pour comprendre ce phénomène, il est crucial d'évaluer l'importance relative des facteurs abiotiques et biotiques impliqués.

4. Modélisation de la distribution: approche corrélative et mécaniste

4.1. Concept de niche écologique

Le concept de « niche écologique » proposé par Hutchinson (1957) est particulièrement utile pour faciliter la compréhension de l'occupation de l'espace d'une espèce. La niche se définit comme étant un espace multidimensionnel dont chaque dimension

représente une composante de l'environnement qui limite la survie ou la reproduction d'un organisme. Ainsi la niche se compose des variables environnementales qui affectent la fitness des individus. La niche correspond donc à un hyper-volume où un organisme ou une population peuvent se maintenir (Figure 6.). La distribution de l'espèce correspond donc à la projection de cette niche sur un domaine géographique.

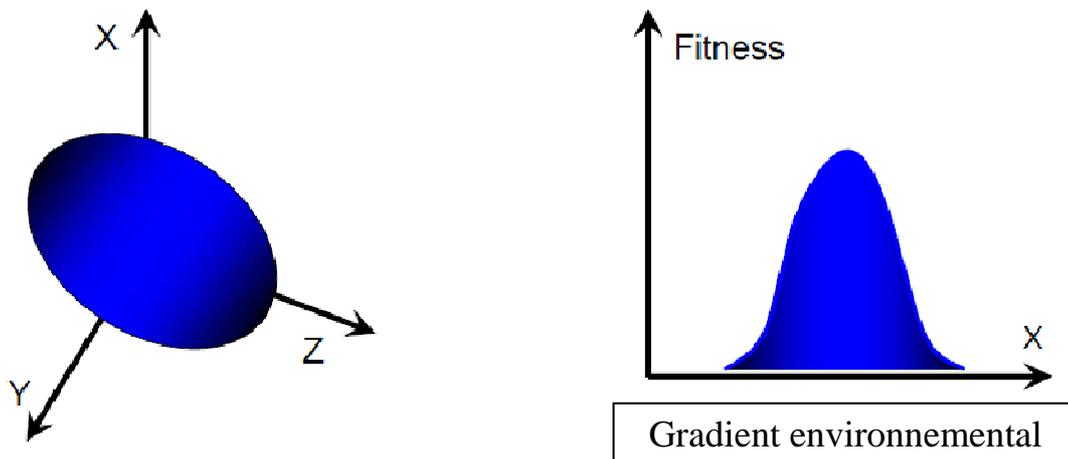


Figure 6. : Représentation de la niche d'une espèce : a) l'hyper-volume représenté sur 3 axes environnementaux (X, Y et Z) ainsi que b) sur un seul axe (X) où l'on visualise l'effet limitant du gradient environnemental sur la fitness.

Les modèles de distribution des espèces se sont largement développés depuis les deux dernières décennies et sont maintenant intensément utilisés (Guisan & Thuiller 2005). Ce concept corrélatif, faisant le lien entre l'occurrence d'une espèce et les variables environnementales, a pour but d'identifier les facteurs environnementaux qui sont susceptibles de limiter une espèce. Il est d'ailleurs la base mathématique des analyses multivariées permettant de décrire simplement l'environnement exploité par des individus ou pour comparer les niches des espèces (Hirzel et al. 2002 ; Thuiller et al. 2004 ; Calenge et al. 2008).

Toutefois, ce concept de niche écologique permet également de faire la distinction entre la niche fondamentale et la niche réalisée (Kearney 2006). La différence entre ces deux représentations est que la niche fondamentale n'intègre pas les interactions biotiques auxquelles les individus doivent faire face. Cela peut être par exemple, les phénomènes de compétition ou de prédation. La niche fondamentale est alors seulement constituée de l'environnement physique qui entoure les organismes (climat, topographie, habitat). Par définition, la niche réalisée ne correspond qu'à une portion de la niche fondamentale. Elle

renvoie à la distribution réelle d'une espèce alors que la niche fondamentale renvoie à la distribution potentielle de l'espèce, seule face aux contraintes physiques de l'environnement.

Il existe ainsi 2 grands types de modélisation (Figure 7). Les modèles corrélatifs se basent sur des relations mathématiques entre les observations de terrain (occurrence) et les variables environnementales pour prédire la niche réalisée afin de la projeter géographiquement (Guisan & Thuiller 2005). Les modèles mécanistes incorporent quant à eux des traits écophysiologiques et/ou démographiques (Kearney & Porter 2004 ; Buckley 2008) afin de voir leur évolution le long des clines climatiques afin de spatialiser la niche fondamentale d'une espèce (Guisan & Thuiller 2005 ; Kearney 2006).

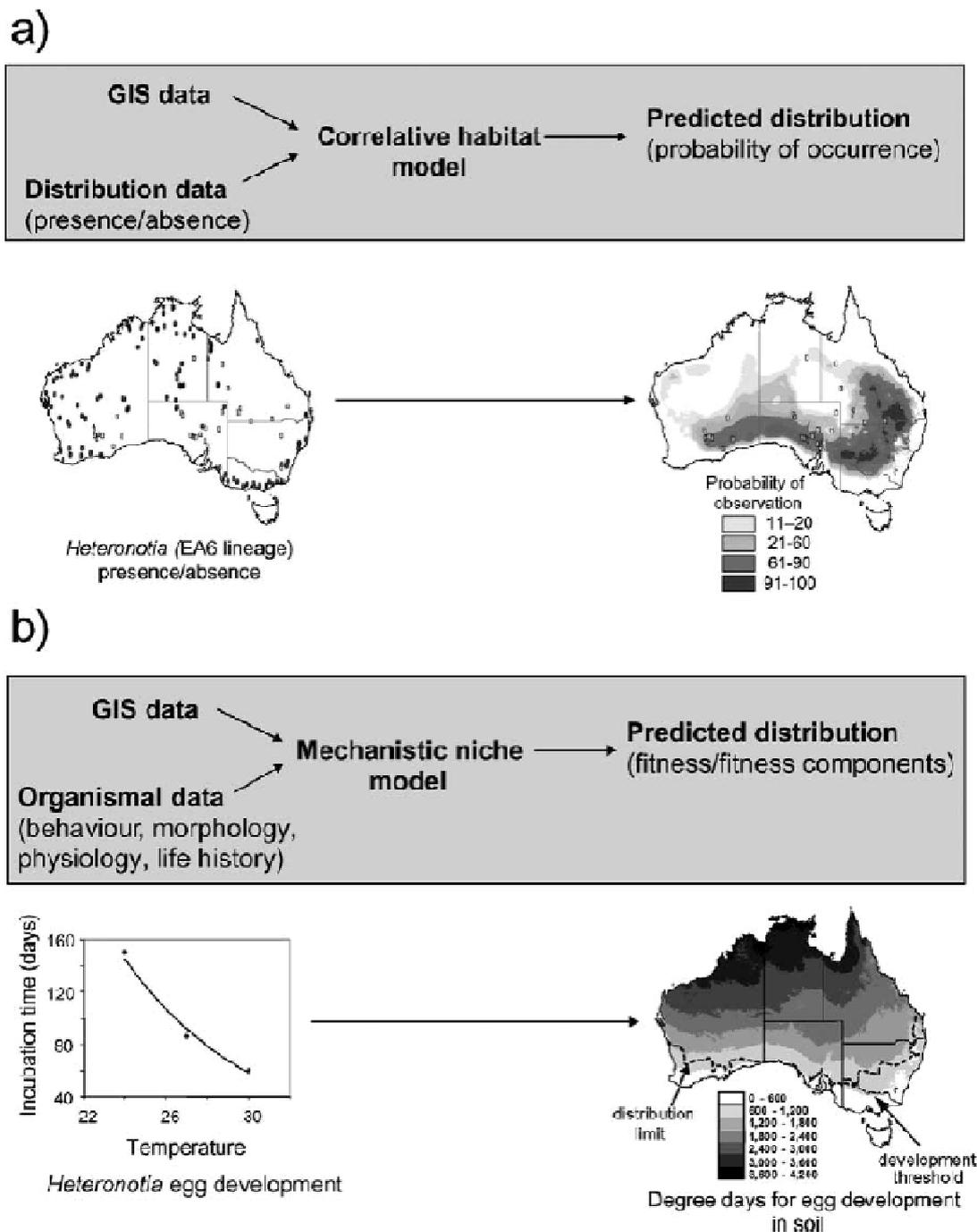


Figure 7 Schéma synthétique présentant les approches corrélatrice et mécaniste pour prédire la distribution d'une espèce de gecko australien (*Heteronotia binoei*). Dans l'approche corrélatrice (a), les données de distribution (présence/absence) et les variables environnementales spatialisées (SIG) sont associées statistiquement, souvent dans la forme d'un modèle de régression, afin d'être interpolées à l'ensemble de la zone d'étude couverte par les variables environnementales pour prédire les probabilités d'occurrence de l'espèce (Kearney et al. 2003). Dans l'approche mécaniste (b), les mécanismes des interactions entre les propriétés de l'organisme et les conditions environnementales sont modélisés pour déterminer leur conséquence sur la fitness et sont spatialisés dans le paysage (Kearney et al. 2004). D'après Kearney 2006.

4.2. Modèles corrélatifs

Les méthodes corrélatives ou appelées également modèles basés sur les niches (« Niche-based models ») élaborent directement les relations statistiques entre l'occurrence des espèces et leur environnement pour quantifier implicitement les processus limitant la distribution des espèces. Pour cela, il est nécessaire d'avoir d'une part, des données sur la répartition de l'espèce et d'autre part des données spatialisées des variables environnementales. Il existe deux grands types de données qui peuvent caractériser la distribution des espèces : les données de présence seule (PS) et les données de présence-absence (P/A). Les données PS sont les plus fréquentes et adressent le plus grand nombre d'espèces de manière historique et à large échelle (Graham et al. 2004). En effet, quantifier avec robustesse l'absence d'une espèce demande beaucoup de moyens sur le terrain pour s'affranchir des contraintes de détectabilité, de rareté ou de mobilité. Les bases de données d'observations ponctuelles ou les atlas correspondent exactement à ce type de données et sont d'ailleurs de plus en plus accessibles (mise à disposition en ligne de bases de données mondiales ; <http://www.gbif.org>). De même, de plus en plus de variables environnementales spatialisées sont disponibles gratuitement en ligne (Sillero & Tarroso 2010).

Il existe un grand nombre de méthodes statistiques différentes aussi bien pour les données de PS que pour les données de P/A. Les études comparatives montrent les avantages et contraintes inhérents aux différentes méthodes (Guisan & Zimmermann 2000 ; Elith & Burgman 2002 ; Elith et al. 2006 ; Tsoar et al. 2007 ; Marmion et al. 2009). Même si certaines d'entre elles ont tendance à produire de meilleures prédictions, il n'y a pas de méthode idéale pour toutes circonstances (Segurado & Araujo 2004 ; Elith et al. 2006). Les méthodes en PS sont généralement des méthodes descriptives (modèles d'habitat favorable) qui prédisent la présence de l'espèce plus largement que les méthodes classiques en P/A, car les points d'absence apportent des informations sur les conditions environnementales inappropriées (Engler et al. 2004). Elles présentent toutefois l'intérêt d'utiliser les données historiques (Elith et al. 2006) ou d'aider à la conservation d'espèces en identifiant des zones potentiellement favorables (Lutolf et al. 2006 ; Guisan et al. 2006 ; Moilanen & Wintle 2007 ; Le Lay et al. 2010).

L'approche la plus robuste semble être d'utiliser sans *a priori* un ensemble de méthodes aussi bien en PS qu'en P/A afin de voir s'il existe un consensus dans les prédictions (Araujo & New 2007 ; Thuiller et al. 2009 ; Engler et al. 2011). Pour cela, les méthodes en P/A vont devoir générer leurs données d'absence en utilisant des données dites de « pseudo-

absences » dont la manière la plus simple est de prendre au hasard des points dans l'aire d'étude (Zaniewski et al. 2002).

Ainsi l'intérêt fondamental de modéliser la distribution d'une espèce est de pouvoir **identifier** les facteurs limitant et/ou déterminant la répartition des espèces. Les algorithmes utilisés permettent **d'expliquer** les réponses de l'espèce face à chacun des facteurs pris en compte. Il est possible alors de projeter ces réponses dans un autre environnement spatial et/ou temporel afin de **prédire**, au plus juste, la distribution de l'espèce (niche réalisée) dans une autre région et/ou époque. Toutefois, l'utilisation de méthodes corrélatives implique différents postulats. Ces méthodes supposent notamment que l'espèce est à l'équilibre avec son milieu c'est-à-dire qu'elle utilise l'ensemble des zones favorables à sa présence, ce qui est rarement le cas. L'exemple le plus flagrant est probablement celui des espèces allochtones invasives (Davis et al. 1998 ; Dormann 2007 ; Broennimann et al. 2007 ; Fitzpatrick & Hargrove 2009). Ces méthodes vont également implicitement capturer l'ensemble des processus écologiques faisant le lien entre l'environnement et les données d'occurrence. Le choix des variables environnementales est donc fondamental car ce sont ces processus qui seront directement projetés vers un nouvel environnement spatial et/ou temporel (Guisan & Zimmermann 2000).

4.3. Modèles mécanistes

Du fait du lien fort qui lie les performances des ectothermes terrestres et les facteurs abiotiques, les modèles mécanistes permettent de prédire spatialement l'évolution de traits écophysologiques le long de gradients climatiques. Ainsi en cumulant les prédictions sur un ensemble de performances, il est possible de visualiser dans un domaine géographique (topographie et végétation) les limites physiologiques et comportementales des organismes (niche fondamentale) qui peuvent expliquer les limites de distribution de l'espèce (Kearney & Porter 2009). Il est également possible de prédire ces réponses dans le temps pour voir l'impact des changements climatiques (Kearney et al. 2009b ; Kearney et al. 2010b)

De nombreux traits ont pu être adressés et choisis avec pertinence en fonction de l'écologie de l'espèce afin d'avoir un lien fort avec la fitness des organismes. Ainsi en se basant sur les modèles de transferts de masse et de chaleur (Porter 1989), il est possible de prédire la température corporelle et les pertes en eau des organismes dans le temps et l'espace, tandis que le taux métabolique permet quant à lui d'adresser la balance énergétique. L'ensemble permet ainsi de visualiser les coûts de maintenance associés aux gradients

climatiques (Kearney & Porter 2004 ; Kearney et al. 2008 ; Dillon et al. 2010). En se basant sur des mesures de réponses comportementales en laboratoire ou sur le terrain, il est également possible d'adresser le temps d'activité, le temps de développement, la phénologie et les capacités de locomotion des espèces (Kearney & Porter 2004 ; Kearney et al. 2008 ; Kearney et al. 2010a). Les modèles mécanistes peuvent être plus complexes que des modèles individu centrés pour faire des inférences au niveau populationnel. Buckley (2008) a, par exemple, prédit la capacité de charge en lézards et leur taux de croissance pour évaluer leur distribution potentielle.

Même si les modèles mécanistes demandent une connaissance approfondie de la physiologie des organismes et qu'ils possèdent souvent un pouvoir prédictif plus réduit sur la distribution réelle des espèces que les modèles corrélatifs, cette approche propose un pouvoir explicatif bien plus important sur les facteurs proximaux limitant la distribution des organismes (Kearney & Porter 2004 ; Chamaillé-Jammes et al. 2006 ; Kearney & Porter 2009 ; Buckley 2010). Elle permet aussi d'adresser des situations où l'espèce n'est pas en équilibre avec son environnement (Kearney et al. 2008). Cette approche en plein développement ouvre de larges possibilités pour mieux cerner la distribution des espèces (Kearney & Porter 2009)

4.4. Intérêt de l'approche combinée

L'intérêt majeur d'une approche combinée permet de tester de manière indépendante la réponse des espèces face à leur environnement. La comparaison des résultats des approches corrélative et mécaniste confère un pouvoir prédictif plus fort lorsqu'elles convergent ou au contraire, si les résultats divergent, cela permet de poser de nouvelles hypothèses (Hijmans & Graham 2006 ; Strasburg et al. 2007 ; Kearney et al. 2010b; Buckley 2010).

Cette approche combinée fournit par exemple, des éléments de comparaison entre la niche fondamentale et la niche réalisée. En théorie, la différence entre les deux provient essentiellement de la prise en compte ou non des interactions biotiques. Ainsi, comparer ces deux approches, devrait aider à faire des inférences solides sur la contribution respective des facteurs abiotiques et biotiques sur la distribution d'une espèce. Une meilleure connaissance des mécanismes régissant la distribution d'une espèce devrait permettre de mieux comprendre la distribution actuelle mais également de prédire au plus juste son évolution dans l'espace et

dans le temps, notamment dans un contexte de changement climatique (Bernardo & Spotila 2006).

5. Problématique de la thèse et prédictions générales

5. 1. Limites actuelles

Le lien entre la distribution et le climat a été étudié chez une diversité d'ectothermes (Addo-Bediako et al. 2000 ; Ghalambor et al. 2006) notamment dans la perspective actuelle des changements climatiques. Deux limites peuvent cependant être formulées :

i) Les espèces à faible niveau d'acquisition de la ressource (« low energy specialist ») n'ont pas encore été examinées. La plupart des travaux ont été menés sur des espèces où l'activité et l'acquisition de ressources sont de fortes composantes de leur fitness (Huey & Slatkin 1976 ; Hertz et al. 1983 ; Huey & Hertz 1984 ; Hertz et al. 1988 ; Angilletta et al. 2002b ; O'Connor et al. 2006 ; Angilletta 2009). Or de nombreuses espèces d'ectothermes présentent de très faibles coûts de maintenance et sont capables de capitaliser l'énergie acquise (Bonnet et al. 1998). Un découplage temporel existe alors entre l'acquisition et l'allocation des ressources. Ainsi chez ces organismes, les performances liées à l'économie des ressources (**coût de maintenance**) et à l'efficacité de leur transformation (**thermorégulation, croissance, reproduction**) devraient être les plus liées à la fitness.

ii) Les espèces de climat froid demeurent encore sous considérées. La sensibilité des ectothermes terrestres face aux changements climatiques semble montrer que les espèces tropicales seraient les plus impactées (Deutsch et al. 2008 ; Kearney et al. 2009b ; Dillon et al. 2010 ; Sinervo et al. 2010) et que les espèces de milieux plus frais pourraient au contraire en tirer des bénéfices. Ainsi, l'augmentation des températures pourrait améliorer les performances des espèces des hautes latitudes en leur permettant d'atteindre plus facilement leur optimum thermique (Deutsch et al. 2008). Cependant, les adaptations climatiques au froid (énergétiques et hydriques) n'ont pas été prises en compte (Dillon et al. 2010) et devraient rendre les espèces boréales particulièrement exposées. Les modifications climatiques actuelles ont déjà généré une forte régression des limites de distribution altitudinale ou latitudinale des espèces spécialistes des climats froids (Franco et al. 2006 ;

Lepetz 2009). Ainsi, la persistance future des ectothermes terrestres adaptés au climat froid reste une problématique à adresser.

5.2. Hypothèses et prédictions

Notre hypothèse générale est que les adaptations physiologiques et comportementales devraient largement expliquer la distribution des espèces à faibles besoins énergétiques.

Plus précisément, nous prédisons que l'efficacité de thermorégulation et les coûts de maintenance devraient constituer des paramètres centraux de l'adaptation climatique.

Notre hypothèse conjointe est que les adaptations spécifiques aux climats froids devraient les rendre particulièrement vulnérables aux modifications climatiques (réchauffement).

Nous prédisons qu'une espèce adaptée à des conditions contraignantes pour la thermorégulation devrait faire face à des coûts plus importants (maintenance) associés à des bénéfices limités (performances) par rapport à une espèce proche adaptée à un climat tempéré.

5.3. Les objectifs

L'objectif de cette thèse a donc été (i) d'identifier les mécanismes proximaux qui permettent à une espèce à faible besoin énergétique d'exploiter des environnements froids et de s'y maintenir afin de (ii) pouvoir prédire sa réponse (sensibilité) face aux variations climatiques. C'est dans ce cadre que nous nous sommes intéressés à une espèce relique glaciaire, la vipère péliade (*Vipera berus*) dont la famille (vipéridés) fait partie des familles d'espèces parmi les squamates présentant les plus faibles besoins énergétiques (« low energy specialist », Zaidan 2003). Afin de pouvoir évaluer les adaptations au froid chez cette espèce, nous avons également étudié une espèce congénérique, la vipère aspic (*Vipera aspis*) présentant une écologie très proche mais possédant une aire de distribution liée au climat tempéré.

Afin de tester nos prédictions, nous avons développé 3 axes de recherche se basant sur les mécanismes qui relient les facteurs abiotiques, les spécialisations climatiques et la distribution des espèces à faibles besoins énergétiques (Figure 8). Nos résultats seront présentés dans 3 chapitres sous forme d'articles ou de résultats correspondant aux axes de recherche suivants :

Axe I) Déterminants la spécialisation climatique d'une relique glaciaire (Résultats ; Chapitre I)

Nous avons dans un premier temps voulu identifier les adaptations liées au climat froid (physiologiques et comportementales) et évaluer les coûts et les bénéfices en fonction des contraintes environnementales. L'article 1 (en préparation) décrit l'efficacité de la thermorégulation de *V. berus* en fonction des contraintes environnementales en prenant en compte la température corporelle ainsi que les gains métaboliques associés (Chapitre I.1.). Dans la continuité de l'article 1, nous avons voulu adresser les bénéfices de ces adaptations sur la phénologie de la reproduction en condition naturelle. Pour cela nous présenterons sous forme de résultats l'impact des variations interannuelles et les contrastes de phénologie observés entre les deux espèces (Chapitre I.2.). Dans l'article 2 (en préparation), nous aborderons la sensibilité hydrique de *V. berus* et ses implications (Chapitre I.3.).

Axe II) Combiner l'approche mécaniste et corrélative pour comprendre la distribution (Résultats ; Chapitre II)

Ces résultats seront présentés dans l'article 3 (en préparation) où nous avons voulu identifier les facteurs proximaux qui expliquent la limite de distribution parapatrique de *V. berus* et de la *V. aspis*. Nous aborderons l'importance du climat (lié à leurs adaptations contrastées) sur leur distribution.

Axe III) Approche diachronique de la distribution d'une relique glaciaire et implications en termes de conservation (Résultats, Chapitre III)

Dans ce dernier chapitre, nous abordons sous forme de résultats, les conséquences des variations climatiques sur la distribution de *V. berus*. Dans un premier temps, nous présenterons les conséquences du dernier maximum glaciaire dans l'Europe de l'ouest sur la diversité génétique et l'affinité des populations actuelles afin de poser des hypothèses sur la recolonisation postglaciaire de l'espèce (Chapitre III.1). Enfin nous avons évalué l'impact à

fine échelle des changements climatiques futurs sur la distribution de *V. berus* dans le massif central, où l'espèce est isolée en altitude et en limite sud de répartition (Chapitre III.2).

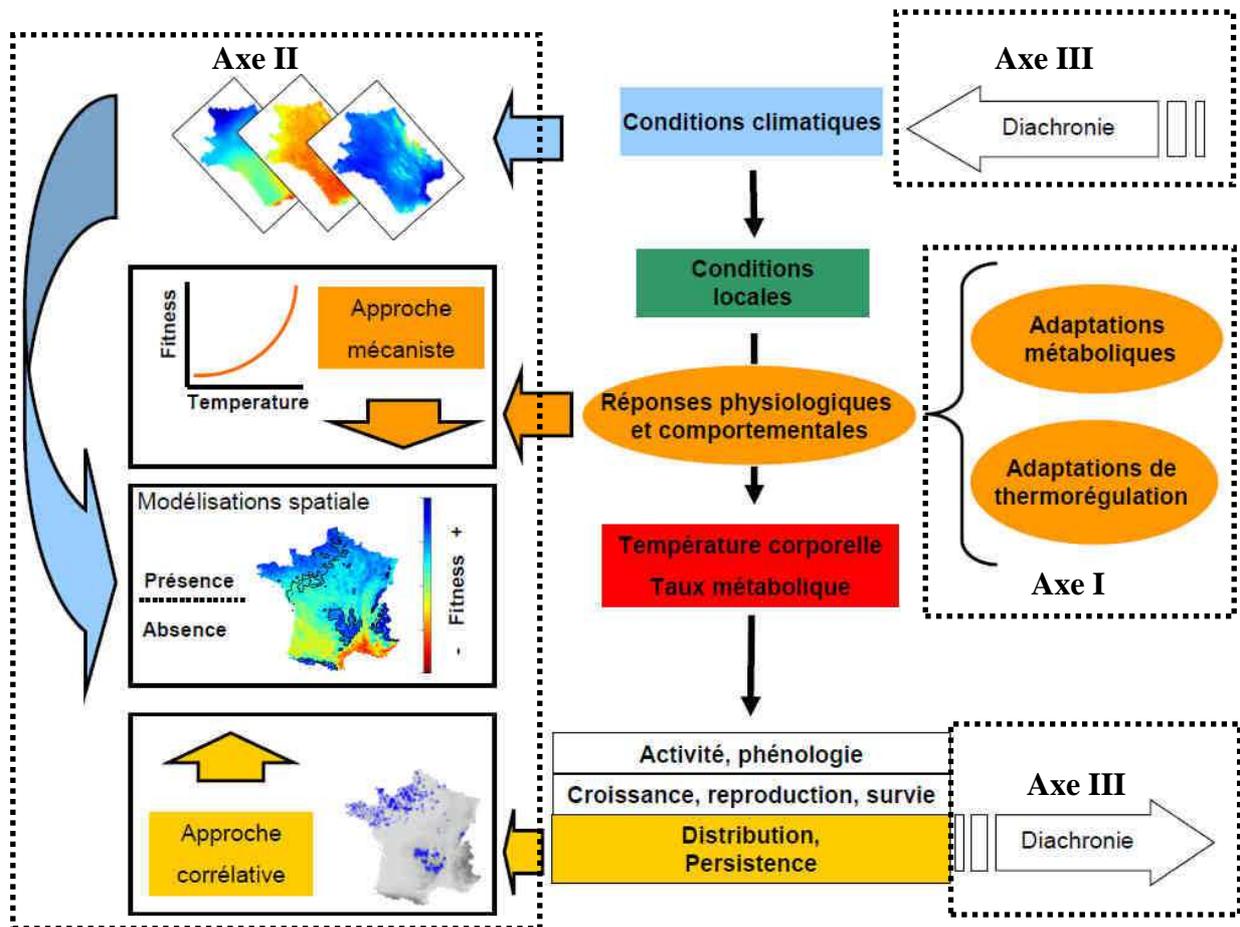


Figure 8. Schéma général des mécanismes permettant de relier les conditions climatiques, les adaptations physiologiques et comportementales des espèces et leur distribution. C'est dans ce cadre que s'inscrivent nos 3 axes de recherches. Notre **axe I** de recherche s'est concentré à identifier les adaptations physiologiques et comportementales afin de mesurer les réponses des espèces face aux variations climatiques. Afin de prédire la distribution des espèces (**axe II**), nous avons utilisé les données climatiques spatialisées afin de (i) modéliser de manière corrélative les probabilités de présence mais aussi (ii) d'estimer les réponses fonctionnelles des espèces le long des clines climatiques par une approche mécaniste. Enfin l'**axe III** nous a permis d'évaluer les conséquences des variations climatiques passées et futures sur la distribution de l'espèce adaptée au froid.

Matériel & méthodes



1. Modèle d'étude : la vipère péliade (*Vipera berus* ; Linné 1753)

Au sein de la famille des vipéridés, le genre *Vipera* (Laurenti, 1768) est un groupe d'espèces monophylétiques (Lenk et al. 2001 ; Kalyabina-Hauf et al. 2004 ; Garrigues et al. 2005, Wüster et al. 2008) où treize espèces sont actuellement connues en Europe (Gasc et al. 1997). Ces espèces présentent des répartitions parapatriques et peuvent coexister au sein d'une bande étroite de contact. Ce genre se compose de 3 groupes génétiquement bien séparés occupant 2 biomes biogéographiques distincts. Il existe le groupe « *Pelias* » occupant des domaines climatiques froids de haute latitude et/ou altitude et les groupes « *aspis* » / « *ammodytes* » qui présentent une affinité aux climats compris dans un gradient allant du tempéré au méditerranéen pur. Toutes ces espèces présentent de grandes similitudes dans leur morphologie et leur écologie ce qui les rend parfois difficiles à identifier dans les zones de sympatrie.

Ce travail s'est concentré sur l'étude de la vipère péliade (*V. berus*) spécialiste des climats froids. Des comparaisons ont été entreprises avec la vipère aspique (*V. aspis* ; Linné 1758), espèce parapatrique, possédant des affinités plus méridionales. Nous présentons ci-dessous les caractéristiques de *V. berus* en soulignant les différences interspécifiques lorsqu'elles existent.

1.1 Répartition actuelle

Au sein du groupe « *Pelias* », la vipère péliade (*Vipera berus* ; Linné 1753) est l'espèce qui possède vraisemblablement la plus grande aire de distribution chez les serpents terrestres au monde (Saint Girons 1980 ; Nilson & Andren 1997 ; Carlsson 2003 ; Figure 9.). En effet elle occupe toute la largeur du nord de la zone Paléarctique allant de l'Ecosse (6°O) à l'ouest jusqu'à l'île Sakhalin sur la côte Pacifique (143°E). *V. berus* est également observée en latitude depuis le cercle Arctique (69°N) en Scandinavie jusque dans des zones de montagnes en Grèce (40°N). L'espèce est présente en France où elle trouve sa limite sud de répartition à l'ouest de son aire globale. On la retrouve au nord de la Loire ainsi que dans les zones d'altitude du Jura et du Massif central (Anonyme 1989). Cette Euro-sibérienne exploite une grande diversité de milieux même si les landes et les tourbières semblent être des habitats particulièrement favorables à son observation en France (Saint Girons 1980a).

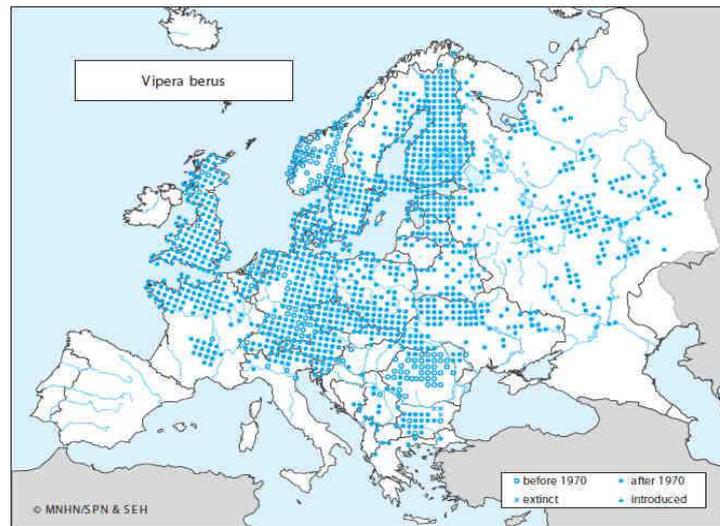


Figure 9. Répartition de la vipère péliade en Europe. Données issues de l’atlas européen (Gasc et al. 1997)

1.2 Biologie générale de l’espèce

Cette espèce a été très largement étudiée ce qui permet de bien cerner sa biologie et son écologie. *V. berus* est un serpent de petite taille à l’âge adulte avec une moyenne de longueur totale d’environ 55 cm (Forsman 1991; Madsen 1988). Cette espèce présente un dimorphisme sexuel de taille, où les femelles sont en moyenne plus grandes que les mâles (Forsman 1991). Il existe également un dimorphisme de couleur où dans la plupart des cas les mâles présentent des dessins dorsaux sombres plus fortement contrastés que les femelles. Le mélanisme existe, chez les deux sexes, dans certaines populations et n’a été observé en France que dans les populations Jurassienne (Pinston et al. 2000). Les mâles présentent également une queue légèrement plus longue et plus trapue que les femelles du fait de la présence de deux hémipénis invaginés à la base de la queue (Figure 10.). Comme le reste du genre, *V. berus* est une espèce qui chasse essentiellement à l’affût. Son régime alimentaire se compose principalement de micromammifères et de lézards (Bea et al. 1992 ; Saint Girons 1980b) mais également d’amphibiens lorsqu’elle vit à proximité de zones humides ce qui est assez fréquent en France.



Figure 10. Dimorphisme sexuelle chez la vipère péliade. Photos prises en vue dorsale (en haut) et en vue ventrale (en bas) chez un mâle (à gauche) et une femelle (à droite).

1.3. Cycle de vie et reproduction

Comme de nombreuses espèces de squamates, il existe une légère asynchronie des dates d'émergence entre les sexes correspondant à un décalage des mâles de 20 à 40 jours avant les femelles. Durant cette période, les mâles réalisent de manière concomitante la maturation des spermatozoïdes et leur première mue pré-nuptiale (Viitanen 1967 ; Prestt 1971 ; Saint Girons 1975b ; Nilson 1980 ; Monney 1996). En effet dès la sortie de leur site d'hivernage, les mâles

passent la majeure partie de leur temps à thermoréguler afin de commencer, dès la mue prénuptiale réalisée, à rechercher intensivement des femelles pour se reproduire (Saint Girons 1980b ; Monney 1996). Leur émergence précoce permettrait de maximiser leur fitness en leur permettant à la fois de se reproduire au plus tôt et d'avoir un plus grand choix de femelles (Herczeg et al. 2008). Les jeunes et les femelles sortent en général entre l'émergence des mâles et leur mue prénuptiale. Ils n'y a pas de période automnale de spermatogénèse chez cette espèce à la différence de la vipère aspic par exemple (Saint Girons 1982). Les mâles peuvent réaliser des combats ritualisés pour accéder à une femelle (Madsen et al. 1993). Les femelles sont plus sédentaires que les mâles dans leurs déplacements annuels avec une réduction importante pendant la gestation (Monney 1996). Les accouplements ont lieu entre mars et mai. Comme toutes les espèces du genre, cette espèce à un mode de reproduction vivipare. Les femelles mettent bas en moyenne de 6 à 10 jeunes d'août à septembre d'une taille d'environ 18 cm à la naissance (Monney 1996). Elles ne se reproduisent en générale que tous les 2 à 4 ans (Saint Girons & Kramer 1963 ; Viitanen 1967 ; Prestt 1971 ; Capula & Luiselli 1994 ; Monney 1996). Le mode de reproduction chez cette espèce est principalement basé sur une stratégie de reproduction sur réserve mais où l'acquisition d'énergie l'année de la reproduction permet aux femelles de produire des jeunes de meilleure qualité mais à une fréquence de reproduction faible. (Andren & Nilson 1983 ; Madsen & Shine 1993 ; Bonnet et al. 2001 ; Bonnet et al. 2002 ; Lourdais et al. 2002b).

1.4. Ecologie thermique

Les études menées sur l'écologie thermique des espèces du genre *Vipera* montrent que ce sont des thermorégulateurs actifs qui présentent une forte thermophilie avec des températures corporelles préférées qui varient entre 30 et 32.5°C (Saint Girons 1978 ; Bonnet & Naulleau 1996 ; Ladyman et al. 2003 ; Martinez-Freiria 2009). C'est également le cas chez *V. berus* qui présente une température corporelle moyenne en activité de 28.9°C dans une gamme de 19 à 32°C en conditions naturelles (Forsman 1995). La température préférée des mâles en période de spermatogénèse a été estimée en conditions contrôlées à 32.95°C (Herczeg et al. 2007b). Durant la gestation, les femelles présentent des besoins thermiques également très élevés générant une activité de thermorégulation intense (Bentz 2002 ; Saint Girons 1978 ; Ladyman et al. 2003).

Différentes études comparatives ont été menées pour évaluer la sensibilité thermique des performances entre les espèces du genre *Vipera*. Ainsi, *V. berus* présente des

performances supérieures aux autres espèces du genre pour différents traits mesurés. Elle présente une durée de digestion (Naulleau 1983a & b) et une durée de gestation plus courtes aussi bien en conditions contrôlées (Naulleau 1986) qu'en conditions naturelles (Monney 1996). Elle possède également un métabolisme aérobie plus important (Saint Girons et al. 1985). *V. berus* possède également des capacités à tolérer le froid de manière plus importante. Elle est par exemple capable de digérer complètement une proie à une température constante de 10°C (Naulleau 1983a) et possède une température minimale volontaire tolérée plus basse (Saint Girons 1980).

1.5. Situation de sympatrie avec *V aspis*

La coexistence de *V berus* et *V aspis* a attiré un intérêt considérable (Monney 1996, Saint Girons 1975b, 1981 ; Naulleau & Saint Girons 1981 ; Guiller et al. *sous press*). Ces deux espèces parapatriques présentent des zones localisées de syntopie en France (Saint Girons 1975a ; Duguy & Saint-Girons 1978), en Suisse (Monney 1996) et en Italie (Lapini 1983, 1988 ; Scali et al. 2011). Les stratégies reproductrices sont comparables et basées sur l'accumulation de la ressource sous forme de réserve (« capital breeding » ; Bonnet et al. 2001 ; Lourdais et al. 2002b) et un cycle de reproduction pluriannuel. L'étude comparée de la reproduction a permis de mettre en évidence des différences dans le nombre et la taille des jeunes avec une fécondité plus élevée chez *V. berus* et des nouveau-nés de plus petite taille (Saint Girons & Naulleau 1981). De même, des différences phénologiques ont été révélées avec des mise-bas plus précoces observées chez *V. berus* (Naulleau 1986 ; Monney 1996 ; Guiller et al. *sous press*). Les hybridations entre ces deux espèces semblent peu probables avec seulement une observation basée sur des critères morphologiques (Naulleau *com. pers.*). Les déterminants de la coexistence ont été discutés en invoquant notamment une hypothèse de compétition interspécifique (Saint Girons 1975a). Cependant, l'étude du régime alimentaire n'a pas permis de mettre en évidence de partition de niche trophique en zone de syntopie (Monney 1996). En revanche plusieurs études ont souligné l'existence d'une ségrégation spatial et d'une partition par l'habitat (Duguy & Saint-Girons 1978 ; Saint Girons 1975a et b ; Monney 1996 ; Luiselli 2006).

1.6. Phylogéographie

Les études génétiques menées sur l'espèce montrent qu'il existe 3 clades distincts qui se sont séparés au pléistocène (environ -1.4 M. années) correspondants à 3 grandes zones originaires : (Europe de l'est appelé « nordique », les Balkans et l'Italie) (Ursenbacher et al. 2006 ; Figure 11). La structuration interne du clade nordique en 4 sous-clades met en évidence des séparations plus récentes des populations vraisemblablement liées aux différents refuges utilisés durant les dernières glaciations (Figure 11.). L'évidence de refuges nordiques dit « cryptiques » chez cette espèce adaptée aux climats froids permet d'adresser le paradigme de la recolonisation post glaciaire issu de refuges des péninsules méditerranéennes (Stewart & Lister 2001 ; Stewart 2003). L'espèce semble avoir occupé un refuge dans le nord des alpes qui a ensuite permis la recolonisation de la péninsule scandinave et de l'Angleterre (Figure 11). La présence d'un refuge en France est également fortement suspectée (Ursenbacher et al. 2006).

2. Mise en évidence des adaptations physiologiques et comportementales

Afin de réaliser les mesures, les serpents ont été capturés et maintenus au laboratoire entre 2008 et 2010 (Figure 12). Chaque individu a été mesuré (SVL et longueur totale $\pm 0.5\text{cm}$) et pesé ($\pm 1\text{g}$). Les vipères ont été maintenues dans des enclos extérieurs (4 x 4 x 2.5 m) au Centre d'Etude Biologique de Chizé, Deux-Sèvres (46° 07' N, 00° 25' W) lequel est approximativement distant de 200km environ de la zone la plus proche de l'aire de distribution de l'espèce. Les vipères ont été nourries chaque semaine. Un jour avant les sessions de mesures, les individus ont été maintenus dans les locaux du laboratoire dans des cages (80 x 30 x 30 cm). Après le recueil des données, les serpents ont été remis dans la nature à l'endroit du site de capture.

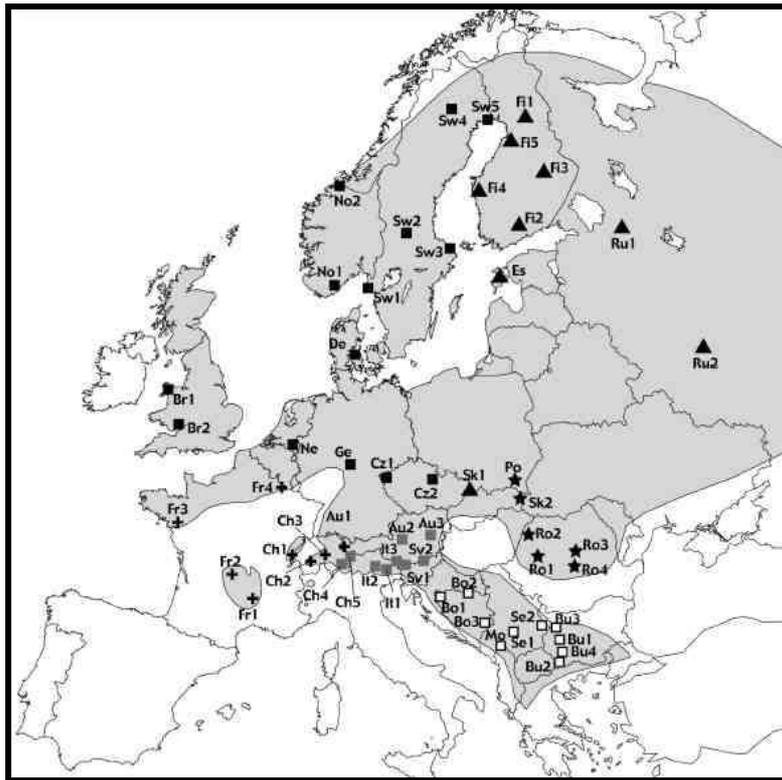


Figure 11. Affinités phylogénétiques de populations de vipère péliade à travers 60 sites à l'échelle de sa distribution. Les « + » correspondent aux sous clades Ouest faisant partie du clade nordique (symboles noirs) opposé au clade balkanique (carrés blanc) et au clade italien (carrés gris). D'après Ursenbacher et al. 2006.



Figure 12. A gauche, capture et prise de mesures d'une vipère péliade sur le terrain. A droite, enclos extérieurs où les serpents capturés ont été maintenus.

2.1 Le métabolisme de repos

Nous avons utilisé un système fermé de respirométrie pour mesurer le taux métabolique standard chez 15 *V. berus* (SVL = 45.1 ± 4.6 cm; masse = 62.1 ± 23.3 g) et 13 *V. aspis* (SVL = 47.8 ± 4.7 cm; masse = 74.7 ± 23.3 g). Les mesures ont été réalisées sur les deux sexes (sex-ratio de 9/6 pour *V. berus* et 7/6 pour *V. aspis*) sur des individus post-reproducteurs juste avant la période d'hivernage afin d'éviter par exemple la contribution métabolique des follicules en développement chez les femelles. Nous avons mesuré le taux d'oxygène consommé (analysé en ml. h^{-1} avec la masse corporelle comme cofacteur, mais a été présenté en $\text{ml. h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ dans les figures et les tables pour une meilleure compréhension) à une température corporelle de 10, 20 et 30 °C. L'ordre de passage des mesures a été randomisé en assurant un minimum de 10h entre deux mesures pour un même individu. Les mesures ont été conduites dans une chambre de test opaque (volume interne de 3.23 l) recouverte d'un verre fermant l'ensemble de manière hermétique grâce à un caoutchouc (Figure 13.a). Les individus ont été placés dans leur chambre de test et maintenus dans une enceinte climatisée (stabilité $\pm 1^\circ\text{C}$) pendant au moins 3 h afin de vérifier la stabilisation de la température de test (Figure 13 a.). L'air extérieur injecté dans chaque chambre test (Figure 13.b) grâce à une pompe à air (Bioblock Scientific 55 l) afin d'assurer 99 % du renouvellement de l'air toutes les 5 minutes (Lasiewski et al. 1966). Nous avons ensuite collecté des échantillons d'air initiaux préalablement à chaque mesure. Le flux d'air a ensuite été stoppé et un chronomètre alors déclenché afin de mesurer le temps de confinement. Les serpents ont pu être observés durant les mesures sans dérangement afin de contrôler l'activité. Les serpents ont montré des mouvements exploratoires extrêmement rares, s'enroulant rapidement sur eux même en restant peu mobiles durant toute la durée de la mesure. La durée des tests avait été prédéterminée par une étude pilote et ajustée pour chaque température testée (2 à 10 heures) afin d'assurer un taux de suppression d'oxygène entre 0.5 et 1 %.

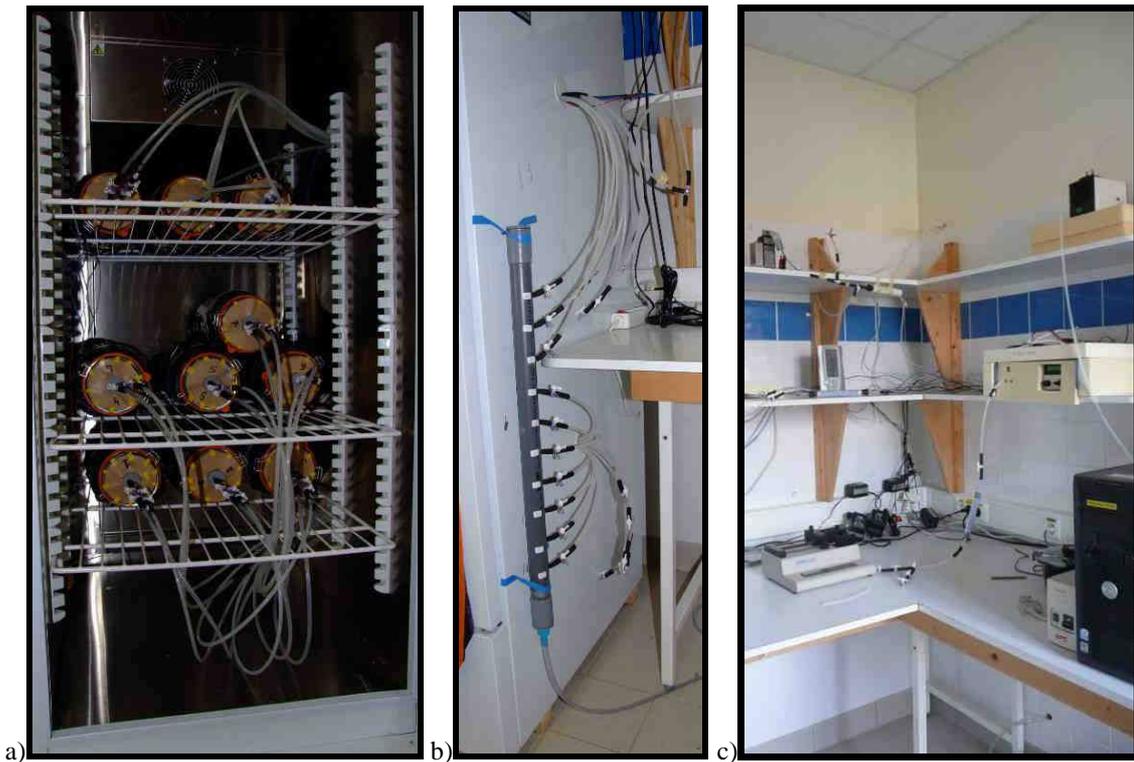


Figure 13. Présentation du matériel utilisé pour mesurer la consommation d'oxygène en système fermé. L'air extérieur arrive au multiplieur de voies (b) afin d'être distribué aux 10 chambres de tests placées dans l'enceinte climatisée (a). Les seringues d'échantillons d'air ont été placées dans la pompe à infusion qui envoie l'air dans l'analyseur au travers d'une colonne de drierite (c).

A la fin de chaque test, un échantillon d'air a été collecté correspondant à un volume de 2 seringues de 150 ml successivement connectées à la chambre. La concentration d'oxygène a été déterminée grâce à un analyseur (FC10A, Sable Systems, Las Vegas, USA) (Figure 13.c). Chaque échantillon d'air est passé au travers d'une colonne de drierite afin d'enlever l'humidité de l'air et envoyé à un débit contrôlé vers l'analyseur d'oxygène grâce à une pompe à infusion (KDS 210, KD Scientific Inc, Holliston, USA) (Figure 13.c). Le taux de suppression d'oxygène a été calculé en enlevant le taux des échantillons prélevés à la fin du test au taux issu des échantillons réalisés en début de test. L'analyseur a été calibré chaque jour en utilisant de l'air extérieur délivré au débit de la pompe à infusion avant chaque session comprenant 10 tests simultanés (Figure 13.a). Nous avons utilisé les normes de réactions métaboliques obtenues en captivité afin d'estimer le taux de dépense énergétique dans la nature.

2.2 Les taux de perte en eau par évaporation

Mesure des pertes totales en eau par évaporation

Nous avons utilisé un système ouvert de respirométrie pour mesurer les pertes en eau totales sur 9 *V. berus* (3 mâles, 6 femelles ; SVL = 44.6 ± 5.7 cm ; masse = 62.1 ± 30.6 g) et 9 *V. aspis* (3 mâles, 6 femelles ; SVL = 46.4 ± 3.4 cm ; masse = 76.3 ± 20.3 g). Les mesures ont été réalisées sur des individus non reproducteurs en suivant Lourdaï et al. (2007). Les tests ont été conduits avec un air d'une humidité absolue de 9.35 ± 0.01 g .m⁻³ soit 1221,5 Pascal. Nous avons réalisé 3 sessions de température : 15, 25 et 33°C (respectivement 71.7%, 38.6% et 24.3% d'humidité relative). La chambre de test était un bocal en verre (9 x 9 cm, 500 ml) afin de minimiser l'hygroscopie (Figure 14.a). La chambre de test était placée dans un caisson climatisé (Cryosystem, système d'air conditionné, Carel MasterCella). Le flux d'air entrant dans la chambre de test était contrôlé par un régulateur massique de débit (#UFC-1100, Unit Instruments, Yorba Linda, CA). Le débit moyen était de 162.0 ± 0.5 ml .min⁻¹, lequel permet un renouvellement de 99% de l'air de la chambre test toutes les 15 min (Lasiewski et al. 1966). Afin de contrôler l'humidité de l'air entrant dans la chambre test, nous avons produit dans un premier temps un air sec en utilisant un purificateur d'air industriel (#CO2F-70h, Texol Products Ltd, Dundee, Scotland). L'air sec a été ensuite saturé en eau en le faisant passer en série dans deux colonnes d'eau chauffée et isolée par du Styrodur® C (BASF Corporation, . Le système de saturation était annexé au caisson climatisé dans une enceinte contrôlée thermiquement (#400 DG LMS ltd, Sevenoaks, Kent, UK) réglée à la valeur cible du point de condensation ($T_{DP} = 10.0$ °C). L'air saturé en eau est ensuite passé dans une colonne vide collectant l'eau condensée. La température de point de rosée de l'air existant dans la colonne de condensation était égale à la température de l'enceinte ($T_{DP} = 10.0$ °C). Cette air hydraté passe ensuite dans le caisson climatisé par un tube en spirale afin d'atteindre la température recherchée avant d'entrer dans la chambre test où se trouve l'animal (Figure 14.b). Le point de rosée de l'air a été mesuré en utilisant un hygromètre de point de rosée (#RH300, Sable Systems, Las Vegas, NV) à la sortie de la chambre de test (Figure 14 b). Nous avons utilisé des thermocouples de type-T (copper constantan) pour suivre la température du flux d'air existant dans la colonne de condensation (T_{DP}) ainsi qu'à l'intérieur de l'enceinte thermo-contrôlée (T_a). Nous avons utilisé des tubes minimisant l'hygroscopie (Bev-A-Line IV, Thermoplastic Processes Inc., Stirling, NJ) sur l'ensemble du système.

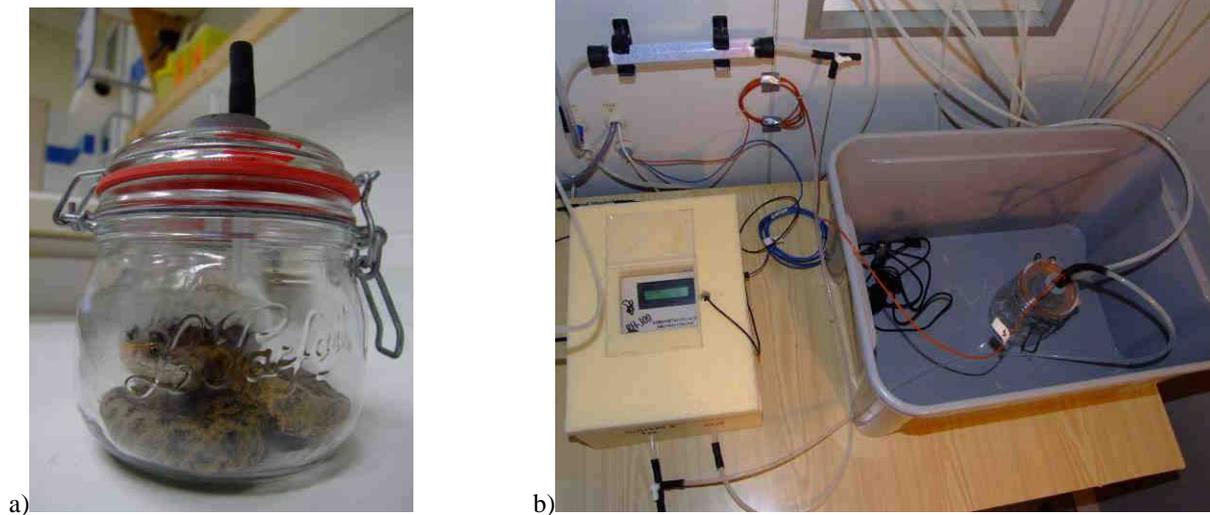


Figure 14. Présentation du matériel utilisé pour mesurer les pertes totales en eau par évaporation en système ouvert. L'air possédant une hygrométrie contrôlée (point de rosée de 10°C) arrive dans le caisson climatisé (b) et entre dans la chambre de test (a, b). L'air passe ensuite dans l'hygromètre à gauche (b) puis en ressort pour traverser une colonne de diérite (b) avant de sortir du caisson.

Pour chaque session, nous avons mesuré 6 individus. Avant chaque session, les serpents étaient sortis de leur cage de maintenance et placés dans des chambres tests individuelles à l'intérieur du caisson climatisé (Figure 14.a). Chaque cage reçoit un jet d'air extérieur via un multiplicateur de voie (Figure 13.b) afin d'éviter l'hypoxie et ainsi de permettre aux animaux d'atteindre l'équilibre thermique avec la température du caisson. Les vipères ont été placées dans la chambre test un minimum de 2 heures avant le début des mesures. Au début de chaque mesure, nous avons simplement déconnecté la cage de l'animal au multiplicateur de voie pour la connecter au flux d'air expérimental. Cette méthode garantit un minimum de manipulations et de dérangement. Les pertes totales en eau ont été collectées après stabilisation de la valeur du point de rosée. Le niveau basal de l'air expérimental a été mesuré au début et à la fin de chaque session de mesure en faisant passer le jet d'air dans une chambre de test vide. L'absence d'urine ou de fèces a été confirmée à la fin de chaque mesure pour la valider.

Nous avons utilisé les points de rosée hygrométriques afin de calculer les pressions de vapeur d'eau en utilisant une équation polynomiale du 8^{ème} degré décrivant la pression de vapeur d'eau saturante comme une fonction de la température de l'air (Flatau et al. 1992). Les pressions de vapeur ont été utilisées pour calculer les densités de vapeur en utilisant la loi des gaz parfaits (Campbell & Norman 1998). Finalement, les flux d'évaporation ($\text{mg} \cdot \text{h}^{-1}$) ont été calculés en multipliant les densités de vapeur ($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$) par les débits des flux d'air ($\text{ml} \cdot \text{h}^{-1}$). Nous avons calculé les flux d'évaporation absolus ($\text{mg} \cdot \text{h}^{-1}$) aussi bien que les flux relatifs à la masse des organismes ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

Mesure des pertes cutanées en eau par évaporation

Nous avons mesuré les pertes cutanées en eau par évaporation chez 12 *V. berus* (3 mâles, 9 femelles) et 7 *V. aspis* (3 mâles, 4 femelles). Les mesures ont été réalisées dans une pièce à 25 °C et les serpents ont été acclimatés à cette température au moins deux heures avant les mesures. Pour cela, nous avons utilisé un AquaFlux AF200 (Biox, UK) qui dérive les flux de vapeur d'eau à partir du gradient d'humidité à l'intérieur d'une chambre fermée (Figure 15.a). Le programme Biox AquaFlux 6.2 a été utilisé pour calibrer et enregistrer le taux de pertes cutanées en eau par évaporation ($\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$). Une capsule standard de mesure (diamètre de l'orifice de 7 mm, Biox AF005-01) a été maintenue en contact étroit avec la peau du serpent au niveau dorso-ventral au milieu du corps (Figure 15.b). Une calibration de l'AquaFlux a été réalisée au début de chaque session de mesures.

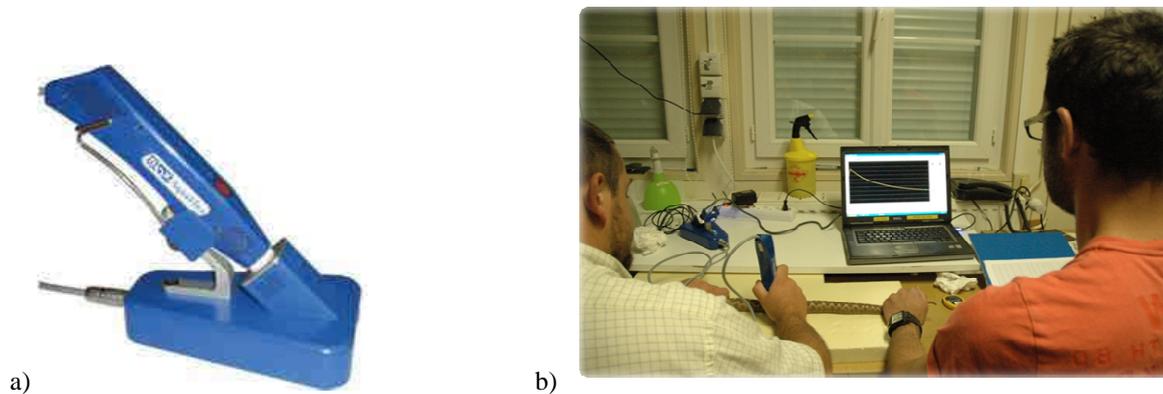


Figure 15. Présentation du matériel utilisé pour mesurer les pertes cutanées en eau par évaporation. A gauche, présentation de l'AquaFlux utilisé pour les mesures (a). A droite, prise de mesure sur une vipère (b).

2.3 Etude des performances de thermorégulation

Nous avons capturé un total de 24 femelles gestantes (12 pour *Vipera berus* et 12 pour *V. aspis*) et 27 individus non reproducteurs (15 pour *Vipera berus* et 12 pour *V. aspis*) entre début mai et mi juin de 2008 à 2010 issus de populations proches dans l'ouest de la France (Côtes d'Armor, Loire-Atlantique, Maine et Loire). Les populations échantillonnées correspondent à des populations périphériques localisées au sud (*V. berus*) et au nord (*V. aspis*.) de leur aire de distribution faisant ainsi face aux mêmes conditions climatiques tempérées.

Procédures Chirurgicales

Nous avons chirurgicalement implanté à chaque individu un enregistreur miniature de température (Thermochron iButtons, Maxim, Dallas TX). Les enregistreurs ont été programmés pour sauvegarder un point de température toutes les 15 minutes, enrobés de Plasti-Dip (PDI Inc., Circle Pines MN) et ensuite désinfectés avec une solution de benzalkonium chloride pendant 12 heures avant l'implantation. Chaque serpent a été anesthésié avec de l'isoflurane et la peau a été localement désinfectée avec de la bétadine. Nous avons réalisé une incision d'environ 1.5 cm sur la partie ventro-latérale et l'enregistreur a été placé dans la cavité coelomique entre la vésicule biliaire et le premier embryon. L'incision a été suturée et suivie d'un réveil rapide (< 30 minutes) sans mortalité.

Préférence thermique en captivité

Nous avons mesuré la température corporelle préférée (T_{set}) des serpents dans un gradient thermique au laboratoire en absence de coûts de la thermorégulation (Hertz et al. 1993 ; Huey & Slatkin 1976). Le gradient correspond à une boîte de 3 m² qui possède une source de chaleur à une extrémité et une source d'air froid à l'autre extrémité produisant ainsi un gradient lissé de température allant de 22 à 45°C. Les cycles de lumière et de température reproduisaient les photo et thermo-périodes naturelles. Nous avons enregistré la température corporelle de 12 femelles reproductrices chez 6 *V. berus* (SVL = 46.33 ± 3.15 cm; BM = 100.97 ± 30.04 g) et 6 *V. aspis* (SVL = 46.83 ± 2.32 cm; BM = 93.43 ± 5.34 g) dans ce gradient thermique à la mi-juillet 2008. Les animaux avaient accès à la source de chaleur pendant 6 heures par jour. Après 2 jours d'acclimatation au gradient thermique, nous avons enregistré la température corporelle (T_b) sélectionnée dans le gradient toutes les 15 minutes pendant 72 heures. Pour chaque espèce, nous avons calculé la T_{set} en moyennant par heure les valeurs de T_b durant la période de thermorégulation active.

Thermorégulation dans des conditions naturelles

Afin d'examiner l'influence des conditions météorologiques sur la thermorégulation, nous avons utilisé un enclos extérieur (10 x 10 x 2 m) dans l'enceinte du "Terrarium de Kerdanet" dans les Côtes d'Armor (48° 31' N, 03° 01' O) lequel se situe dans l'aire de distribution de *V. berus* et proche (<200 km) des zones de sympatrie. Les conditions climatiques dans cette région sont généralement tempérées océaniques avec une importante fluctuation inter-annuelle. L'enclos extérieur a été aménagé pour garantir un gradient thermique aux serpents. La végétation de l'enclos et les places de thermorégulation procurent l'ombrage et les refuges

pour les animaux. Les vipères n'ont pas été nourries pendant la période de gestation et les causes de perturbations ont été limitées au maximum.

La température corporelle a été mesurée chez 6 femelles gestantes de *V.berus* (SVL = 48.67 ± 3.16 cm; BM = 106.73 ± 18.03 g) et 6 de *V. aspis* (SVL = 46.58 ± 4.72 cm; BM = 110.68 ± 21.45 g) toutes les 15 min pendant 38 jours entre le 7 juillet et le 13 août 2008. Simultanément, nous avons mesuré les températures environnementales opératives (T_e) dans un nombre varié de micro habitats disponibles pour les vipères (Bakken 1992). Nous avons utilisé 9 modèles physiques construits avec des tuyaux remplis d'eau, reproduisant les caractéristiques thermiques des espèces étudiées. Nous avons testé le réalisme de nos modèles en les calibrant avec des carcasses fraîches de vipères. Nous avons placé les modèles dans 3 types de micro-habitats : au sol sous les buissons ($N = 3$), dans des refuges sous le sol ($N = 3$) et posé au sol exposé au soleil ($N = 3$).

Les jours ont été classés comme « chauds », « moyens » ou « froids » en fonction du temps où le T_e maximum ($T_{e \text{ max}}$) était au dessus de la marge basse de T_{set} ($T_{\text{set low}}$) de chaque espèce. Nous avons seulement considéré la limite basse de T_b car l'examen de la distribution de sa fréquence indique que T_b était contraint par les températures basses de l'environnement. Les jours étaient catégorisés comme « froids » quand $T_{e \text{ max}}$ était au dessus $T_{\text{set low}}$ entre >0 et 4 heures (10 jours), comme « moyens » quand $T_{e \text{ max}}$ était au dessus $T_{\text{set low}}$ entre >4 et <8 heures (12 jours) et comme « chauds » quand $T_{e \text{ max}}$ était au dessus $T_{\text{set low}}$ durant plus de 8 heures (13 jours). Pour chaque jour, nous avons distingué le jour entre 8 et 21 heures et la nuit entre 21 et 8 heures. Nous avons utilisé des indices développés pour mesurer la précision et l'efficacité de la thermorégulation chez les reptiles (Hertz et al. 1993; Christian & Weavers, 1996; Blouin-Demers & Weatherhead, 2001b). Du fait que les thermorégulateurs actifs sont essentiellement diurnes sous les climats tempérés, les indices ont été calculés seulement pour le jour et non la nuit pour chaque type de jour. Nous avons calculé la précision de T_b comme la moyenne des déviations de T_b par rapport à T_{set} (déviations individuelles, d_b). Nous avons mesuré l'étendue de la thermorégulation comme étant la durée totale où T_b est au dessus de $T_{\text{set low}}$ durant le jour. Nous avons calculé l'exploitation thermique (Ex) en utilisant une modification de l'index proposé par Christian & Weavers (1996) : La proportion de temps passé au dessus de $T_{\text{set low}}$ durant le jour exprimé comme le pourcentage du temps disponible pour le réaliser ($T_{e \text{ max}} > T_{\text{set low}}$). Nous avons mesuré la qualité thermique de chaque habitat par la durée journalière où T_e était au dessus de $T_{\text{set low}}$.

Estimation des gains de performances

Le taux métabolique est un paramètre crucial pour évaluer le taux des processus physiologiques. Notre hypothèse générale est qu'un taux métabolique basal plus haut est avantageux car il permet d'assurer un développement plus rapide. Nous avons utilisé les équations de normes de réactions thermiques du taux métabolique pour estimer le métabolisme standard journalier (entre 8 et 21 heures) pour chaque espèce et chaque jour du suivi. Notre objectif était de quantifier la contribution relative de la thermorégulation sur les performances métaboliques journalières des deux espèces. Pour cela, nous avons mesuré chez le thermorégulateur le plus efficace, la différence des gains métaboliques journaliers en considérant i) ses profils thermiques propres mais aussi ii) les profils thermiques de l'autre espèce.

2.4 Suivi populationnel en syntopie

Suivi populationnel des dates de mise-bas

Un suivi populationnel a été mis en place dans l'ouest de la France ($47^{\circ} 29' N$; $1^{\circ} 45' W$) où *V. berus* et *V. aspis* coexistent et atteignent leurs limites respectives de répartition (Guiller et al. *sous press*). Ce site d'étude présente une surface d'environ 200 ha et est composé de prairies séparées par un réseau de haies réparties (Figure 16.) sur les communes de Bouvron, Campbon, Blain et Drefféac dans le Nord-Ouest du département de la Loire-Atlantique.



Figure 16. Type de milieu prospecté sur le site de la population syntopique. Crédit photo Gaëtan Guillet

Des informations détaillées ont été collectées entre 1999 et 2008. Les données utilisées pour cette étude proviennent de femelles adultes et gravides, trouvées en insolation directe au cours des prospections hebdomadaires durant le mois d'août totalisant pour *V. berus*, 89 femelles gestantes (sur 10 années) et 44 femelles gestantes de *V. aspis* (sur 7 années). Les femelles

gestantes retrouvées ont été prélevées, identifiées individuellement et transférées dans des bacs individuels (dimensions : 40 x 20 x 15 cm) chauffés artificiellement permettant aux femelles de terminer leur gestation dans de bonnes conditions (Guiller et al. *sous press*). Cette période de captivité en fin de gestation permet déterminer la date de mise bas des femelles. Après la mise bas, les nouveau-nés d'une portée sont replacés sur le terrain avec leur mère, à l'emplacement exact de la capture.

Suivi de l'hygrométrie des sites de thermorégulation

En 2009, nous avons enregistré les conditions microclimatiques des localisations où les vipères étaient détectées en premier (respectivement, n = 125 et 83 localisations pour *V. berus* et *V. aspis*). Nous avons mesuré la température du sol (Tg) (°C) et l'humidité relative (RHg) de l'air directement au niveau de la localisation du serpent en utilisant un thermo-hygromètre (Voltcraft HT-200, ± 0.5°C et ± 2 % humidité relative). Nous avons converti l'humidité relative en humidité absolue en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Humidité absolue} = \text{RHg} * 6.11 * 10^{(7.5 * \text{Tg} / (237.7 + \text{Tg}))}$$

3. Modélisation spatiale de la niche réalisée et de la niche fondamentale

3.1 Données de présence

Base de données pour la France

Une base de données d'observations nationales a été créée il y a plus de 30 ans par la Société Française d'Herpétologie. Nous avons pu additionner à cette base nationale toutes les données recueillies à plus fine échelle. L'ensemble des données au moins égales à une résolution communale a été converti à une échelle communale correspondant à une superficie moyenne de $15.0 \pm 15.0 \text{ km}^2$. L'ensemble du jeu de données obtenu représente un total de 943 communes où *V. berus* a été observée (Figure 17.a) et 3504 communes pour *V. aspis* (Figure 17.b).

Bases de données pour le Massif central

Afin de réaliser des analyses à une fine échelle spatiale nous avons bénéficié d'un ensemble de données soit issues de bases de données associatives soit d'observations ponctuelles d'herpétologues. Nous avons ainsi regroupé 787 points d'observations différents (GPS où

lieux–dit) de *V. berus* à l'échelle du Massif central correspondant à une précision spatiale au moins égale à 4ha (pixel de 200m de coté) (Figure 18.).

Contributeurs

Nous voulons ici remercier l'ensemble des associations, organismes et herpétologues d'avoir contribué à réaliser la plus importante base de données nationale sur *V. berus* et la vipère aspic. Les données sont issues de la Société Française d'Herpétologie, la SHF Normandie, Le Groupe Mammalogique et Herpétologique du Limousin, Nature Midi-Pyrénées, la Société d'Histoire Naturelle Alcide D'Orbigny, l'Association Lozérienne pour l'Etude et la Protection de l'Environnement, le Cora Ardèche, la Ligue de Protection des Oiseaux délégation Loire, la Ligue de Protection des Oiseaux délégation Auvergne (www.faune-auvergne.com), l'Atlas des reptiles du Languedoc Roussillon et Deux-Sèvres Nature Environnement.

Nous voulons également remercier les herpétologues qui nous ont permis de construire ces bases de données: Damien Aumaitre, Yohann Bard, Marine Bochu, Alexandre Boissinot, Jacky Brard, François Brischoux, Olivier Chastel, Marc Cheylan, Dominique Chapus, Bernard Chevalier, Damien Cocatre, Pierre-Olivier Cochard, Johanna Corbin, Hervé Cubizolle, Rémi Destre, Romuald Dohogne, Florian Doré, Andréaz Dupoué, Jean-Paul Favre, Christian Fosse, Samuel Gagnier, Philippe Geniez, Olivier Gerriet, Eric Graitson, Pierre Grillet, Jean-Luc Grossi, Gaëtan Guillet, Laure Isaac, Julien Jemin, Romain Laneyrie, Frédéric Lagarde, Pierre Legagneux, Jérôme Legentilhomme, Maxime Le Henanff, Hélène Lisse, Olivier Lourdais, Marc-Antoine Marchand, Jean-Christophe de Massary, Serge Mazaud, Jean Muratet, Anthony Olivier, Philippe Orsini, Jérôme Porteret, Clara Perron, Gilles Pottier, Florian Rodamel, Alexandre Teynier, Stéphane Tillo, Pierre Tourret, Jean-Pierre Vacher, Nicolas Varangue, Alexandre Villiers et Rob Ween.

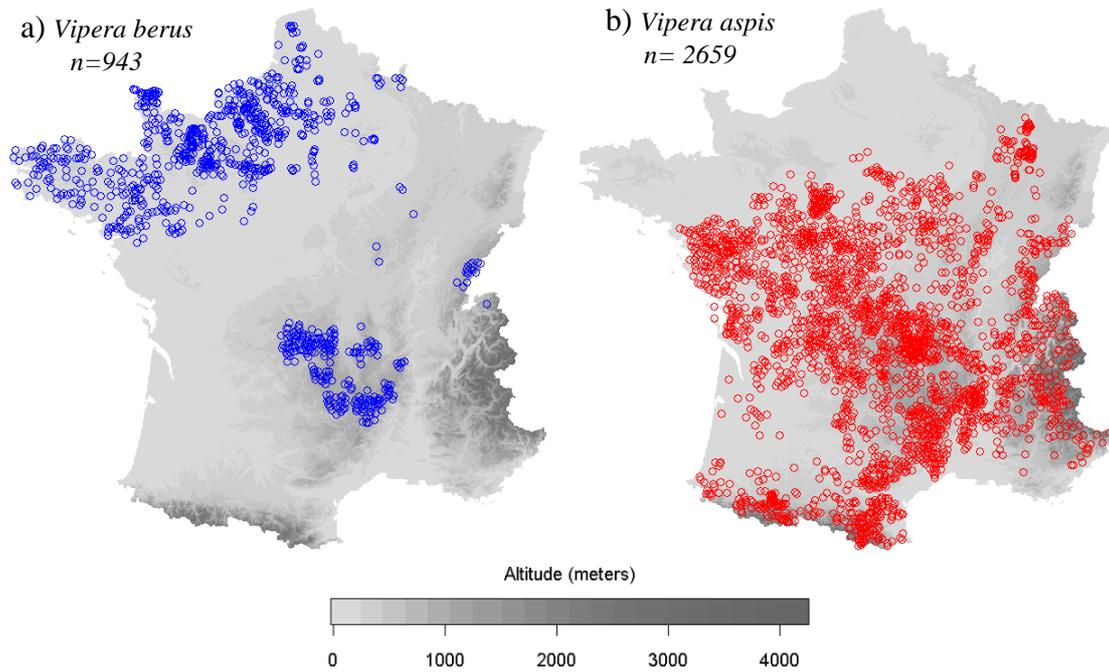


Figure 17. Présentation de notre base de données nationale à une précision communale. Point d'occurrence pour la vipère péliade à gauche (a) et la vipère aspis à droite (b).

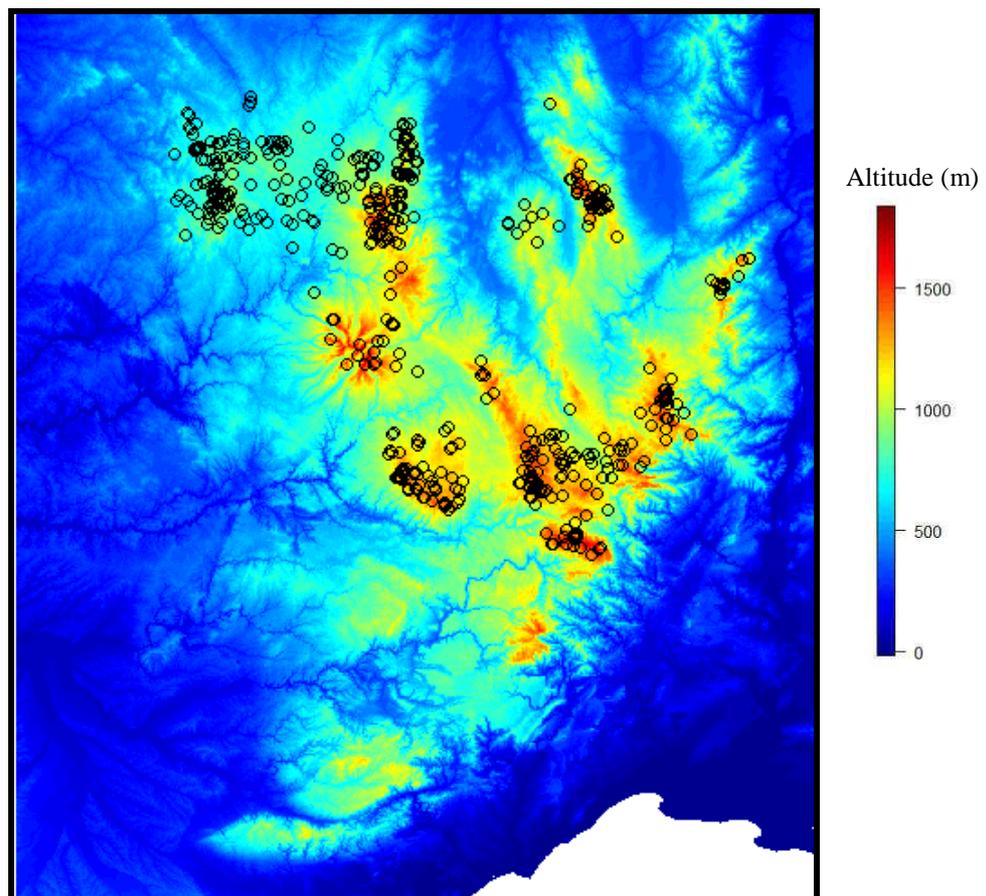


Figure 18. Données d'observations de la vipère péliade à fine échelle collectées à l'échelle du Massif central. Les cercles noirs correspondent aux 787 points d'observations présentés en fonction de l'altitude.

3.2 Données environnementales

Les transformations et les calculs spatialisés ont été réalisés grâce aux logiciels GRASS GIS 6.4 (GRASS Development Team, 2010), R 2.11.1 (Development Core Team, 2011) associés à de nombreux packs (ade4, adehabitat, base, fields, graphics, gstat, lattice, lme4, maptools, rgdal, SDMTools, sp, spatstat, sgrass6 and stats) ainsi que ArcGis 9.4.

Topographie

Nous avons utilisé des données topographiques comme l'altitude, la pente et l'orientation issues des données SRTM version 4.1 (Jarvis et al. 2008). La résolution originelle est d'environ 100m pour la France. Ces informations nous ont permis de calculer pour chaque mois, l'irradiation potentielle (sans nébulosité) calculée grâce à l'option d'analyse spatiale de ArcGis 9.4. Ces variables ont été ensuite modifiées afin d'avoir la résolution souhaitée.

Données du climat actuel

Dans l'ensemble des études menées, nous avons utilisé 4 types de variables climatiques disponibles à l'échelle de la France. La température et les précipitations ont été dérivées du modèle climatique AUREHLY développé par METEO-FRANCE correspondant aux moyennes climatiques sur une période de 30 ans allant de 1971 à 2000 issues de stations météorologiques. Nous avons à disposition les précipitations mensuelles, la température maximum mensuelle et la température minimale mensuelle. Nous avons également utilisé les données de radiations solaires interpolées (PVGIS © European Communities, 2001-2008) se basant sur des données moyennes collectées par des stations météo durant la période 1981-1990 (Šúri et al. 2007).

Les données avaient une résolution initiale de 1km et les variables ont été ensuite modifiées afin d'avoir la résolution souhaitée. Nous avons utilisé une interpolation bilinéaire pour correspondre à la résolution de 200 m. Enfin, nous avons construit un index de nébulosité en utilisant d'une part les données interpolées d'irradiation effective mensuelles (PVGIS © European Communities, 2001-2008) et d'autre part les données d'irradiation potentielle issues des données topographiques (SRTM version 4.1). L'index de nébulosité correspond au pourcentage de différence entre l'irradiation potentielle et l'irradiation effective.

Données météorologiques du site de suivi de population

Nous avons compilé l'ensemble des données mensuelles printanières et estivales recouvrant l'ensemble de la période de suivi populationnel localisé à Blain. Nous avons utilisé les stations de Blain, de montoir et Nort-sur-Erdre pour recueillir mensuellement, la température maximale moyenne, la température minimale moyenne, les précipitations et l'irradiation solaire moyenne. Ces 4 variables correspondent aux variables obtenues spatialement à l'échelle climatique nous permettant de faire des comparaisons entre les conditions moyennes enregistrées sur 30 ans sur la zone et les conditions météorologiques interannuelles.

Projections de climat futur

Nous avons utilisé une projection future développée par le « UK Met Office Hadley Centre for Climate Prediction and Research » (Mitchell et al. 2004 ; Mitchell & Jones 2005) correspondant à une réponse moyenne sur la période de 2071 à 2100. Ces données ont été dérivées de modèles de circulation globale (HadCM3 ; Mitchell et al. 1998 ; Gordon et al. 2000) en se basant sur le scénario socio-économique B1 (modéré) proposé par le « Intergovernmental Panel on Climate Change » (Nakicenovic & Swart, 2000) et qui a été utilisé dans le dernier rapport des estimations (IPCC 2007) (Figure 19.). Cette projection était disponible à une résolution de 15km pour les températures moyennes mensuelles et les précipitations mensuelles. Nous avons utilisé une interpolation bilinéaire pour correspondre à la résolution spatiale de 200 m à l'échelle de la zone d'étude.

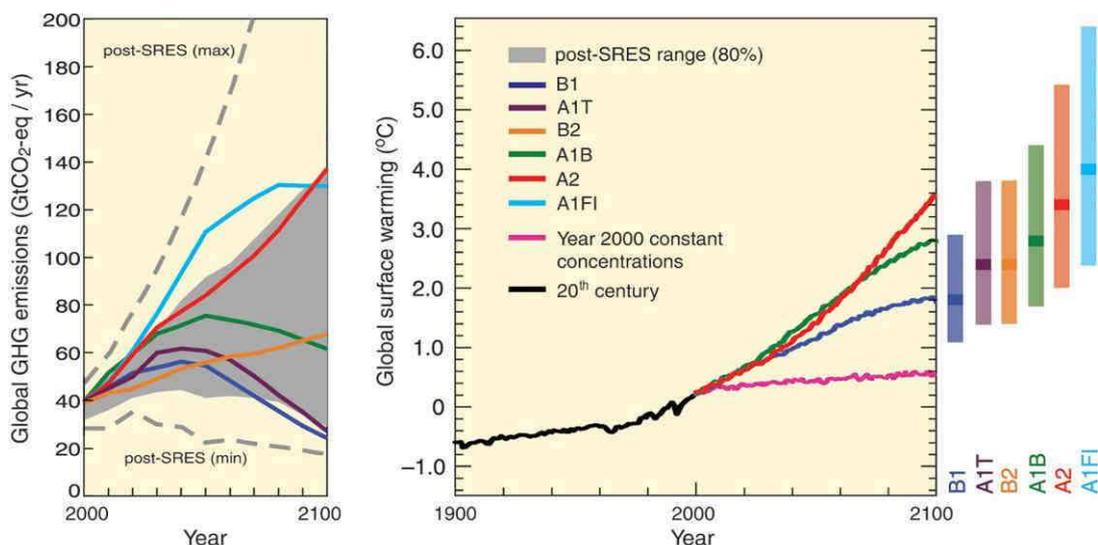


Figure 19. Présentation des scénarios de changements climatiques proposés par (IPCC 2007).

En fonction des différents scénarios socio-économiques (pronostics de production de gaz à effet de serre) (a), les modèles climatiques prédisent l'évolution des conditions climatiques futures (b). Parmi les différents scénari nous avons utilisé le plus modéré (B1).

3.3 Méthode corrélative : BIOMOD

Principe

Nous avons utilisé une méthode se basant sur un ensemble de différentes méthodes statistiques se basant sur un consensus de prédictions prenant en compte les incertitudes liées au choix des méthodes (Marmion et al. 2009). BIOMOD est une plateforme de calcul donnant un ensemble de prédictions et d'incertitudes de la distribution des espèces (Thuiller et al. 2009). Cette méthode est implémentée dans R (R Development Core Team 2011) dans le pack "BIOMOD". Nous avons utilisé 8 techniques de modélisation différentes : 1) les modèles linéaires généralisés ou GLM (McCullagh & Nelder 1989), 2) les modèles généralisés additifs ou GAM (Hastie & Tibshirani 1990), 3) les regressions adaptatives multivariées de spline ou MARS (Friedman 1991), 4) l'analyse d'arbre de classification ou CTA (Breiman et al. 1984), 5) l'analyse discriminante en mélange ou MDA (Hastie et al. 1994), 6) les réseaux de neurones artificiels ou ANN (Ripley 1996), 7) les modèles généralisés fortifiés ou GBM (Ridgeway 1999) et 8) les « random forests » ou RF (Breiman 2001).

Du fait d'avoir des données de présence seule, nous avons généré au hasard 10 jeux de pseudo-absences (5000 points) répartis sur l'ensemble de la zone d'étude (cf. Thuiller et al. 2009). Tous les modèles ont été construits sur 70% de ces données initiales et évalués sur les 30% restant. Nous avons utilisé 2 méthodes pour quantifier la concordance entre les valeurs prédites et celles observées : 1) l'« area under the receiver - operating characteristic curve » ou AUC (Hanley & McNeil, 1982) et 2) la « true skill statistic » ou TSS (Allouche et al. 2006). L'évaluation par AUC varie entre 0.5 (prédictions du modèle non différentes du hasard) et 1 (prédictions parfaites des données observées par le modèle). L'évaluation par la TSS varie entre 0 (prédictions au hasard) et 1 (parfaites). Les prédictions sont utilisables dès lors qu'elles correspondent à une $AUC > 0.7$ ou une $TSS > 0.4$ (Swets 1988, Engler et al. 2011). La séparation du jeu de données en deux (70% vs 30%) a été répétée au hasard 10 fois donnant ainsi un total de 880 modèles réalisés.

Données climatiques en entrée

Afin d'étudier l'importance des saisons sur la distribution des espèces à l'échelle de la France, nous avons constitué 4 jeux de données saisonnières (le printemps de mars à mai, l'été de juin à août, l'automne de septembre à novembre et l'hiver de décembre à février) elles même constituées de 4 variables climatiques. Nous avons considéré le cumul des précipitations, la

température moyenne maximale, l'amplitude moyenne de température et l'irradiation effective moyenne. Les variables d'une résolution initialement de 1km ont du être moyennées par commune. Pour limiter la colinéarité des variables, nous avons calculé pour chaque saison les résidus de l'irradiation effective dérivée de régression linéaire entre l'irradiation effective moyenne et la température maximale moyenne. Les coefficients de corrélation ont été calculés en utilisant la corrélation de Pearson.

Afin d'étudier les variations de distributions de *V. berus* liées aux changements climatiques à l'échelle du massif central, nous avons utilisé 4 variables saisonnières. Nous avons utilisé la température moyenne et le cumul des précipitations du climat actuel (1971/2000) et leur projection en 2071/2100 pour le scénario B1. Nous avons également utilisé également l'irradiation potentielle et l'indice de nébulosité comme variable complémentaire mais en l'absence de prédictions futures sur la nébulosité, nous l'avons maintenu constante. Nous n'avons utilisé que la saison la plus explicative d'après les résultats des analyses à l'échelle de la France.

Présentation des résultats

Les scores des évaluations (AUC and TSS) des 880 modèles ont été moyennés par saison afin de les comparer et d'identifier les données climatiques les plus explicatives.

Pour identifier l'importance relative de chacune des variables, nous avons utilisé une procédure de BIOMOD qui permet de réaliser des corrélations de Pearson entre les prédictions standards et les prédictions où la variable à tester a été permutée au hasard. Si la corrélation est importante, cela signifie que la variable permutée n'a pas d'importance dans le model. Nous avons répété 10 fois cette procédure pour chacune des variables. L'importance des variables correspond à 1 moins la moyenne des coefficients corrélation.

Afin de cartographier la niche réalisée des espèces à l'échelle de la France et en prenant en compte les incertitudes, nous avons eu besoin de générer les résultats en 2 étapes. Dans un premier temps, nous avons utilisé le jeu de données correspondant à la saison ayant obtenu le plus hauts scores en moyenne pour calculer les prédictions de probabilités de présence (compris entre 0 et 1) pour l'ensemble des 880 modèles de chaque espèce. Nous avons ensuite transformé ces probabilités en données d'occurrence (données binaires égales à 0 ou 1) grâce au seuil de l'AUC et de la TSS pour les 880 modèles. Nous avons sommé les 1760 cartes d'occurrence ainsi obtenues pour chaque espèce pour calculer le pourcentage de modèles en accords pour prédire la présence des espèces. Ainsi, une valeur de 0% veut dire que 100% des modèles concordent pour prédire l'absence de l'espèce alors qu'une valeur de 100% veut dire

que 100% des modèles concordent pour prédire la présence de l'espèce. Cette procédure permet de cartographier la niche réalisée de l'espèce en considérant pour chaque point les incertitudes de l'ensemble des prédictions. Nous avons posé arbitrairement que la limite de la niche réalisée des espèces correspond aux sites où au minimum 50% des modèles prédisent l'espèce comme présente. Pour visualiser les effets des variables sur les prédictions, nous avons calculé les courbes de réponses pour chacune des variables majeures pour chaque espèce. Nous avons utilisé une fonction de BIOMOD afin d'extraire les « responses plots » (Elith et al. 2005) des 880 modèles pour calculer la réponse moyenne de chaque variable pour chaque espèce.

Afin de cartographier la distribution de *V. berus* à l'échelle du massif central, nous avons utilisé les prédictions d'occurrence pondérées en fonction de la qualité d'évaluation de chacun des 880 modèles. Nous avons ensuite utilisé ces cartes pour prédire la phénologie de la distribution de l'espèce.

3.4 Méthode mécaniste : Niche mapperTM

Principe

Nous avons utilisé Niche MapperTM constitué de modèles brevetés aux Etats Unis (Porter and Mitchell 2006) afin d'étudier l'expression spatiale de traits physiologiques et comportementaux. Niche Mapper est composé de 2 exécutables, le « Micro2011b » et le « Ecto2011a ». Le modèle « Micro » permet de générer la gamme des conditions microclimatiques susceptibles d'être exploitées par un individu. Pour cela il se base sur les conditions topographiques (latitude, longitude, altitude, exposition, pente), les conditions d'habitat (% d'ombrage au sol) et les conditions générales climatiques ou météorologiques (Résultats, Chapitre II, Annexe B) pour prédire les profils thermiques journaliers de l'environnement (Figure 20.). Le modèle « Ecto » exploite ces gradients thermiques prédits pour déterminer, heure par heure, la température corporelle de l'individu en utilisant les principes physiques des transferts de chaleur et en intégrant les propriétés morphologiques et les décisions comportementales de l'espèce (Figure 20.; Résultats, Chapitre II, Annexe C-1).

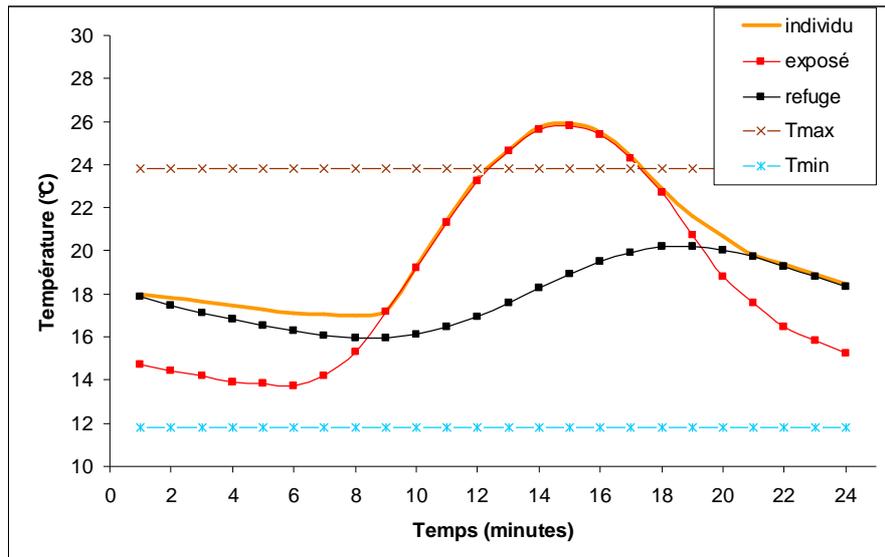


Figure 20. Exemple de profil journalier prédit par Niche Mapper TM. Le modèle « Micro » permet de calculer heure par heure la température du refuge et de la placette de thermorégulation (refuge et exposé) à partir des températures maximales et minimales sous abris (Tmax et Tmin). A partir de cela, le modèle « Ecto » permet de prédire l'évolution de la température corporelle de l'individu (individu).

En sortie, le model « Ecto » génère pour chaque mois à l'échelle d'un site, les profils journaliers moyens de la température corporelle (°C), la dépense énergétique de maintenance journalière (kj/jour) et les pertes respiratoires et totales en eau par évaporation (g/jour). Nous avons ensuite calculé la température moyenne (°C), les budgets énergétiques (kj) et hydriques (g) estivaux et annuelles.

Données de performances physiologiques en entrée

Nous avons utilisé les données de métabolisme standard qui ont été acquises dans cette thèse (Résultats, Chapitre I.1) pour obtenir une équation prédisant le métabolisme standard d'un individu moyen en fonction de sa température corporelle. Cette équation a ensuite été implémentée dans le modèle « Ecto » pour adresser les coûts de maintenance et estimer les budgets énergétiques de maintenance annuels et saisonniers spécifiques à nos deux espèces. De la même manière, pour prédire les budgets annuels et saisonniers des pertes en eau, nous avons utilisé les données acquises dans cette thèse sur les pertes totales en eau par évaporation (Résultats, Chapitre I.2) pour déterminer grâce au modèle « Ecto » les pertes respiratoires et totales en fonction de la température corporelle. Nous avons enfin utilisé les résultats du suivi populationnel sur la phénologie des dates de mise-bas présentées dans cette thèse (Résultats, Chapitre I.3). Pour chaque année du suivi, nous avons calculé les températures corporelles moyennes estivales grâce au modèle « Ecto » après avoir injecté dans le modèle « Micro » les

températures minimales, maximales mensuelles et la nébulosité moyenne issues des stations météorologiques les plus proches du site d'étude. Pour chaque espèce, nous avons ainsi déterminé une équation linéaire permettant de prédire la date de mise bas moyenne en fonction des températures corporelles moyennes estivales (Résultats, Chapitre II, Annexe C-4)

Données en sortie

Par le biais du logiciel Perl, il est possible de calculer site par site le budget énergétiques le budget hydrique et la température corporelle moyenne estivale à l'échelle d'un territoire en utilisant des données climatiques spatialisées et ainsi d'obtenir des prédictions spatialisées mois par mois des coûts de maintenances et des températures corporelles moyennes.

Nous avons pu ainsi quantifier, pour les deux espèces, les budgets estivaux et annuels de maintenance (énergie et eau) à l'échelle de la France en se basant sur les données climatiques et topographiques disponibles. Nous avons ainsi pu quantifier l'importance de l'été par rapport aux budgets annuels. Nous avons également regardé chez les deux espèces l'impact du gradient climatique (température) sur l'évolution de ces coûts de maintenance.

Enfin, nous avons utilisé les cartes de températures corporelles moyennes estivales des deux espèces pour les combiner aux équations linéaires déterminées à l'échelle du site du suivi populationnel pour prédire les dates de mise-bas moyennes à l'échelle de la France.

Enfin, grâce à cette approche spatialisée, nous avons extrait pour chaque espèce les prédictions mécanistes correspondant à la niche réalisée des deux espèces pour mieux les comparer.

4. Génétique des populations

4.1 Echantillonnage et amplification de l'ADN

La diversité génétique a été estimée au sein de 32 populations totalisant 602 *V. berus* (entre 5 et 30 individus par localisation) originaire de France, Suisse, Allemagne, Belgique et des Pays-Bas (Figure 21.). Ces populations ont été groupées en 5 régions (le Massif central, côte Atlantique, le Jura, les Alpes et Nord-est) correspondant à des affinités géographiques. Les échantillons d'ADN sont issus de sang, d'écaillés, de peau ou de prélèvements buccaux et l'ADN total a été extrait en utilisant QIAamp DNA Mini Kits (Qiagen). Notre contribution à

cette étude s'est concentrée à l'échelle du Massif central à ajouter 9 nouvelles populations sur les 10 échantillonnées au final, représentant ainsi 148 individus supplémentaires à la banque de données sous forme de prélèvement écailles et de mue (Figure 22.).

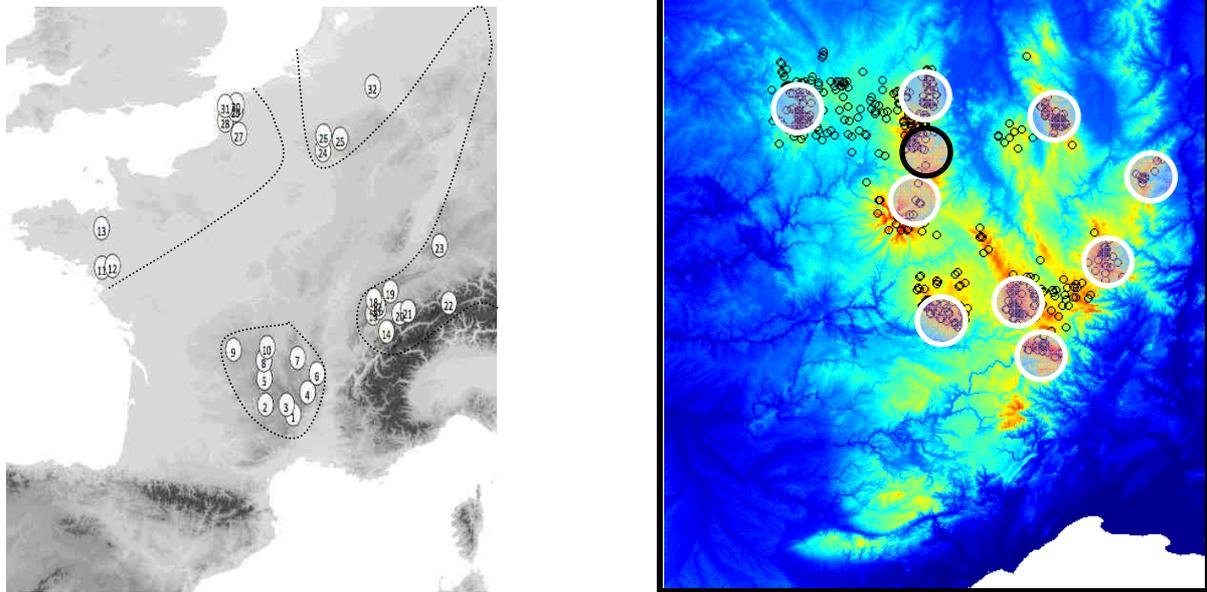


Figure 21. Localisation des 32 populations échantillonnées. A gauche localisation des populations à l'échelle du sous-clade « Ouest ». Les lignes pointillées représentent les limites générales de distribution de l'espèce. A droite, localisation des 9 nouvelles populations (cercle blanc) échantillonnées durant la thèse dans le Massif Central. La carte reprend les données d'observations de l'espèce en fonction de l'altitude (Figure 17.)



Figure 22. Présentation de la méthode de prélèvement utilisée à l'échelle du massif central. Nous avons prélevé par individu trois demi-écailles ventrales au niveau du milieu du corps

4.2 Amplification des microsatellites

Nous avons estimé la diversité génétique en utilisant 9 marqueurs microsatellites (Vb-A8, Vb-A11, Vb-B'2, Vb-B'9, Vb-B10, Vb-B'10, Vb-B18, Vb-D'10 and Vb-D17; voir Ursenbacher et al. 2009) spécialement développés pour *V. berus*. Une partie des analyses de différentes populations a déjà été publiée dans Ursenbacher et al. (2009). Les échantillons additionnels ont été amplifiés en suivant la méthode décrite dans Ursenbacher et al. (2009) mais les produits des PCR de microsatellite ont été analysés dans un séquenceur automatique ABI 3130xl et les tailles des allèles ont été quantifiés grâce au programme PEAKSCANNER 3.1 (Applied Biosystems). Ainsi, l'ensemble des individus n'a pas été génotypé avec la même méthodologie. Nous avons en conséquence analysé plusieurs individus avec les deux méthodes afin d'évaluer chaque primer par des tables de conversion.

4.3 Analyses statistiques

Afin d'éviter les problèmes analytiques causés par les allèles nuls, nous avons sélectionné seulement les marqueurs pour lesquels nous n'avons pas trouvé d'allèles nuls. (Ursenbacher et al. 2009). Nous avons pour cela testé l'occurrence en allèles nuls pour chaque population en utilisant MICROCHECKER 2.2.3 (Van Oosterhout et al 2004). De plus le déséquilibre entre les loci a été testé avec FSTAT 2.9.3 (Goudet 1995). La fréquence des allèles, la richesse en allèle (A_r) et l'hétérozygotie espérée (H_e) grâce à FSTAT. Le déficit en hétérozygote dans la population (FIS) et la différenciation génétique entre les populations (FST) ont été calculés et testés pour un départ significatif vers zéro par permutation (1000 répliques) avec FSTAT. La proportion de variation génétique au sein et entre les régions a été calculée grâce à AMOVA dans GENALEX 6.4 (Peakall and Smouse 2006) avec 99 réplifications. Les distances génétiques additionnelles entre les populations ont été calculées en utilisant la distance de corde de Cavalli-Sforza et Edwards (Cavalli-Sforza and Edwards 1967) et la reconstruction phylogénétique a été conduite en utilisant le programme POPULATIONS 1.2.28 (Langella 1999) car cette méthodologie est plus appropriée pour reconstruire les relations entre population (Takezaki & Nei 1996).

Les hypothèses de réduction de la diversité génétique depuis le refuge jusqu'aux zones périphériques de recolonisation ont été testées par le biais des coefficients de corrélation de Spearman grâce au logiciel SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, US).

Résultats



Les résultats sont présentés sous la forme d'articles rédigés en anglais et sous forme de résultats en français. Un article sur la manipulation expérimentale des conditions de développement est également présenté en annexe. Les résultats sont répartis en trois chapitres qui correspondent aux axes de recherches. Chaque chapitre est composé d'un résumé détaillé en français.

Articles soumis ou en préparations :

Chapitre I

Lourdais O., **Guillon M.**, DeNardo D. & Blouin-Demers. Climatic specialization in snakes: evidences for physiological and behavioural covariation. (A1)

Guillon M., Guiller G., DeNardo D. & Lourdais O. Microclimate variation of two viperid snakes at their contact zone correlates with contrasting evaporative water loss rates. (A2)

Chapitre II

Guillon M., Lourdais O., Thuiller W., Cubizolle H., Huang S.-P. & Porter W. Combining correlative and mechanistic models to understand parapatry in low energy specialists. (A3)

Annexe

Lorioux S., Vaugoyeau M., DeNardo D, Clobert J., **Guillon M.** & Lourdais O. From the embryo's perspective: stage-dependent sensitivity reveals complex maternal thermal effects in a viviparous snake.

Résultats en français

Chapitre I

I.2. Phénologie de la reproduction de *Vipera berus* et *Vipera aspis* en zone de syntopie.

Chapitre III

III.1. Recolonisation post-glaciaire de la vipère péliade (*Vipera berus*) dans l'Europe de l'ouest.

III.2. « Locked in the South » : Impact du changement climatique sur la distribution d'une relique glaciaire.

Chapitre I

Déterminants de la spécialisation climatique d'une relique glaciaire



Résumé du chapitre I

L'objectif de ce chapitre a été d'identifier les adaptations liées au climat froid (physiologiques et comportementales) et d'évaluer les coûts et les bénéfices associés en fonction des contraintes environnementales. Dans un premier temps, nous avons comparé les stratégies de thermorégulation de *V. berus* et *V. aspis* pendant la gestation. Pendant cette période, les femelles présentent des besoins thermiques importants avec une thermorégulation accentuée. Ce contexte physiologique particulier offre une bonne opportunité pour mesurer l'efficacité de thermorégulation en fonction des contraintes environnementales et d'évaluer les bénéfices associés.

Alors que les deux espèces étudiées présentent des affinités climatiques contrastées, les préférences thermiques mesurées en conditions non contraignantes (gradient thermique) sont identiques pendant la gestation. Cependant, en conditions semi-naturelles, les femelles de *V. berus* bénéficient d'une meilleure efficacité de thermorégulation. Cette espèce est en effet capable d'atteindre et de maintenir la température préférée sur une plus longue période. L'écart est d'autant plus important lorsque que les conditions météorologiques sont défavorables. Nos résultats sur le taux métabolique standard sont en accord avec l'hypothèse d'adaptations métaboliques au froid. En effet, *V. berus* présente un métabolisme plus fort à toutes les températures testées. Cette différence d'orientation métabolique peut expliquer les performances spécifiques (la digestion ou la gestation plus rapides à basse température) démontrées dans des études antérieures. Nous avons utilisé les équations métaboliques pour estimer les performances journalières en conditions naturelles. Comme nous le présumions, *V. berus* maintient toujours un taux métabolique journalier plus important principalement du au décalage des normes de réactions. Toutefois la plus grande efficacité de thermorégulation de *V. berus* participe au contraste de performance métabolique plus particulièrement lorsque les conditions sont contraignantes et où l'espèce est capable d'exploiter les opportunités thermiques.

Sous des climats froids, les contraintes thermiques rendent la thermorégulation précise coûteuse si les bénéfices associés sont réduits (faible amélioration des performances) car les coûts liés à l'exposition au prédateur augmentent (Huey & Slatkin 1976). Toutefois, un taux métabolique plus important peut compenser les contraintes thermiques et modifier la relation coûts/bénéfices de la thermorégulation. Ainsi un épisode de thermorégulation même bref et

l'accès à la température préférée devrait permettre un gain de performance physiologique significatif en accélérant la dynamique de gestation et la phénologie de la reproduction.

Nous avons voulu quantifier ces bénéfices sur les performances reproductrices. Du fait de la viviparité et les forts besoins thermiques identiques, les contrastes de performances physiologiques et comportementales devrait largement s'exprimer sur la phénologie de la reproduction. Nous avons comparé les dates de mises bas des deux espèces en se basant sur un suivi de populations syntopiques dans l'Ouest de la France où les deux espèces atteignent leur limite de distribution respective. Nos résultats montrent tout d'abord une forte variabilité interannuelle des dates de mises bas moyenne chez les deux espèces. La période estivale semble être la période la plus explicative de ces variations interannuelles. Une forte corrélation entre les dates de mises bas moyennes et la température moyenne estivale existe pour les deux espèces. Toutefois malgré ces variations, *V. berus* est capable dans les mêmes conditions météorologiques de se reproduire plus tôt (15.09 ± 2.14 jours) que *V. aspis*.

En situation de sympatrie, une partition spatiale par l'habitat existe entre les des deux espèces. Ce contraste pourrait reposer sur un contraste physiologique en relation avec les adaptations climatiques propres. La thermorégulation peut induire des coûts physiologiques (contraintes sur le budget temps) ou écologiques (exposition au prédateur). Les pertes en eau par évaporation sont directement influencées par la température et les sites de thermorégulation sont souvent exposés à une humidité plus faible. Un compromis physiologique est donc attendu entre la balance hydrique et la thermorégulation mais ces aspects demeurent sous considérés. La sensibilité aux pertes hydriques dépend de facteurs extrinsèques (habitat, conditions météorologiques) mais aussi de traits endogènes à l'organisme (adaptations climatiques). Par exemple, les espèces de milieux xériques devraient présenter une résistance supérieure aux pertes hydriques par évaporation. Nous avons étudié les micro-habitats sélectionnés en conditions naturelles par les deux espèces ainsi que la sensibilité aux pertes hydriques respiratoires et cutanées. Nous avons mis en évidence que *V. berus* est plus exposée aux pertes hydriques par évaporation que *V. aspis*. De plus, cette espèce utilise des micro-habitats plus humides pour thermoréguler. Les propriétés microclimatiques de l'habitat (température et humidité) pourraient constituer des déterminants proximaux de la partition spatiale observée en zone de syntopie.

Chapitre I.1 Spécialisation climatique chez les vipères

Manuscrit en preparation (A1)

Running head: climatic specialization in vipers

Cold climate specialization in vipers: evidence for physiological and behavioural covariation during gestation

Olivier Lourdais^{1,2}, Michaël Guillon^{1,3}, Dale DeNardo² and Gabriel Blouin Demers⁴

¹ Centre d'Études Biologiques de Chizé, CNRS, 79360, Villiers en Bois, France

² School of Life Sciences, Arizona State University, 85287-4501 Tempe, AZ, USA

³ Université de Poitiers, 40 avenue du recteur Pineau, 86022 Poitiers, France

⁴ Département de biologie, Université d'Ottawa, Ottawa, Ontario, K1N 6N5, Canada

Correspondence:

Olivier Lourdais, CEBC-CNRS UPR 1934

79 360 Villiers en Bois, FRANCE

Phone: + 33 (0) 5 49 09 96 16

Fax: + 33 (0) 5 49 09 65 26

E-mail: Lourdais@cebc.cnrs.fr

For consideration in: *Functional Ecology*

Table: 2

Figures: 5

Abstract

We compared thermoregulatory strategies during gestation in two viperid snakes (*Vipera berus* and *V. aspis*) with parapatric geographic ranges. *Vipera berus* is a boreal specialist with the largest known distribution among terrestrial snakes while *V. aspis* is a sub-Mediterranean species. Despite contrasted climatic affinities, the two species displayed identical thermal preferences (T_{set}) in a laboratory thermal gradient. Under natural conditions, however, *V. berus* was capable of maintaining T_{set} for longer, especially when the weather was constraining. Consistent with the metabolic cold adaptation hypothesis, *V. berus* displayed higher SMR at all temperatures considered. This high metabolic rate may explain the unusually rapid digestion and gestation of *V. berus* at low temperatures. We used the thermal dependence of metabolic rate to calculate daily metabolic profiles from body temperature under natural conditions. As expected, *V. berus* always experienced higher daily metabolic rate, chiefly because of differences in the metabolic reaction norms, but also because *V. berus* was better able to exploit thermal opportunities. Under cold climates, thermal constraints should make precise thermoregulation costly. Species differences in the thermal reaction norm of metabolic rate, however, may influence the cost-benefit balance of thermoregulation. Covariation between metabolic rate and thermoregulation efficiency is likely an important adaptation to cold climates.

Key words: ectotherm, gestation, thermoregulation, boreal climate, metabolism

Introduction

Geographic patterning is widespread in animal distributions (MacArthur 1984). Temperature-dependent geographic patterning is ubiquitous and probably arises because of adaptations to specific thermal niches (Pörtner 2002; Hochachka & Somero 2002). Ectotherms have limited capacities to regulate their body temperature and climatic conditions are prominent factors in explaining their distribution and diversity (Walther et al. 2002; Guisan & Hofer 2003; Parmesan 2006; Deutsch et al. 2008). Most of the diversity in terrestrial ectotherms is observed under tropical condition (Shine & Madsen 1996; Deutsch et al. 2008) while only a limited number of species can exploit climatic extremes such as boreal climate (Herczeg et al. 2003; Olalla-Tarraga et al. 2006). Therefore, unravelling proximate determinants of cold climate specialization is critical (Voituron et al. 2002).

Temperature influences performance of ectotherms (Huey & Kingsolver 1989). Species distribution modelling has underlined a proximate link between temperature, performance, and current distribution (Kearney & Porter 2004; Buckley 2008). Furthermore, recent shifts in geographic ranges appear related to temperature changes (Parmesan et al. 1999; Parmesan & Yohe 2003), but the response of individual species will likely depend on their physiological tolerances (Bernardo & Spotila 2006). For example, tropical ectotherms are supposedly particularly at risk because of narrow thermal tolerances and ensuing reduced “thermal safety margin” (Deutsch et al. 2008, Huey et al. 2009). On the other hand, cold adapted species may also be particularly vulnerable for at least two reasons: (i) the magnitude of predicted temperature changes increases with latitude, and (ii) specific adaptations to cold temperature (i.e. higher metabolic rate) should be disadvantageous because the predicted temperature changes will result in increased maintenance costs (Samways 1994).

Theoretical models predict that the optimal investment in thermoregulation should balance costs and benefits (Huey & Slatkin 1976). Thermoregulatory strategies vary from active thermoregulation to thermal conformity (Huey & Slatkin 1976). Thermal preferences and tolerances also shape thermal adaptation (Stevenson 1985; Huey & Bennett 1987) and adaptive shifts in thermal requirements may allow the exploitation of a given habitat (Labra et al. 2009). Moreover, the thermal dependence of metabolic rate constitutes an important aspect of thermal adaptation (Hochachka & Somero 2004). Most physiological rates are directly dependent upon metabolism, including those that influence digestion, growth, physical performances, and activity patterns. According to the metabolic cold adaptation (MCA) hypothesis (Clarke 1993), metabolic rate should be higher in ectotherms living in cold

environments compared to relatives living in warmer environments (Addo-Bediako et al. 2002) because a higher temperature-specific metabolic rate allows to compensate the effects of colder temperature on metabolism.

Coadaptation is a central component of thermal biology (Angilletta 2009) and integrative approaches combining behaviour, thermoregulation, and metabolic rate may help solve some paradoxes. For instance, the cost-benefit model of thermoregulation predicts thermal conformity in habitat with low thermal quality (Huey & Slatkin 1976), but empirical data provide only ambiguous support (Herczeg et al. 2003; Blouin-Demers & Nadeau 2005). To assess the benefits of thermoregulation under cold climates, we need to focus on the interaction between physiological and thermal traits. For instance, an upward shift in standard metabolic rate (SMR) in cold climates, as predicted by the MCA hypothesis, should strongly influence thermal performance curves by allowing high physiological performance under low temperature in cold adapted species. Active thermoregulation may be essential to achieve the preferred body temperature range (Herczeg et al. 2003) that will yield major physiological benefits because of specific metabolic adaptations.

One key aspect when addressing the fitness consequences of thermoregulation is the performance trait considered. The conceptual framework has been built largely for small active ectotherms (lizards) with relatively high energy requirements (Huey & Slatkin 1976; Huey & Bennett 1987; Hertz et al. 1988). Not surprisingly, therefore, locomotion and energy gain have attracted considerable interest (Le Galliard et al. 2004). One aspect that is key to fitness, but that has attracted comparatively less attention in the context of thermal adaptation, is gestation. Embryonic life is a thermally sensitive period and cold temperatures slow development and affect reproductive success (Deeming & Fergusson 1991; Qualls & Andrews 1999). Most viviparous squamates display major behavioural shifts during gestation, notably intense basking and modified thermal preferences (Robert et al. 2006; Shine 2006; Webb et al. 2006). Maternal thermoregulation hastens development and such a phenological effect is advantageous under constraining climates (Tinkle and Gibbons 1977; Shine and Bull 1979; Shine 1985).

Viviparity seems an important component of the ecological and radiation of vipers (Lynch 2009). In Europe, the genus *Vipera* typically displays parapatric distribution patterns with sister species ranging from Boreal to Mediterranean climates (Saint Girons 1980a, Nilson & Andren 1997). We studied the common adder (*Vipera berus*), a boreal species with the largest known distribution among terrestrial snakes, and the Asp viper (*Vipera aspis*), a south European species with a restricted range. While we acknowledge the inherent limits of

two species comparison (Garland & Adolph 1994), the species considered are closely phylogenetically related (Ursenbacher 2005). We set out an experimental study to address the following questions:

- (i) Does the boreal specialist display lower thermal needs (T_{set}) for gestation and higher temperature-specific SMR?
- (ii) In the same constraining environment, is the cold specialist a more efficient thermoregulator during gestation?
- (iii) What are the relative contribution of physiology (SMR) and thermoregulation to metabolic performance during gestation?

Materials and methods

Study animals

Vipera berus and *V. aspis* have been intensely studied and their distribution attracted considerable interest (Saint Girons 1975a; Monney 1996; Nilson & Andren 1997). They are closely related viviparous snakes of the western palearctic region (Saint Girons 1980a), but their ranges overlap in western France where the northern extreme of *V. aspis*' range meets the southern distribution of *V. berus* (Saint Girons 1975a). Both species are medium-size (mean SVL ≤ 50 cm), rely on sit-and-wait foraging, and accumulate vast amounts of energy before reproduction (capital breeding) resulting in low reproductive frequency (Madsen & Shine 1993; Bonnet et al. 2002a). During pregnancy, thermal needs are elevated and females actively bask (Bentz 2002; Saint Girons 1978; Ladyman et al. 2003). Food intake during pregnancy is often reduced or absent probably because of a trade-off with thermoregulatory activities (Saint Girons & Naulleau 1981; Lourdais et al. 2002a).

We captured 24 gravid females (12 *V. berus* and 12 *V. aspis*) and 27 non-gravid females (15 *V. berus* and 12 *V. aspis*) between early May and mid June in 2008 and 2010 from several neighboring districts of west-central France (Côtes d'Armor, Loire-Atlantique, Maine et Loire). Body mass (± 1 g) and snout vent length (± 5 mm) were recorded, and scale clipping was used to identify individuals.

Surgical procedure

We surgically implanted miniature temperature dataloggers (Thermochron iButtons, Maxim, Dallas TX) in snakes. Loggers were programmed to record temperature every 15 minutes, coated with Plasti-Dip (PDI Inc., Circle Pines MN), and then disinfected in a solution of

benzalkonium chloride for 12 h prior to implantation. Each snake was anesthetized using isoflurane and the skin was locally disinfected using betadine. An approximately 1.5 cm ventro-lateral incision was made through the skin and body wall, and the logger was then placed intracoelomically between the gall bladder and the first embryo. The incision was closed with everting mattress sutures (3-0 Vicryl, Ethicon, Somerville, NJ). Recovery from anesthesia was rapid (< 30 minutes) with no mortality. A single 10 mg/kg intramuscular injection of enrofloxacin (Baytril 22.7%, Bayer) was administered post-surgically to prevent infection.

Thermal preferences in captivity

We measured preferred body temperature (T_{set}) in a laboratory thermal gradient devoid of thermoregulatory costs (Hertz et al. 1993; Huey & Slatkin 1976). The gradient was a 3 m² concrete box. A heat source at one end and cooled air at the other produced a smooth temperature gradient ranging from 22 to 45°C. Light and temperature cycles (8:16) reproduced natural photo and thermo periods. We recorded body temperature in 12 gravid females: 6 *V. berus* (SVL = 46.3 ± 3.2 cm; BM = 101.0 ± 30.0 g) and 6 *V. aspis* (SVL = 46.8 ± 2.3 cm; BM = 93.4 ± 5.3 g) in mid July 2008. After two days of acclimation in the thermal gradient, we recorded body temperature (T_b) selected in the gradient every 15 minutes for 72 hours. For each species, we calculated T_{set} by averaging hourly T_b values during the basking period.

Standard metabolic rate

We used closed system respirometry to measure standard metabolic rate (SMR) on 15 (9 males, 6 females) *V. berus* (SVL = 45.1 ± 4.6 cm; BM = 62.1 ± 23.3 g) and 13 (7 males, 6 females) *V. aspis* (SVL = 47.8 ± 4.7 cm; BM = 74.7 ± 23.3 g). Measurements were performed on post-reproductive snakes just before wintering to avoid metabolic contribution from follicular development in females. We measured rates of oxygen consumption (analyzed in ml h⁻¹ with body mass as a cofactor, but presented in ml h⁻¹ g⁻¹ in figures and tables) at T_b of 10, 20, and 30 °C. We randomized the order of trials, and ensured at least 10 h of rest between each trial. Trials were conducted in opaque test chambers (internal volume 3,230 ml) covered with an air-tight glass lid. The individual was placed into the test chamber and maintained in a temperature-controlled environmental chamber (±1°C) 3 h prior to testing. Outside air was drawn into each chamber using a Bioblock Scientific 55 l air pump for 5 min assuring 99 + %

air turn over (Lasiewski et al.1966). Baseline samples of outside air were collected at the onset of each trial. Snakes could be observed during the trial through a small viewing port. Snakes showed limited exploratory movements, rapidly coiled, and stayed inactive during the entire trial. Trial duration was determined in a pilot study for each test temperature (2-10 hours) to ensure sufficient O₂ suppression (0.5 - 1%). At the end of each trial, an end air sample was collected using two 150-ml syringes connected to the chamber via a three-way stopcock. O₂ concentration was then determined using an oxygen analyzer (FC10A, Sable Systems, Las Vegas, USA). Each air sample was striped through drierite to absorb moisture and sent at a controlled rate to the analyzer using an infusion pump (KDS 210, KD Scientific Inc, Holliston, USA). Oxygen suppression was derived by subtracting final from baseline values. Analyzers were calibrated each day using outside air.

Thermoregulation under semi-natural condition

To examine the influence of weather conditions on thermoregulation, we used an outdoor enclosure (10 x 10 m) at the “Terrarium of Kerdanet” snake facility, Côtes d’Armor (48° 30’ N, 03° 01’ W) which is located in the geographic range of *V. berus* and close (< 200 km) to the area of sympatry with *V. aspis*. Vegetation in the enclosure provided a mosaic of basking places, shade, and shelters. No food was provided during gestation.

Body temperature (T_b) was measured in 6 gravid *V. berus* (SVL = 48.7 ± 3.2 cm; BM = 106.7 ± 18.0 g) and 6 gravid *V. aspis* of similar mass and sizes (SVL = 46.6 ± 4.7 cm; BM = 110.7 ± 21.5 g) every 15 min for 38 days between 7 July and 13 August 2008. Simultaneously, we measured operative environmental temperatures (T_e) in the various microhabitats available to the snakes (Bakken 1992) with 9 physical models (copper tubes filled with water) reproducing the thermal characteristics of the study species. We ensured the realism of our models by calibrating them against two fresh snake carcasses. We placed the models in each of 3 microhabitats: on the ground under shrubs ($N = 3$), on the ground in the open ($N = 3$), and in an underground retreat ($N = 3$).

Days were classified as hot, medium, or cold based on the amount of time with maximal T_e ($T_{e\ max}$) above the lower bound of T_{set} ($T_{set\ low}$) for each species. Snakes never experienced T_b above T_{set} (see results). Days were cold when $T_{e\ max}$ was above $T_{set\ low}$ for less than 4 hours, medium when $T_{e\ max}$ was above $T_{set\ low}$ between 4 and 8 hours, and hot when $T_{e\ max}$ was above $T_{set\ low}$ during more than 8 hours. We used indices developed to measure both the accuracy and the effectiveness of thermoregulation in reptiles (Hertz et al. 1993; Christian

& Weavers 1996; Blouin-Demers & Weatherhead 2001b). Because active thermoregulation is essentially diurnal under temperate climates, indices were calculated for daytime only (8:00 - 21:00) and for each type of day. We calculated the accuracy of T_b as the mean of the deviations of T_b from T_{set} (individual deviation, d_b). We measured the extent of thermoregulation as the time spent with T_b above $T_{set\ low}$ during daytime. We measured thermal exploitation (Ex) using a modification of the index proposed by Christian & Weavers (1996): the proportion of time spent above $T_{set\ low}$ during daytime expressed as a percentage of the time available to do so ($T_{e\ max} > T_{set\ low}$). We measured the thermal quality of each habitat by the daily duration when T_e was above $T_{set\ low}$ and within T_{set} of each species in each habitat.

Performance gain estimate

We used equations predicting thermal reaction norms for metabolic rate to estimate daytime SMR (8:00 - 21:00) for each species and each day of the monitoring period. We also wanted to quantify the relative contribution of thermoregulation to metabolic performance. Therefore, we calculated the daily metabolic gain in the more efficient thermoregulator from the difference in estimated metabolic rate derived when considering its own thermal profile and the one of the other species.

Statistical analyses

All data were tested for normality (Kolmogorov–Smirnov test) and homogeneity of variance (Bartlett test), and transformed when necessary to achieve the conditions for using parametric tests. All statistical comparisons were performed in R software (R Development Core Team, 2007). For thermoregulation, we used mixed models (nlme package) with individuals as random effect (log-likelihood maximization). We used 5 models to test for the effects of species and type of day with thermoregulation indices as dependent variables (Y) from constant model ($Y \sim 1$) to complete model ($Y \sim \text{Species} + \text{Type Day} + \text{Interaction}$). We used stepwise model selection based on corrected Akaike information criterion (AICc) to select the most appropriate model (Burnham & Anderson 2002). Then, we used the best model to estimate parameters. Means are provided \pm 1SD. We accepted significance at an alpha level of 0.05.

Results

Thermal preferences

To determine T_{set} , we used the mean T_b during periods of thermoregulation (12:00-17:00). The two species selected similar T_{set} with $33.47 \pm 1.69^\circ\text{C}$ (lower $T_{set} = 32.64^\circ\text{C}$; higher $T_{set} = 34.64^\circ\text{C}$) and $33.21 \pm 2.12^\circ\text{C}$ (lower $T_{set} = 32.69^\circ\text{C}$; higher $T_{set} = 34.66^\circ\text{C}$), respectively for *V. berus* and *V. aspis* ($F_{1,9} = 0.137$, $p = 0.72$, linear mixed effects model, Figure 1).

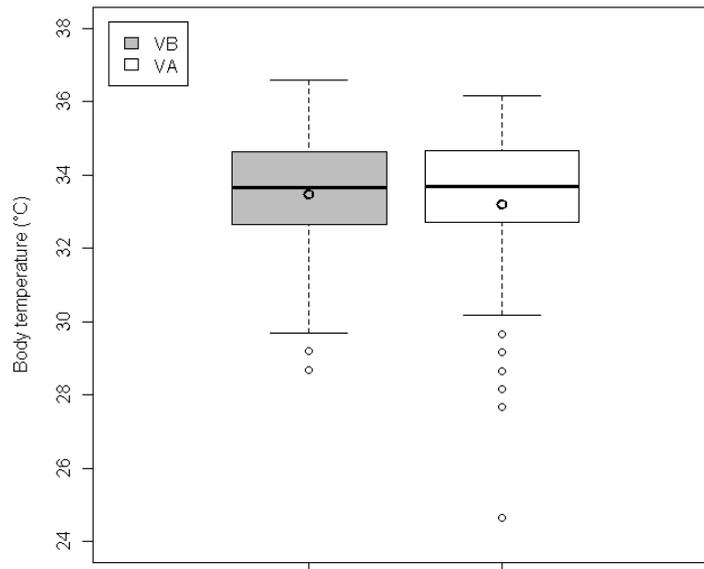


Figure 1. Thermal preferences in gravid *V. berus* (VB) and *V. aspis* (VA) in a laboratory thermal gradient. The median is represented by the middle horizontal line in the box-plot and the mean by the black circle. Interval between 25 and 75 % quartiles is represented by boxes and range is represented by whiskers.

Thermal sensitivity of metabolism

Oxygen consumption was positively influenced by temperature (linear mixed-effects model; $F_{2,53} = 181.9$; $P < 0.0001$; Figure 2). *V. berus* had higher SMR at all test temperatures (linear mixed effects model; $F_{1,28} = 10.5$; $P = 0.003$). No interaction between species and temperature was found (linear mixed effects model; $F_{2,53} = 2.3$; $P = 0.112$). For the two species, the best fit was a quadratic regression (O_2 consumption = $0.0074295311 - 0.0017367916 T_b + 0.0001928191 T_b^2$ in *V. berus*, adjusted $R^2 = 0.857$ and O_2 consumption = $0.0279704808 - 0.0044526910 T_b + 0.0002121893 T_b^2$ in *V. aspis*, adjusted $R^2 = 0.830$).

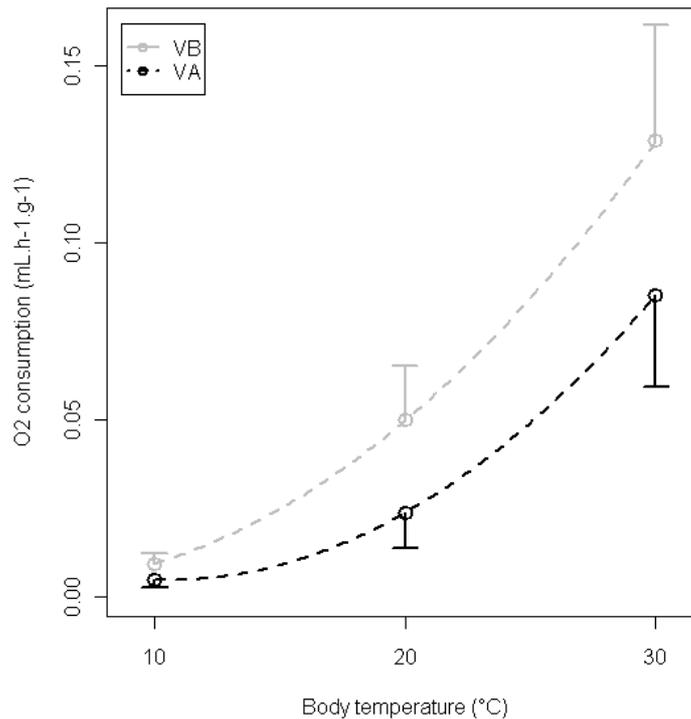


Figure 2. Metabolic reaction norms in *V. berus* (VB; 9 males, 6 females) and *V. aspis* (VA; 7 males, 6 females). Individuals were non reproductive and pos-absorptive and were previously acclimated to standard laboratory condition. The mean is represented + or – 1 standard deviation. Dashed lines are quadratic regressions.

Thermoregulation in semi-natural conditions

On average, *V. berus* exhibited higher T_b than *V. aspis* (25.35 ± 6.47 °C (range 14.25-35.17) vs. 26.41 ± 6.60 °C (13.06-35.32); linear mixed effects model, $F_{1, 2023} = 825.64$, $P < 0.0001$; averages for the daytime; Table 1). Since the two species had similar T_{set} , our day classification was the same for the two species: 9 days were cold, 12 were medium, and 13 were hot. The model with species and day category was the best to explain mean T_b variation during the day (Table 2). *V. berus* maintained higher T_b than *V. aspis* for all day categories, but this difference was particularly marked during cold days (24.13 ± 2.00 °C vs. 22.81 ± 2.53 °C; Figure 3, Table 1). When thermoregulation was possible, *V. berus* showed higher Ex than *V. aspis* (41.15 ± 28.41 % vs. 21.28 ± 25.12 %, 66.40 ± 19.54 % vs. 46.60 ± 23.61 % and 70.35 ± 10.54 % vs. 56.73 ± 15.52 % for cold, medium and hot days respectively). The best model for time spent above $T_{set\ low}$ included species and type of day (Table 2). Time spent above $T_{set\ low}$ was strongly linked to thermal conditions for both species (Table 1) and *V. berus* was always able to maintain T_{set} for longer. Thermoregulation accuracy was highly dependent on daily thermal conditions and species, and there was a significant interaction between day

and species (Table 2). *V. berus* showed more precise thermoregulation than *V. aspis* (lower d_b) under constraining conditions (8.83 ± 1.96 °C vs. 10.09 ± 2.50 °C for cold days and 6.04 ± 1.45 °C vs. 7.07 ± 1.87 °C for medium days). The difference was more reduced during hot days (3.96 ± 1.16 °C vs. 4.64 ± 1.65 °C respectively).

Table 1. Influence of weather on thermoregulation in gravid *V. berus* and *V. aspis* maintained in an outdoor enclosure. Body temperatures were recorded simultaneously at the same time interval (15 minutes). Analyses were performed for the basking period (08:00 - 21:00).

	Weather			F	p
	Cold	Medium	Hot		
Mean T_b °C					
<i>V. berus</i>	24.13	27.16	29.42	188.78	<0.0001
<i>V. aspis</i>	22.81	26.02	28.61	136.31	<0.0001
Ex (%)					
<i>V. berus</i>	41.15	66.40	70.35	38.81	<0.0001
<i>V. aspis</i>	21.28	46.60	56.73	47.16	<0.0001
Time within T_{set} (h)					
<i>V. berus</i>	1.14	3.95	6.46	302.48	<0.0001
<i>V. aspis</i>	0.58	2.80	5.23	180.50	<0.0001
d_b					
<i>V. berus</i>	8.83	6.04	3.96	168.45	<0.0001
<i>V. aspis</i>	10.09	7.07	4.64	127.6	<0.0001

Parturition date

V. berus gave birth earlier than *V. aspis* considering ($F_{1, 18} = 7.92$, $p = 0.011$). Ordinal parturition date was 241.66 ± 5.00 vs. 249.20 ± 6.72 for *V. berus* and *V. aspis*, respectively.

Table 2. Model selection used to describe thermoregulation of *V. berus* and *V. aspis* using corrected Akaike information criterion (AICc). K = number of parameters in the function, w_i = Akaike weight. Models in boldface were selected for analyses. Only the most reliable models are presented.

	K	AICc	Δ_{AICc}	w_i AICc
<i>Mean T_b</i>				
Y ~ Species + TypeDay	6	1644.935	0.00	0.788
Y ~ Species + TypeDay + Interaction	8	1647.593	2.71	0.203
Y ~ TypeDay	5	1653.919	8.96	0.009
<i>Ex</i>				
Y ~ Species + TypeDay	6	-126.617	0.00	0.717
Y ~ Species + TypeDay + Interaction	8	-124.891	1.86	0.283
Y ~ TypeDay	5	-110.211	16.36	0.0002
<i>Te within Tset (h)</i>				
Y ~ Species + TypeDay + Interaction	8	1396.241	0.00	0.565
Y ~ Species + TypeDay	6	1396.762	0.52	0.435
Y ~ TypeDay	5	1413.072	16.83	0.0001
<i>d_b</i>				
Y ~ Species + TypeDay	6	1622.663	0.00	0.742
Y ~ Species + TypeDay + Interaction	8	1624.895	2.23	0.243
Y ~ TypeDay	5	1630.480	7.82	0.015

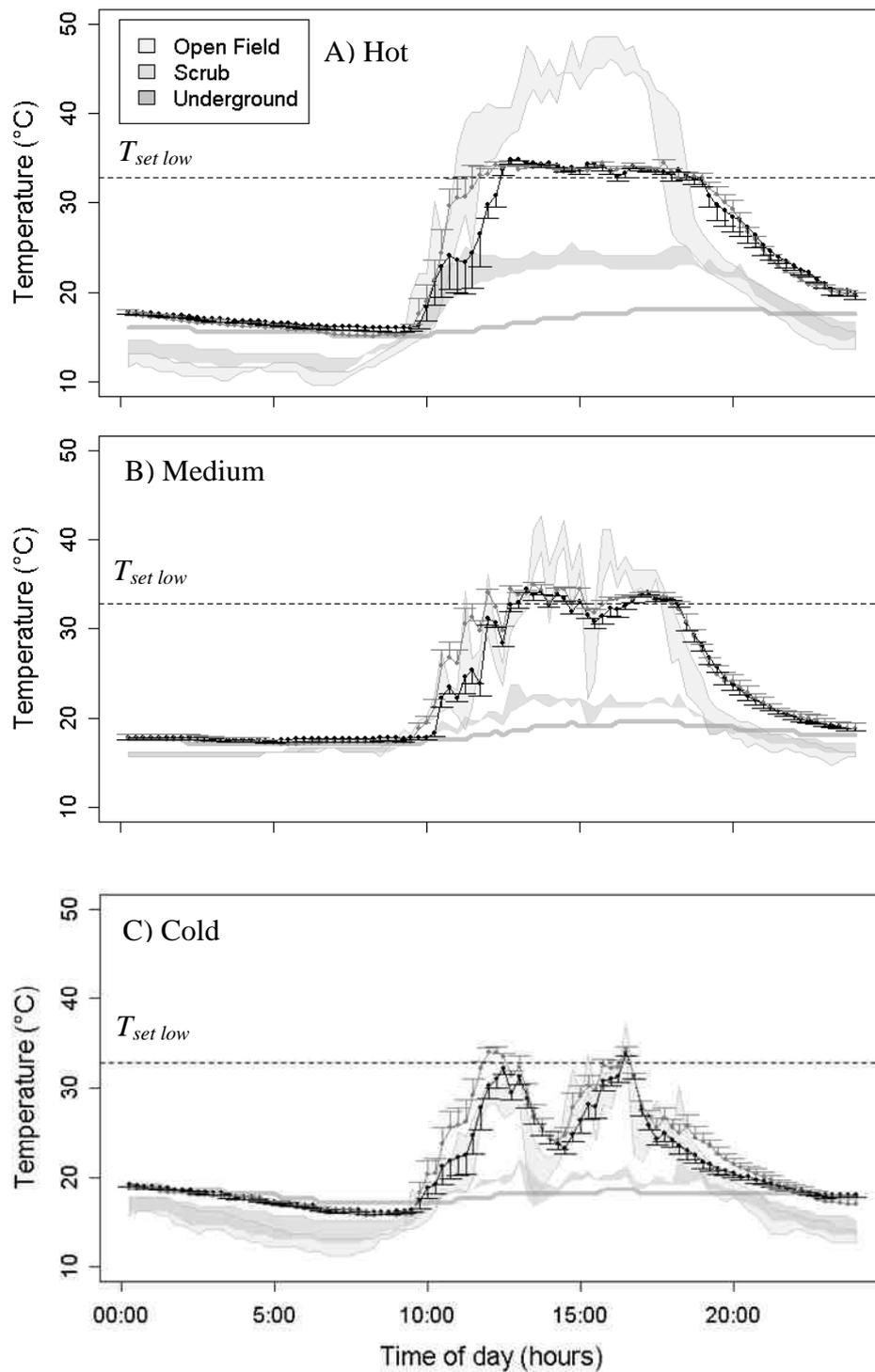


Figure 3. Thermoregulation in *V. berus* (grey symbols) and *V. aspis* (black symbols) during 3 contrasted days (A. hot, B. medium and C. cold). Points represent mean body temperature (T_b) and lines represent standard errors. Shaded lines represent the lower bound of the range of preferred body temperature selected in laboratory thermal gradient ($T_{set\ low}$). Shaded polygons represent the range of environmental temperatures (T_e) in 3 habitat types.

Daily metabolic rate

V. berus exhibited higher daily SMR than *V. aspis* (0.114 vs.0.068 ml/h/g ; linear mixed effects model, $F_{1, 10} = 578.193$; $P < 0.0001$) for all day categories (Figure 4). The model with species and day category was the best to explain daily SMR variation. Daily SMR in *V. berus* was significantly accrued by higher thermoregulatory efficiency on cold and medium days (Figure 5). In turn, during hot days, metabolic differences were mainly linked to proximate physiological difference in SMR since thermal profiles were very similar (Figure 4). Therefore, the relative contribution of thermoregulation to SMR differences was negatively linked to mean daily temperature ($F_{1, 32} = 20.55$, $p < 0.001$, R^2 adjusted = 0.37; Figure 5).

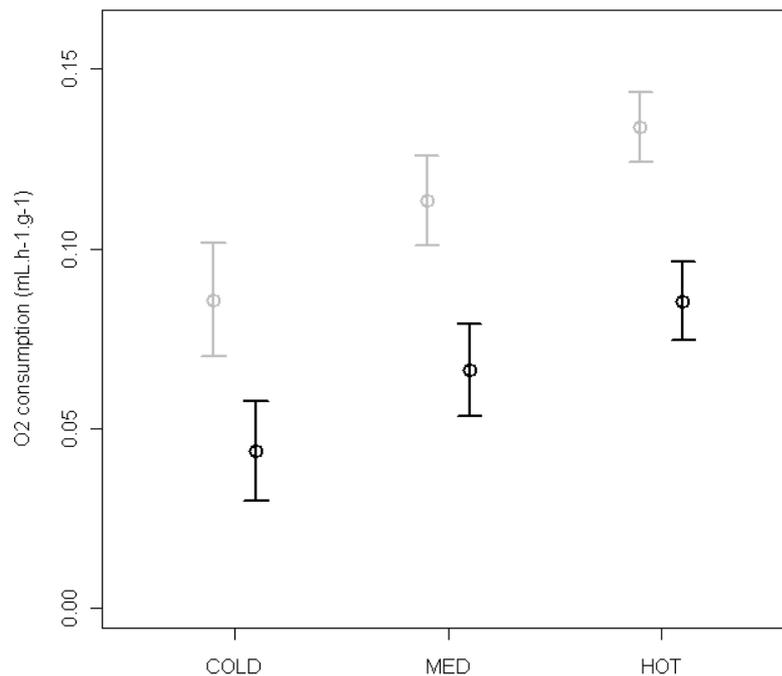


Figure 4. Estimate of metabolic contrast (ml/h/g) between the *V. berus* (grey symbols) and *V. aspis* (black symbols) for the three day classes. Values were derived from metabolic reaction norm and thermal profiles and calculation restricted to the basking period (8:00 - 21:00). Circles represent mean values and errors bars standard deviation.

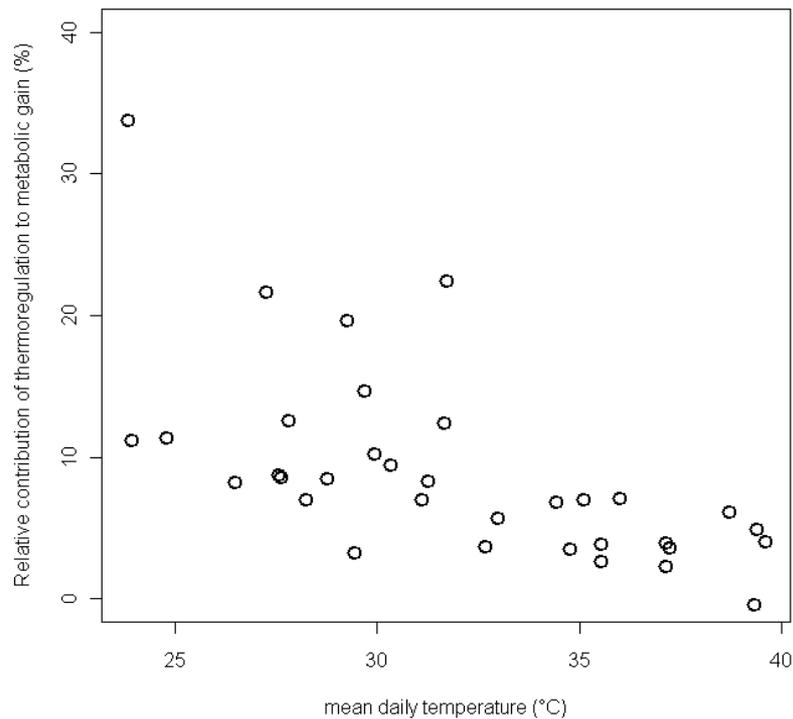


Figure 5. Relative contribution of thermoregulation to metabolic gain of *V. berus* and its thermal dependence during the 38 days of monitoring.

Discussion

The goal of this study was to assess physiological and thermoregulatory traits in a boreal specialist when compared to its south European relative. We developed an integrated approach considering gestation which is a major process since maternal thermoregulation can directly affect reproductive success, notably through phenological effects (date of birth). We also considered metabolic rate since it is a major determinant of physiological rate and is a crucial component of climatic adaptation (Angilletta 2001).

Lower thermal preferences should be advantageous under constraining (cold) climatic conditions (Huey & Bennet 1987; Hare et al. 2006). Indeed, poor weather may dramatically reduce the opportunity to reach and maintain T_{set} and lower thermal requirements may thus compensate thermal constraints. We found that pregnant females selected relatively high temperatures in a cost-free environment and T_{set} that were identical in the two species. Thermal preferences obtained in the gradient were consistent with body temperature recorded in the external enclosure. For instance, during hot Days, we found that pregnant females maintained (Table 2) stable T_b very close to the thermal preference over most of the basking period. Our results support the existence of a very precise temperature set point for pregnancy, that appears conserved in two sister species.

Our results on thermoregulation in semi-natural conditions provided significant insight about.... The two species were facing the same conditions and body temperatures were collected simultaneously thereby allowing a robust comparison of thermal profiles. We found that *V. berus* consistently maintained higher body temperatures and minimized deviation from T_{set} when compared to *V. aspis*. *V. berus* was able to maintain T_{set} for longer each day and was a more efficient thermoregulator. This difference was most marked when weather conditions were unfavourable and access to T_{set} restricted. Conversely, thermal profiles were very similar during hot (i.e. non thermally limiting) days. Examining daily thermal profiles suggests that *V. berus* reaches T_{set} earlier during the day than *V. aspis*. Overall, these results clearly support the prediction of higher thermal efficiency in the boreal specialist as *V. berus* is better capable of exploiting constraining weather. Previous work has emphasized the influence of thermal conditions on reproduction in squamates (Shine & Harlow 1993; Lourdais et al. 2004) and high temperatures significantly hasten development. Recent studies suggest that the duration of exposure to T_{set} may be a crucial parameter (independently of mean temperature) hastening reproductive phenology and improving offspring quality (Shine 2004; Lorigou et al. in press). Thermoregulatory efficiency may be crucial to the ecological success of *V. berus* and its ability to buffer thermal constraints and optimize development (Lourdais et al. 2004; Hare et al. 2009). Higher thermoregulatory efficiency may involve several proximate mechanisms either behavioural and/or physiological (Stevenson 1985; Labra et al. 2001). Pronounced thermophilic behavior has been previously reported in *V. berus* with conspicuous exposure most notably during cool weather (Saint Girons 1975b; Bentz 2002). In addition, *V. berus* is unique in the genus for its ability to dramatically flatten the body and increase the surface area receiving solar radiation (Saint Girons 1978; Monney 1996). This behaviour is likely to increase heat gain and reduce deviation from thermal preference. Physiological thermoregulation mechanisms (changes in heat transfer) have been reported in viviparous squamates (Labra & Bozinovic 2002), but have not been investigated in *V. berus*. Finally, it is worth noting that melanism is frequent in *V. berus*, notably in northern populations (Forsman 1987, 1995). Thermal melanism under severe conditions is likely to increase thermoregulatory efficiency further than what we reported here in normally coloured (cryptic) individuals (Clusella Trullas et al. 2007).

The metabolic cold adaptation hypothesis (Clarke 1993) posits that higher standard metabolic rate is beneficial under cold climate by allowing completion of physiological processes despite thermal constraints and short activity periods (Addo-Bediako et al. 2002). Our result on SMR supports this hypothesis with markedly higher standard metabolic rate in *V. berus* for all temperatures considered. These findings are consistent with previous studies carried in neonates (Saint Girons et al. 1985) and help explain the unusual physiological performance at low

temperatures in this species. For instance, a comparative study in 5 European vipers showed that digestion is fastest in *V. berus* with the ability to completely digest prey at low temperatures (10°C, see Naulleau 1983a). Similarly, experimental study on gestation demonstrated earlier parturition date in this species (Naulleau 1986). In natural situations where the two species are syntopic, parturition always occurs sooner in *V. berus* than in *V. aspis* (Naulleau 1981; Saint Girons 1975a; Monney 1996). Also partial or complete reproductive failure is less frequent in *V. berus* compared to *V. aspis* that are near or at the northern limit (Lourdais et al. 2004; Guiller et al. 2012). In support with these findings, we found that parturition date was earlier in *V. berus*. Such phenological advantages are likely relevant under cold climate since activity period is limited before winter and may affect offspring survival as well as female ability to recoup energy (Bonnet et al. 2001).

Using metabolic reaction norms, we estimated metabolic rate at T_b selected under semi-natural conditions. While metabolic measurements were carried in non-gravid females and males, the same probably applies to gravid females since a previous study in vipers reported a prevalent effect of body temperature, but no effect of reproductive status on metabolic rate (Ladyman et al. 2003). This approach revealed an important metabolic contrast between the two species. Indeed, *V. berus* always maintained higher daily metabolic rate mainly because of the difference in metabolic thermal reaction norms. Furthermore, metabolic performances were accrued chiefly by higher thermoregulatory efficiency when thermal condition were constraining (cold and medium days). Higher metabolic rate is likely beneficial by ensuring faster physiological processes and hastening development (Angilletta 2001). It may also influence behavioural decision by allowing refuge emergence and the onset basking behaviour while thermal conditions are still constraining. Such optimization of thermoregulation may be a critical component of reproductive performance under constraining weather (Lourdais et al. 2004; Shine 2006).

Overall our results suggest consistent covariation patterns between the traits considered. According to optimality models, investment in thermoregulation should be favoured when benefits are high. Under cold climates, thermal constraints make precise thermoregulation costly (Huey & Slatkin 1976) since ecological costs of exposure are high (predation risks) while benefits reduced (minor improvement of physiological processes) (Huey & Slatkin 1976). The benefits of thermoregulation are likely dependent on metabolic reaction norms (Hazel & Prosser 1974; Clarke 1980). Therefore, higher SMR may compensate thermal constraints and modify the cost-benefit balance of thermoregulation. Live-bearing appears as a major determinant of the ecological radiation in viperid snakes (Lynch 2009). Specific behavioural and metabolic adaptations in relation to reproductive performance may explain the parapatric distribution pattern displayed in the genus *Vipera* (Nilson & Andren 1997). Coadaptation patterns between metabolic rate and thermoregulation efficiency are important to unravel climatic adaptations and in better defining the

costs and benefits of thermoregulation. Further work is now required to address the generality of our findings and improve our knowledge of climatic adaptations in ectotherms.

Acknowledgments

We are very grateful to P. Quistinic and F. Quistinic for their assistance in the field. We thank Pierre Quistinic for the access to the snake facility. This research was made possible by the financial support of the ANR (ECTOCLIM project), the Programme opérationnel plurirégional Loire FEDER (# PRESAGE 30810), the Établissement Public Loire, and the Parc Naturel Régional de Millevaches en Limousin.

Chapitre I.2 Phénologie de la reproduction de *Vipera berus* et *Vipera aspis* en situation de syntopie

I.1 Contexte

Parmi les adaptations climatiques, la capacité des espèces à se reproduire est particulièrement importante à adresser. En effet, la période de développement embryonnaire est particulièrement sensible aux conditions thermiques et des conditions froides ralentissent la dynamique de développement pour affecter à terme le succès de reproduction (Deeming & Fergusson 1991 ; Qualls & Andrew 1999). Par exemple, les variations météorologiques interannuelles impactent largement la phénologie de la reproduction (Lourdais et al. 2004).

La phénologie de la reproduction peut être considérée comme une performance qui intègre à la fois les performances de thermorégulation de l'espèce et des processus physiologiques associés à la gestation (vitellogenèse et embryogénèse). Des études précédentes ont mis en évidence des mises bas plus précoces chez *V. berus* par rapport à *V. aspis* (Naulleau, 1986, Monney 1996) mais les travaux se sont basés sur des valeurs moyennes et non des suivis longitudinaux. Nous avons voulu caractériser la sensibilité thermique de la reproduction de *V. berus* de façon comparative avec *V. aspis*. L'objectif de cette étude a été de comparer les dates de mises bas des deux espèces en se basant sur un suivi de populations syntopiques dans l'Ouest de la France (47° 29' N; 1° 45' W) où *V. berus* et *V. aspis* coexistent et atteignent leurs limites respectives de répartition (Guiller et al. 2012).

I.2 Méthode

Les données utilisées pour cette étude proviennent de femelles adultes et gravides originaires du Nord-Ouest du département de la Loire-Atlantique. Ces animaux ont été étudiés sur les communes de Bouvron (Guiller & Legentilhomme 2006, Guiller 2009). La méthode de terrain elle consiste à trouver les femelles en insolation directe. Les femelles gestantes retrouvées au cours des prospections du mois d'août sont prélevées et transférées dans des bacs individuels (dimensions : 40 x 20 x 15 cm) chauffés artificiellement par une résistance électrique de 50 watts. Les femelles bénéficient ainsi pendant une durée de 10 heures par jour (de 9H00 à 19H00) de l'accès à une température corporelle d'environ 30°C, favorable à la gestation (Naulleau 1997). Cette période de captivité est destinée à connaître la date de mise-bas ainsi

que le contenu des portées de chaque femelle. Les dates de mises bas ont été collectées entre 1999 et 2008. Les données utilisées pour cette étude proviennent de femelles adultes et gravides totalisant pour *V. berus*, 89 femelles gestantes (sur 10 années) et 44 femelles gestantes de *V. aspis* (sur 7 années). Pour chaque portée, nous avons noté la date de mise-bas ainsi que sa composition (nombre de jeunes viables, morts nés). Nous présentons ici uniquement les données sur la phénologie

I.3 Résultats

Nous résultats montre qu'il existe une forme variabilité interannuelle des dates de mises bas moyenne chez la vipère aspic comme pour la vipère péliade (Figure 1.). Toutefois malgré ces variations, la vipère péliade est capable dans les mêmes conditions météorologiques de se reproduire plus tôt que l'espèce congénérique (modèle linéaire mixte, $F_{1, 6} = 45.14$; $P = 0.0005$). En moyenne, l'espèce mets bas 15.09 ± 2.14 jours plus tôt (Test Post Hoc de Tukey, $z = -7.038$, $p < 0.0001$). La sélection de modèle sur AIC nous montre que parmi les variables météorologiques estivales testées, la température moyenne est la variable la plus explicative (modèle linéaire mixte, $F_{1, 8} = 57.59$; $P = 0.0001$). Ainsi nous avons trouvé une forte corrélation entre les dates de mises bas moyennes et la température moyenne estivale (Figure 2.) pour la Vipère péliade (R^2 ajusté = - 0.88, $F_{1, 8} = 64.47$; $p < 0.0001$) et pour la vipère aspic (R^2 ajusté = - 0.72 ; $F_{1, 5} = 16.68$; $p = 0.0095$). .

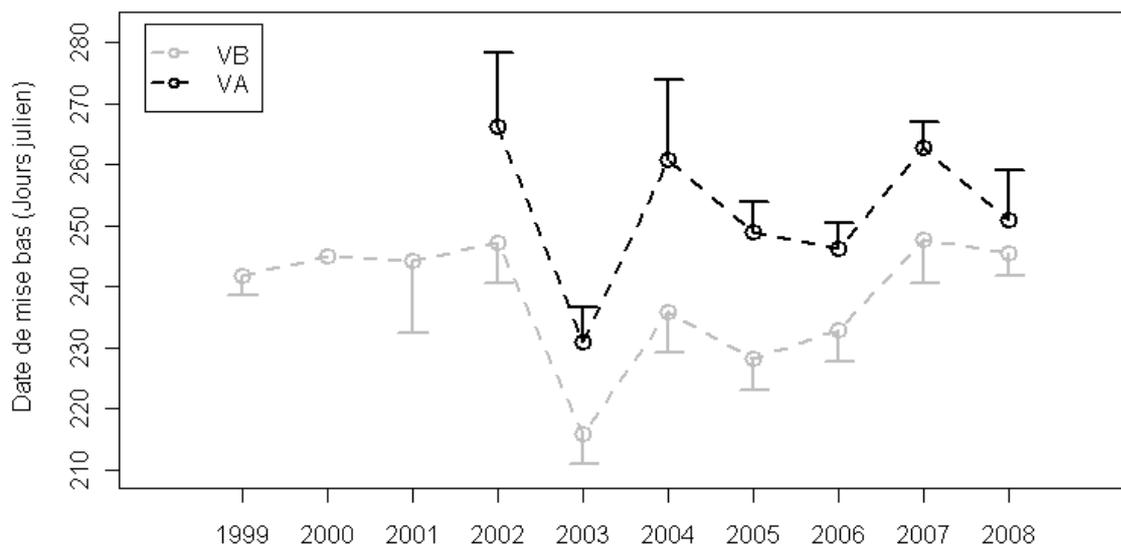


Figure 1. : Variations interannuelles des dates de mises bas chez la vipère péliade (VB) et la vipère aspic (VA) . Les cercles représentent les moyennes associés à leur écart type.

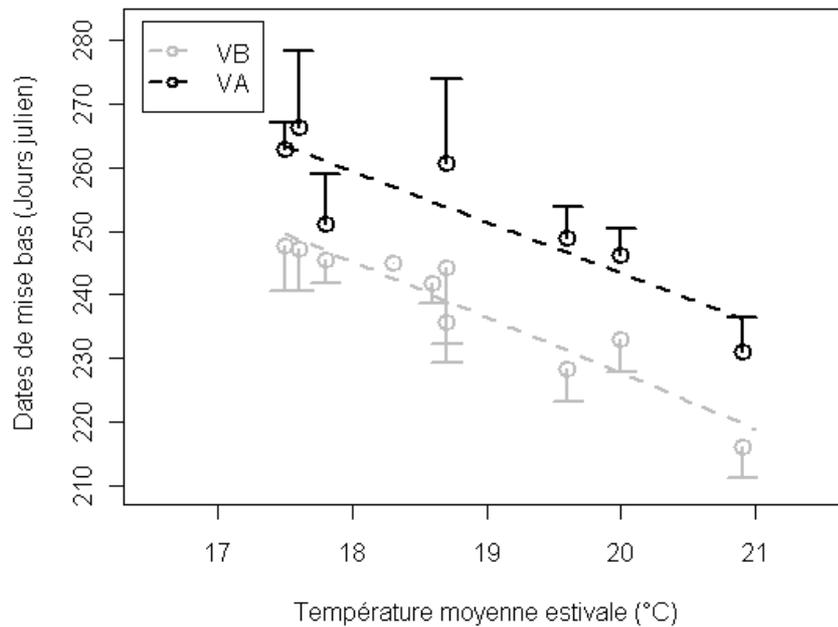


Figure 2. : Relation entre les dates de mises bas moyennes et la température moyenne estivale chez la vipère péliade (VB) et la vipère aspic (VA). Les cercles représentent les moyennes associés à leur écart type. Les lignes en pointillés représentent les équations linéaires modélisant les corrélations.

I.4 Discussion

Les variations observées sont consistantes avec les affinités climatiques des espèces considérées. Ainsi, l'espèce boréale met bas plus tôt (en moyenne 15 jours) que l'espèce médio-européenne (*V. aspis*). La durée de gestation est cependant variable d'une année à l'autre et extrêmement dépendante des conditions météorologiques estivales. Par exemple, l'année 2003 caractérisée par une canicule estivale et associée à l'observation des mises bas les plus précoces sur l'ensemble du suivi et ce chez les deux espèces. Malgré ces variations, les normes de réactions sont parallèles entre espèces ce qui suggère une sensibilité commune du développement avec le maintien d'un écart constant selon la gamme de température considérée.

Cette forte dépendance aux conditions climatiques et aux fortes variations interannuelles a déjà été mise en évidence chez *V. aspis*. (Lourdais et al. 2004). Cette étude a mis en évidence des contraintes qualitative avec la production plus fréquente d'œufs non-développés et de nouveau-nés non viables au Nord de l'aire de répartition (Lourdais et al. 2004). Les bénéfices associés à la viviparité ont été largement discutés avec notamment l'hypothèse du « climat froid » (Tinkle & Gibbons 1977 ; Shine and Bull 1979 ; Shine 1985 ; Lynch 2009) selon laquelle un développement plus rapide et des dates de naissances précoces

sont avantageuse. Ces contraintes sont d'autant plus fortes dans les milieux contraignants avec des temps d'activité réduits. L'hypothèse de la « manipulation maternelle » (Shine 1995 ; 2006) souligne quand à elle l'importance de la qualité du développement. Nos données sur la phénologie de la reproduction et sur la thermorégulation suggèrent clairement des performances reproductrices supérieures chez *V. berus* face aux contraintes climatiques. Ces éléments sont probablement des déterminants du succès écologiques de l'espèce permettant une optimisation de la reproduction à la fois en terme qualitatif (phénotype des jeunes) et quantitatifs (phénologie).

Chapitre I.3 Sensibilité hydrique chez *V. berus*

Manuscrit en preparation (A2)

Running head: hydric sensitivity in viper

Microclimate variation of two viperid snakes at their contact zone correlates with contrasting evaporative water loss rates

Michaël Guillon^{1,2}, Gaëtan Guiller¹, Dale F. DeNardo³, and Olivier Lourdais^{1,3}

¹ Centre d'Etudes Biologiques de Chizé, UPR 1934 CNRS, 79360 Villiers-en-Bois, France

² Université de Poitiers, 40 avenue du recteur Pineau, 86022 Poitiers, France

³ School of Life Sciences, Arizona State University, Tempe, AZ 85287-4601, USA

Correspondence:

Michaël GUILLON

Centre d'Etudes Biologiques de Chizé, UPR 1934 CNRS,
79360 Villiers en Bois, FRANCE

Phone: +33 (0) 5 40 09 35 52

Fax: + 33 (0) 5 49 09 65 26

E-mail: guillon@cebc.cnrs.fr

For consideration in : *Journal of Comparative Physiology B*

Tables: 0 ,

Figures: 4

Abstract

Terrestrial ectotherms predominantly use behavioural thermoregulation to optimise relevant physiological processes and performances. However, thermoregulation can induce significant constraints (time, risk exposure) that result in ecological or physiological trade-offs. Evaporative water loss (EWL) is directly dependent on temperature and optimal basking sites often have relatively low humidities. Therefore, water balance should influence thermoregulation. Sensitivity to water loss is likely dependent on external factors (habitat used & environmental constraints) as well as endogenous traits (adaptation). We studied two related viperid species (*Vipera aspis* and *V. berus*) with contrasted climatic affinities (south-European vs. boreal). These parapatric species can occur locally in syntopy where microhabitat partitioning has been reported. We compared total and cutaneous EWL of the two species and monitored the thermal and hydric conditions of the microhabitats used in a sympatric zone. We found that the boreal species exhibits higher EWL, both total and cutaneous. Furthermore, this species selected more humid microhabitats throughout the year. Humidity (in combination with temperature) may be a proximate determinant of partitioning in European vipers at multiple scales.

Key words: Evaporative water loss, thermoregulation, ectotherm, temperature, microhabitat

Introduction

Because of the strong influence of temperature on physiological processes and performances (Angilletta et al., 2002; Hertz et al., 1982; Huey and Kingsolver, 1989; Huey and Stevenson, 1979; Stevenson et al., 1985), animals tend to maintain body temperature within a restricted range. In order to effectively thermoregulate, terrestrial ectotherms, which are dependent on external sources of heat, selectively utilize heterogeneous habitats and micro-habitats (Adolph, 1990; Grover, 1996; Reinert, 1984; Row and Blouin-Demers, 2006). While behavioral thermoregulation is beneficial, it also induces costs (Blouin-Demers and Nadeau, 2005; Huey and Slatkin, 1976) related to increased predation risk (Hertz et al., 1982; Pianka and Pianka, 1970), decreased time available for other activities (Gregory et al., 1999; Huey and Slatkin, 1976), and physiological homeostasis (Angilletta et al., 2002; Blouin-Demers et al., 2003; Stevenson, 1985).

Water balance, another essential component of vertebrate life history (Moen et al., 2005), is often in conflict with thermoregulation. Basking, a key component of thermoregulation for many species, typically increases evaporative water loss (EWL, e.g., ventilatory and cutaneous water losses) either by (i) modifying proximate physiological processes (i.e., EWL rates are highly temperature sensitive) or (ii) exposing the organism to a more constraining (drier) environment. Accordingly, dehydration can result in reduced activity (Davis and DeNardo, 2009) and modified (lowered) thermal preference (Ladyman and Bradshaw, 2003; Kohler et al., 2011).

Water conserving mechanisms are well documented in squamate reptiles (lizards and snakes) living in arid habitats. Such mechanisms include modified skin resistance, reduced metabolism, and altered behaviours (Bradshaw, 1997; Davis et al., 2008; DeNardo et al., 2004; Dmi'el, 1972; Gans et al., 1968; Prange and Schmidt-Nielsen, 1969). However, sensitivity to water loss should also be emphasized in squamates living in habitats where they presumably face less dramatic water constraints. For example, while few squamates inhabit the relatively cool and moist boreal environments (Olalla-Tarraga et al., 2006), those that do typically use particularly humid habitats (wetlands, heathlands, peat-bog) and water balance can strongly influence their life history traits (Lorenzon et al., 2001). Furthermore, recent works suggest a clear response of cold climate species to global change, with a contraction of the distribution range at the southern margins (Franco et al., 2006; Lepetz, 2009; Lesica and McCune, 2004). While temperature change is likely a primary factor, shifts in humidity and precipitations (following a drought episode) may also influence distribution through their effects on water balance.

European vipers (genus *Vipera*) are typically parapatric species that are separated by climatic conditions, but they can coexist in narrow contact zones. When syntopy occurs in vipers, it differs from typical syntopy among snakes in that the syntopic species do not exhibit trophic resource partitioning but, instead, show habitat segregation (Luiselli, 2006; Martinez-Freiria et al., 2010), which is presumed to be driven by temperature (Duguay et al., 1979; Martinez-Freiria et al., 2010; Monney, 1996; Saint Girons, 1975b). Vipers are typically active thermoregulators with relatively high thermal needs, most notably for reproduction and digestion (Herczeg et al., 2007a; Herczeg et al., 2007b; Ladyman et al., 2003; Naulleau, 1983a; Naulleau and Marques, 1973; Saint Girons, 1978). Basking, while providing needed heat to meet thermal requirements, likely exposes vipers to significant EWL. Therefore, vipers should integrate humidity into microhabitat selection. Accordingly, previous comparative studies suggest that viperid snakes can differ in EWL according to climatic affinities (Dmi'el, 1998) or habitat use (Moen et al., 2005).

We studied two parapatric vipers, the common adder (*Vipera berus*), a boreal species, and the asp viper (*Vipera aspis*), a south European species, in an area of western France where the two species are syntopic. By comparing EWL (total and cutaneous) and microclimatic selection, we addressed two questions.

- (1) Do the two species differ in microclimate preference with more humid basking sites used by the boreal species (*V. berus*)?
- (2) Does the boreal species have higher cutaneous and total EWL, notably at high temperature during basking episode?

Material and methods

Study species

This study focus on two congeneric snakes - the asp viper, *Vipera aspis* (Linné, 1758) and the common adder, *V. berus* (Linné, 1758). These species have been widely studied and share many similarities in their biology and ecology. Both are small-sized (mean snout-vent length around 55 cm), diurnal snakes (Forsman, 1991; Madsen, 1988; Zuffi et al., 2009). The *V. berus* typically inhabits heathland and peat-bog habitats within an extensive Eurosiberian geographic range (Saint Girons, 1980a). In contrast, *V. aspis* is a southern European species with a more restricted range in France, Spain, Switzerland and Italy (Saint Girons, 1980a). Still, the two species can be observed in very similar habitats (rocky outcrops, farmlands with hedgerow networks, scrubs) (Saint Girons, 1980a). Both species are “sit-and-wait” foragers

with very similar diets (rodents and lizards) (Bea et al., 1992; Saint Girons, 1980b) but *V. berus* can feed upon amphibians. The two species have a parapatric distribution with narrow contact zones with syntopy in France (Duguay and Saint-Girons, 1978; Saint Girons, 1975a), Switzerland (Monney, 1996) and Italy (Lapini, 1983, 1988; Scali et al., 2011).

Population and microclimatic monitoring

The field component of this study was conducted a long-term population monitoring site in west-central France (47° 29' N; 1° 45' W) where the two species coexist (Guiller et al. 2012). The study site is approximately 200 ha and composed of pastures separated by a network of hedge rows. We used a standardized searching method to patrol the hedges during favourable sunny days.

In 2009, we recorded microclimatic conditions of the location where each viper was first detected (n = 125 and 83 locations for *V. berus* and *V. aspis*, respectively). We measured the temperature (Tg) (°C) and relative humidity (RHg) of the air directly above the snake's location (1-2 cm) using a thermo-hygrometer (Votcraft HT-200, ± 0.5°C and ± 2 % relative humidity). We converted relative humidity to absolute humidity using the following equation.

$$\text{Absolute Humidity} = \text{RHg} * 6.11 * 10^{(7.5 * \text{Tg} / (237.7 + \text{Tg}))}$$

Measurements of evaporative water loss

In order to determine EWL, snakes were captured and brought to the lab in 2009 and 2010. Each individual was measured (SVL ± 0.5cm) and weighed (± 1g). Snakes were housed in outdoors enclosures (4 x 4 x 2.5 m) at the research station of Chizé, Deux-Sèvres (46° 07' N, 00° 25' W) which is approximately 200 km from the area of syntopy. Snakes were fed mice weekly. One day before to EWL measurement sessions, snakes were housed in the lab in cages (80 x 30 x 30 cm). After completion of data collection, snakes were released at their original sites of capture.

Total Evaporative Water Loss

We used flow-through respirometry to measure total evaporative water loss (TEWL) on 9 *V. aspis* (3 males, 6 females; SVL = 46.4 ± 3.4 cm; body mass = 76.3 ± 20.3 g) and 9 *V. berus* (3 males, 6 females; SVL = 44.6 ± 5.7 cm; body mass = 62.1 ± 30.6 g). Measurements were

performed on non-reproductive and post-absorptive snakes. TEWL measurements followed that of Lourdais et al. (2007).

Trials were conducted with an influent air at an absolute humidity of $9.35 \pm 0.01 \text{ g.m}^{-3}$ air (1221.5 Pascal) consistent with field observations. We measured TEWL at three trial temperatures - 15.0, 25.0 and 33.0°C (i.e., 71.7%, 38.6% and 24.3% relative humidity, respectively). The test chamber was a glass jar (9.0 x 9.0 cm, 500.0 ml) almost entirely made of glass to minimize hygroscopicity. The test chamber was housed in a walk-in, temperature-controlled environmental chamber (Cryosystem, air conditioned system Carel MasterCella). Air supply to the test chamber was controlled by a mass-flow controller (#UFC-1100, Unit Instruments, Yorba Linda, CA). The average influx was $162.0 \pm 0.5 \text{ ml.min}^{-1}$, which provided 99% air turnover within the test chamber every 15 min (Lasiewski et al., 1966).

To achieve humidity control of the influent air, we first produced dry air by an industrial air purifier (#CO2F-70h, Texol Products Ltd, Dundee, Scotland). Dry was then saturated by bubbling it through two serially connected heated water columns that were insulated with Styrofoam. The bubbling system was held in a temperature-controlled chamber (#400 DG LMS ltd, Sevenoaks, Kent, UK) set at a target dew point ($T_{DP} = 10.0^\circ\text{C}$). Saturated air circulated in an empty column collecting water condensate. The dew point of the air exiting the condensation column was equal to that of the temperature-controlled chamber ($T_{DP} = 10.0^\circ\text{C}$). This hydrated air then flowed to the walk-in environmental chamber where it went through coiled tubing in order to reach trial temperature before entering the test chamber. The dew point of air stream was measured using a dew-point hygrometer (#RH300, Sable Systems, Las Vegas, NV). We used Type-T (copper constantan) thermocouples to monitor the temperatures of the air streams exiting the condensing column (T_{DP}) and entering the test chamber (T_a). Minimally hygroscopic tubing (Bev-A-Line IV, Thermoplastic Processes Inc., Stirling, NJ). was used throughout the system.

For each session, we measured six individuals. Prior to each session, snakes were removed from their housing cages and placed in individual test chambers inside the walk-in chamber. Each cage was connected to an air stream multiplexer to avoid hypoxia and then allow the snakes to come to thermal equilibrium, they were held in the test chambers for two hours prior to beginning a trial. At the onset of a trial, we simply disconnected an individual cage from the multiplexer and connected it to the experimental air stream. This method ensured minimal handling and disturbance. TEWL measurements were collected after stabilization of the dew point. Baseline values for the supply air were obtained at the

beginning and end of each session by flowing the supply air through an empty test chamber. The lack of urine and feces production was confirmed at the end of each trial.

We used hygrometric dew points to calculate vapor pressures using an 8th order polynomial describing saturation vapor pressure as a function of air temperature (Flatau et al., 1992). Vapor pressures were used to calculate vapor densities using the Ideal Gas Law (Campbell and Norman, 1998). Finally, evaporative fluxes ($\text{mg}\cdot\text{h}^{-1}$) were calculated by multiplying vapor densities ($\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) by air flow rates ($\text{ml}\cdot\text{h}^{-1}$). We calculated absolute evaporative fluxes ($\text{mg}\cdot\text{h}^{-1}$) as well as fluxes relative to snake mass ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$).

Cutaneous Evaporative Water Loss

We measured cutaneous evaporative water loss (CEWL) on 7 (3 males, 4 females) *V. aspis* and 12 (3 males, 9 females) *V. berus*. Measurements were carried out at room temperature (25°C), and snakes were acclimated at this temperature for at least 2 hours prior to measurement. We measured cutaneous EWL using an AquaFlux AF200 (Biox, UK), which derives water vapor flux from measurements of a humidity gradient within a closed chamber. The Biox software AquaFlux 6.2 was used to calibrate and compute CEWL rate ($\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$). A standard “measurement cap” (orifice diameter of 7 mm, Biox AF005-01) was maintained in tight contact with the snake’s latero-dorsal skin at mid-body. A calibration of the AquaFlux was performed at the beginning of each trial.

Statistics

We used R (version 2.12.0, R development core team 2010) to perform all statistical comparisons. We examined microclimatic conditions using linear mixed-effects (lme models, nlme package). We used month as a random effect to take into account the variability in time. We used linear mixed-effects to address interspecific difference in TEWL with individuals as a random effect. We selected the best model by performing a stepwise model selection (MASS package) for the smallest Akaike’s Index Criterion (AIC). When two models differed by less than 2 AIC, we chose the more parsimonious. We used a Wilcoxon rank sum test (wilcox.test function, stats package) to compare CEWL between species. Significance was determined at $p < 0.05$ and values are provided as mean \pm standard error.

Results

Microclimatic conditions

The absolute humidity of the site occupied by the free-ranging snakes was significantly different between the two species ($F_{1,200} = 18.674$, $p < 0.001$, Fig. 1.A). *Vipera berus* used more humid micro-conditions (1850.9 ± 44.8 Pa) compared to *V. aspis* (1742.6 ± 55.6 Pa), but there was no difference between the sexes. Microhabitat ground temperature was also different between species ($F_{1,200} = 5.961$, $p < 0.015$, Fig. 1.B). On average, *V. aspis* was observed basking in hotter micro-conditions (25.5 ± 0.5 °C) than *V. berus* (23.6 ± 0.4 °C). By considering the influence of ground temperatures in the model ($F_{1,199} = 88.065$, $p < 0.001$), the observed difference of absolute humidity between species was maintained ($F_{1,199} = 46.576$, $p < 0.001$). We found significant variations between months (Fig. 1).

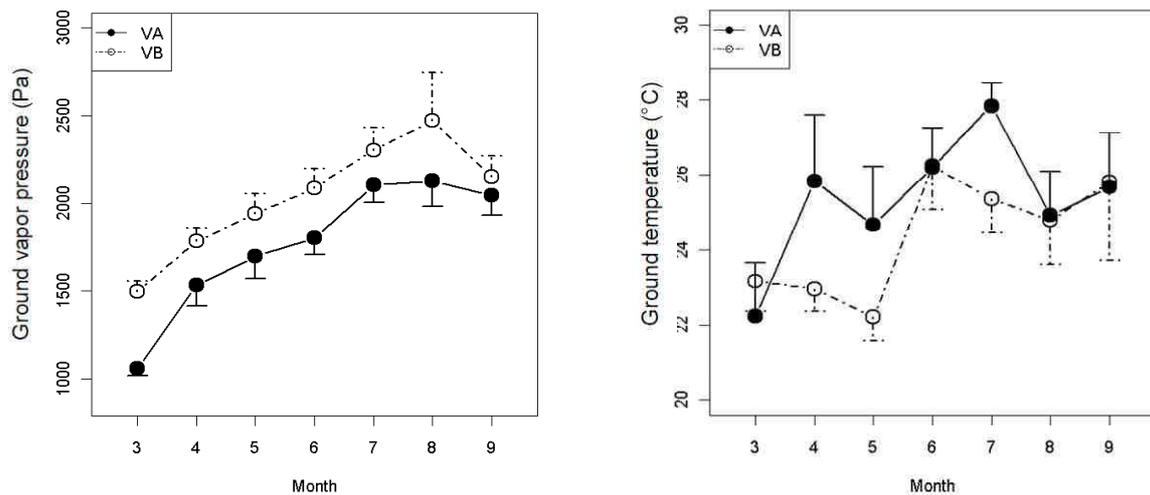


Figure 1. Monthly (A) vapor pressures (absolute humidity) and (B) ground temperatures of basking sites measured (mean \pm SE) from March (3) to September (9) for *Vipera aspis* and *V. berus*.

Total Evaporative Water Loss

We found a positive effect of body temperature ($F_{1,35} = 123.305$, $p < 0.001$), but not body mass on TEWL. The mean Q10 value was 1.11 (from 15.0 to 33.0 °C). TEWL values were significantly higher in *V. berus* ($F_{1,16} = 9.982$, $p < 0.006$, Fig. 3), with a maximum difference between species at $T_a = 25.0$ °C (Fig. 2). At this temperature, mass-adjusted TEWL was, on average, 53.2 % higher in *V. berus* (2.13 ± 0.28 mg.g⁻¹.h⁻¹) when compared to *V. aspis* (1.39 ± 0.14 mg.g⁻¹.h⁻¹).

Cutaneous Evaporative Water Loss

CEWL measured at 25 °C was significantly different between species ($W = 84$, $p < 0.001$), with *V. berus* having 65.9% higher CEWL than *V. aspis* ($7.9 \pm 0.3 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ and $4.7 \pm 0.2 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$, respectively, Fig. 4). There was no influence of body mass or body size on CEWL.

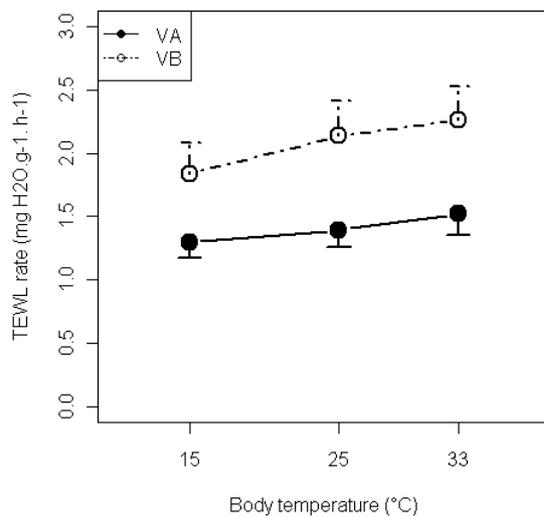


Figure 2. Total mass-adjusted evaporative water loss (TEWL) measured (mean \pm SE) at three temperatures in *Vipera aspis* and *V. berus*.

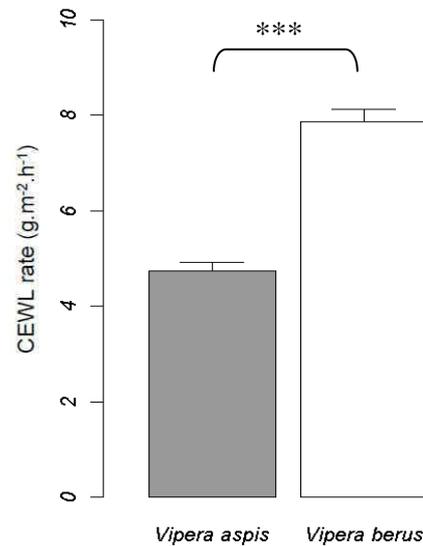


Figure 3. Cutaneous evaporative water loss (CEWL) measured (mean \pm SE) in *Vipera aspis* and *V. berus* at 25°C. *** indicate significantly different with $p < 0.001$.

Discussion

Our results support the idea that thermal and hydric conditions that likely influence the large-scale distribution of two parapatric species, also influence microhabitat selection when these species are syntopic. Furthermore, our results provide a physiological basis for this difference in habitat preference. Overall, our results suggest that, in a syntopic situation, the boreal species (a) selects more humid microhabitats and (b) has higher level of total and cutaneous water loss. We discuss our findings in details below.

Previous studies have suggested fine spatial scale segregation of vipers occurring in syntopy (Duguay et al., 1979; Luiselli et al., 2007; Martinez-Freiria et al., 2010; Monney, 1996; Saint Girons, 1975a) with differences in habitat used due to contrasted temperatures. In this study, we described the micro-climatic conditions of basking sites in a zone of syntopy and where the two species are thus exposed to the same general climate conditions (climate and habitat). Our general hypothesis was that basking in open sunlight should impose a

physiological challenge because these basking sites have a relatively high temperature and low humidity. In this context, microhabitat selection may be driven by thermoregulatory needs in combination with water constraints (Kohler et al., 2011; Ladyman and Bradshaw, 2003). Our results show a consistent between species difference throughout the active season. The boreal species used more humid basking site (less dehydrating micro-conditions). Monthly variation in the humidity of microhabitats was probably due to seasonal climatic variation more so than seasonal changes in microhabitat selection preferences of the snakes. We also found a significant difference between species in the temperature of the microhabitats but the observed pattern was less clear than humidity. Within viperid snakes, direct interspecific competition seems to be unlikely notably because these species do not display territorial behaviours and can be observed basking together. Furthermore, both species are frequently simultaneously observed on the study site. Hence, abiotic factors likely have a major role in microhabitat selection. We acknowledge that our description of microhabitat was minimal (temperature and hygrometry recorded in a single spot). Other parameters such as vegetation structure may well be involved as shown in other studies (Blouin-Demers and Weatherhead, 2002; Lelievre et al., 2011; Row and Blouin-Demers, 2006). Importantly, the study site is a specific context of syntopy where the two species occurs in similar habitat. Still our results suggest that humidity gradient could play a role in micro-habitat selection and may explain observed habitat partitioning.

Previous work has demonstrated a relation between environmental constraints and resistance to EWL (Dmi'el, 1998; Gunderson et al., 2011; Lillywhite, 2006; Moen et al., 2005). For example, desert-adapted snakes display lower TEWL when compared to Mediterranean sister species (Dmi'el, 1972). Our results show that a cold-adapted species that typically lives in a more humid climate has a higher EWL rate than a congeneric species that inhabits a warmer environment. Inter-specific differences were 53.2 % for TEWL and 65.9 % for CEWL. TEWL was significantly higher at preferred body temperature (33°C) and the thermal sensitivity of TEWL (measured between 15.0 to 33.0 °C) was demonstrated by an average increase of 17.1 % over this temperature range. This temperature effect suggests the role of respiratory exchange (Dmi'el, 1972). Saint Girons (1985) suggested a higher standard metabolic rate in the boreal species. Hence, greater ventilation relative to *V. aspis* may directly contribute to higher water expenditure in the *V. berus*. In turn, CEWL is a more passive response but that represents a predominant part of TEWL as demonstrated by other works (Dmi'el, 1972; Prange and Schmidt-Nielsen, 1969). The difference between species was even more pronounced when considering this component.

In ectotherms, body temperature and EWL are linked and a trade-off between thermoregulation or activity and water loss has been revealed in several studies (Davis and DeNardo, 2009; Ladyman and Bradshaw, 2003). For example Köhler et al. (2011) show that a frog (*Rana temporaria*) decrease its body temperature in dry conditions to minimize water loss. Similar results were observed in tiger snakes (*Notechis scutatus*) with decreased preferred body temperature when dehydrated (Ladyman and Bradshaw, 2003). Interestingly, experimental laboratory study on Children's pythons revealed that gravid females select warm and moist conditions when gravid (Stahlschmidt et al., 2011). Physiological and behavioural needs impose high thermal requirements in vipers and decreasing selected temperature may be disadvantageous. Furthermore, the two species are active thermoregulators and share similar thermal preferences (Herczeg et al., 2007a; Ladyman et al., 2003). Consequently they are presumably exposed to important EWL during extended basking episodes. Appropriate microhabitat selection (relative to both temperature and moisture) may contribute to solving this physiological conflict (Stahlschmidt et al., 2011) and boreal species may select more humid microconditions to minimize EWL. These results suggest the importance of humidity in thermoregulatory behaviours and basking site selection of boreal ectotherms.

Overall, this study on a syntopic population highlights contrasted microclimatic requirements and water loss sensitivity that are consistent with overall climatic affinities of the studied species. Notably, the boreal species appears more at risk to EWL. Recent studies show impacts of global change on physiology of ectotherms considering energy and thermal constraints on activity time (Dillon et al., 2010; Huey et al., 2010; Kearney et al., 2009; Pörtner and Farrell, 2008; Sinervo et al., 2010). Global change may also impact water balance, but such relationships remain poorly understood. Boreal habitats are currently facing major changes in temperature and precipitation regimes and prolonged drought notably during the summer (Hinzman et al., 2005; Dury et al., 2011). Additional studies are essential to better understand habitat selection at multiple scales, as well as the influence of humidity on thermoregulatory activity.

Acknowledgements:

This research was made possible by the financial support of the ANR (ECTOCLIM project) the "Programme opérationnel plurirégional Loire FEDER" (# PRESAGE 30810), the "Etablissement Public Loire" and the "Parc Naturel Régional de Millevaches en Limousin".

Chapitre II

**Combiner l'approche mécaniste et corrélative pour
comprendre la distribution**



Résumé du chapitre II

L'un des enjeux majeurs en écologie est de comprendre la distribution et l'abondance des organismes dans l'espace et dans le temps (Andrewartha & Birch 1954 ; Krebs 1972 ; MacArthur 1984). La distribution peut se définir comme étant le résultat d'une réponse dynamique d'une espèce face à un environnement donné. Toutefois, les interactions entre les organismes et l'environnement sont multiples et complexes car elles impliquent des paramètres abiotiques, des interactions biotiques ainsi que les facteurs historiques. Les distributions parapatriques sont des patrons écologiques fréquents où deux espèces partagent des limites de distribution. Plusieurs hypothèses peuvent être formulées pour expliquer la parapatrie la plus classique reposant sur le phénomène de compétition («competitive parapatry»). Les distributions parapatriques peuvent également être le résultat d'adaptations contrastées entre des espèces exploitant de manières différentes les gradients environnementaux («ecological parapatry»). La parapatrie reflète alors les tolérances physiologiques contrastées le long de gradients écologiques

Nous avons étudié les déterminants de la distribution chez *V. berus* et *V. aspis* en France. Notre prédiction principale est que les facteurs abiotiques (température, radiation) et les adaptations physiologiques devraient jouer un rôle majeur dans la distribution des espèces considérées. Nous avons combiné des modèles corrélatifs et mécanistes de distribution pour examiner l'hypothèse de parapatrie écologique. Les modèles corrélatifs se basent sur des relations entre les observations de terrain (occurrence) et les variables environnementales pour prédire la niche réalisée afin de la projeter géographiquement. L'approche corrélative nous a permis d'identifier les facteurs environnementaux déterminants de la répartition des espèces. Nous avons utilisé une méthode de consensus (BIOMOD) qui permet d'incorporer des incertitudes de prédictions. Nos résultats démontrent une influence marquée de deux paramètres (température et les radiations solaires) avec des contrastes entre espèces. Chez *V. berus* on détecte un fort effet des températures estivales avec une chute brutale des probabilités de présence quand la température dépasse (22.5°C). En revanche, *V. aspis* semble favorisée par les radiations solaires élevées et évite les extrêmes thermiques hauts et bas.

Les modèles mécanistes incorporent des traits écophysiologiques afin de spatialiser la niche fondamentale d'une espèce le long de gradients climatiques. Nous avons considéré les aspects énergétiques (taux métaboliques standards), hydriques (pertes en eau par évaporation) et les performances reproductives (date de parturition). Nous avons mis en évidence une forte

saisonnalité avec la période estivale qui contribue largement aux dépenses énergétiques et hydriques. L'espèce boréale présente un métabolisme nettement plus élevé par rapport à *V. aspis* et semble affectée par des coûts de maintenance accrus en marge Sud (dans la zone de sympatrie). On observe un fort effet des gradients thermiques sur le métabolisme et les deux espèces semblent partager la même limite métabolique supérieure. A l'inverse les contraintes reproductrices pourraient expliquer la limite Nord de *V. aspis* avec des mises bas plus tardives par rapport à *V. berus*. La combinaison des deux approches suggèrent que la distributions des deux espèces reflètent des adaptations climatiques contrastées (en accord avec l'hypothèse d'«ecological parapatry») et soulignent les variations de contraintes physiologiques le long des gradients climatiques.

Chapitre II Modélisation de la distribution d'espèces à faibles besoins énergétiques

Manuscrit en préparation (A3)

Running head: distribution modelling in low energy specialists

Combining correlative and mechanistic models to understand parapatry in low energy specialists

Michaël Guillon ^{1,6}, Olivier Lourdais ^{1,2}, Wilfried Thuiller ³, Hervé Cubizolle ⁴, Shu-Ping Sphuang ⁵ and Warren P. Porter ⁵

¹ Centre d'Etudes Biologiques de Chizé, UPR 1934 CNRS, 79360 Villiers-en-Bois, France

² School of Life Sciences, Arizona State University, Tempe, AZ 85287-4501, USA

³ Laboratoire d'Ecologie Alpine, Université Joseph Fourier, UMR 5553 CNRS, BP 53, 38041 Grenoble cedex 9, France

⁴ Image Société Territoire Homme Mémoire Environnement, Université Jean Monnet, EVS UMR 5600 CNRS, 42023 Saint-Etienne cedex 2, France

⁵ Department of zoology, University of Wisconsin, Madison, WI 53706, USA

⁶ Université de Poitiers, 40 avenue du recteur Pineau, 86022 Poitiers, France

Correspondance:

Michaël Guillon, CEBC-CNRS UPR 1934

79360 Villiers en Bois, FRANCE

Phone: +33 (0) 5 40 09 35 52

Fax: + 33 (0) 5 49 09 65 26

For consideration in: Ecology

E-mail: guillon@cebc.cnrs.fr

Tables: 1

Figures: 6

Abstract

Understanding species distribution attracted considerable attention and parapatry is a widespread ecological pattern where two species share common range boundaries. While inter-specific competition is classically invoked, parapatry may also involve contrasted physiological tolerances across environmental gradients notably in low energy specialists. We combined correlative and mechanistic distribution models in two parapatric vipers: *V. berus* is a boreal specialist with the largest known distribution among terrestrial snakes while *V. aspis* is a sub-Mediterranean species restricted to France and Italy. We used BIOMOD to test the influence of climatic factors and seasonality on species presence. Our results demonstrate that two climatic variables (temperature and solar radiation) during summer are critical determinant of species distribution. We developed mechanistic models considering energy (metabolic rate), water budget (evaporative water loss) and reproduction (parturition date) to address the fundamental niche. Confronting realized and fundamental niche suggests that observed distributions reflect specific thermal adaptations. While high standard metabolic rate is advantageous in the boreal specialist, maintenance costs and water losses likely limit its southern margin. In turn, activity constraints and delayed parturition dates due to low temperatures explain the northern margin in the sub-Mediterranean species. Combining the two approaches clearly support for ecological parapatry and underline the relevance of proximate physiological constraints across climatic gradients.

Key words: ectotherms, distribution, metabolism, fundamental niche

Introduction

One of the major goals of ecology is to understand organism distribution in space and time (Andrewartha and Birch 1954; Krebs 1972; MacArthur 1984). Species distribution results from a dynamic response of populations to a given environment that is characterized by complex interactions involving abiotic parameters (temperature, humidity), biotic interactions (preys, predators, competitors) and historical factors. Parapatric distributions are widespread patterns in which two species have contiguous distributions along common boundaries (Bull 1991). Over the last decades, dozens of studies have aimed to understand the proximate causes of such common boundaries and inter-specific competition has been suggested as one the major hypothesis to explain this phenomenon within related species (Huey 1979; Key 1982; Bull 1991; Shapiro 1992; Bull & Possingham 1995; Bull & Burzacott 2001; Catenazzi & Donnelly 2007; Harmon & Harmon 2007; Glor and Warren 2011). In addition, parapatric distributions have also been suggested to result from contrasted adaptations for the species that exploit different range of environments (Ecological parapatry, Haffer 1986). One of the major identified challenge is currently to distinguish what relative importance competition and ecological parapatry have to explain species distribution.

Species distribution models (SDMs) have been developed over the past decade and are now intensely used to answer these questions (Guisan & Thuiller 2005). When interested in species distribution, the concepts of “fundamental” and “realized” niche are particularly relevant (Hutchinson 1957). The fundamental niche is defined as multidimensional environmental hyperspace without biotic interactions and where species can potentially persist. The realized niche (or effective distribution) is a subset of the fundamental niche including all biotic interactions. Correlative species distribution models (SDMs) are based on field observations, permitting to predict the realized niche (Guisan & Thuiller 2005). On the other hand, mechanistic SDMs incorporate ecophysiological and/or demographic traits (Kearney and Porter 2004; Buckley 2008) to draw the fundamental niche (Guisan and Thuiller 2005; Kearney 2006). Combining correlative and mechanistic SDMs is a powerful congruent approach to predict species distribution (SD) (Kearney et al. 2010b). Notably, comparing the realized and the fundamental niche may help to infer the respective contributions of abiotic and biotic factors on SD and thus may be a powerful tool to disentangle the relative importance of the competitive and the ecological parapatry hypotheses in determining species distribution.

Clarifying the proximate determinants of species distribution necessitates robust inference of the limiting environmental factors and their functional relevance for the considered species (O'Connor et al. 2006). In this context, it appears crucial to consider the ecological and physiological characteristics of species because the prevalence of biotic and abiotic parameters may vary largely across taxa. For instance, ectothermic organisms have low energy requirements and display energy saving strategies compared to endothermic vertebrates (Pough 1980). They are particularly sensitive to abiotic factors and notably temperature that influence their body temperature and, therefore, most of their history traits. Indeed, theoretical model suggests that fitness is thermally dependent in ectotherms (Huey & Stevenson 1979). In addition; activity and resource budget (energetic and water balance) are primarily driven by abiotic conditions in ectothermic species (e.g., temperature, humidity). A prevalent influence of abiotic (climatic) rather than biotic factors on distribution is therefore expected for ectothermic species showing low rate of energy acquisition and presumably a limited trophic-based competition.

Within squamates, viperid snakes are well-known for their minimal energy requirements and are considered as low energy specialist (Zaidan 2003). Viperid snakes are “sit and wait” foragers with reduced activity. Viviparity seems a key innovation in this group and linked to global cooling (Lynch 2009). In Western Europe, the genus *Vipera* is composed of species showing puzzling parapatric patterns that attracted significant interest (Saint Girons 1980a, Nilson & Andrén 1997). While inter-specific competition was proposed (Saint Girons 1975a, Monney 1996), prey partitioning have not been demonstrated in locally syntopic population (Capizzi et al. 1995, Capizzi & Luiselli 1996, Monney 1996; Luiselli 2006) and we may question the competition potential in such low frequent feeders.

Herein, we combined correlative and mechanistic SDMs to understand parapatric distribution in two *Vipera* species in France. The common adder (*Vipera berus*) is a boreal specialist with the largest known distribution among terrestrial snakes while its sub-Mediterranean relative the asp viper (*V. aspis*) has restricted distribution range. We examined the following questions:

- (i) Species distributions should mainly depend upon climatic conditions. Specifically, we expect a prevalence of air temperature and solar irradiation during summer (i.e.gestation period).
- (ii) Contrasted thermal dependence of gestation, metabolic rate and water budget of the two species should provide proximate determinant of distributions.

(iii) Physiological constraints should vary over species distribution. For instance, activity constraints and delayed parturition dates are expected with low temperatures (northern margin) while high temperatures (southern margin) should increase maintenance costs (energy and water).

(iv) According to the ecological parapatry hypothesis, fundamental and realized niches should be largely similar.

Material and methods

Study species

The genus *Vipera* (Laurenti, 1768) is a monophyletic lineage (Lenk et al. 2001, Kalyabina-Hauf et al. 2004, Garrigues et al. 2005, Wüster et al. 2008). Thirteen species are recognized in Europe (Gasc et al. 1997, Nilson & Andrén 2001) with two climatic groups. The group “vipera” is composed temperate or Mediterranean species while “pelias” is composed of cold adapted species (Nilson & Andrén 1997). This study focus on two species from each group, the common adder, *Vipera berus* (Linné, 1758) and the asp viper, *Vipera aspis* (Linné, 1758). *Vipera berus* is a boreal species that has the largest know distribution among terrestrial snakes (Saint Girons 1980a; Nilson & Andren 1997; Carlsson 2003) covering most of Europe through Russia as far as Sakhalin Island (Nilson & Andren 1997). In turn, *V. aspis* has a much smaller range and broadly restricted to France, Spain, Switzerland, and Italy (Saint Girons 1997). The two species display clear parapatric distributions and narrow contact zones are mentioned in France (Saint Girons 1975), in Switzerland (Monney 1996) and in Italy (Scali et al. 2011). Previous work conducted on syntopic populations suggested the role of competition to explain parapatry (Saint Girons 1975a, Monney 1996). However, no clear evidences are available and alternate hypothesis such as ecological parapatry deserve consideration.

Both species are medium-size snakes (mean SVL \leq 50 cm), rely on sit-and-wait foraging, Reproductive rates is usually low due to a temporal disconnection between resource acquisition and allocation (capital breeding). Energy is capitalized over extended periods (up to several years) to support reproduction. Viviparity induces substantial thermal and behavioral modifications during gestation (Tinkle & Gibbons 1977; Shine 1995). During summer, pregnant females often cease feeding and invest into active basking activities (Lourdais et al. 2002a; Charland & Gregory 1990). While morphologically similar the tow

species differ in several relevant ecophysiological traits. Metabolic rate is a crucial component of climatic adaptation (Angilletta 2001). It has been demonstrated that *V. berus* has significantly higher SMR (Saint Girons et al. 1985; Lourdais et al. in prep A1) supporting faster physiological performances at low temperature such as digestion and gestation (Naulleau 1981). Experimental study demonstrated faster development and earlier parturition date in this species (Naulleau 1986). In natural situations where the two species are syntopic, parturition occurs always sooner in *V. berus* than in *V. aspis* (Naulleau 1981; Saint Girons 1975a; Monney 1996) likely because of contrasted metabolic rate and better thermoregulation efficiency. Finally, the two species display contrasted sensitivity to water loss with higher rates in *V. berus* and differential microclimate requirements (Guillon et al. in prep A2). This work focuses on the parapatric situation observed in France.

Correlative SDMs and datasets

Species occurrence data

Extended distribution data have been collected over the last 30 years in French herpetological society (Société Française d’Herpétologie), regional conservation organizations and herpetologists’ observations. Occurrence data were computed at the French administrative district (“commune”) resolution scale (15 ± 15 km²). We obtained 3504 presence localities with 2659 and 943 observations respectively for the *V. aspis* and *V. berus* (Figure 1.a.) observations (Figure 1.b.). The two species co-occured in 98 localities.

Environmental data

Climatic conditions offer strong seasonal variations in the study area and limit the activity period mainly to spring and summer. Therefore, we distinguished 4 seasonal groups: spring (March to May), summer (June to August), autumn (September to November) and winter (December to February). Four climatic variables were used in the study. Temperature and precipitation data were derived from AURELHY climatic model outputs developed by METEO-FRANCE corresponding to the 1971-2000 period of weather survey. We considered monthly precipitation, monthly maximum air temperature and the amplitude of the monthly air temperature to compute mean seasonal variables. We also used the monthly interpolated solar irradiation database (PVGIS © European Communities) based on averages ground station measurements collected during the period 1981-1990 (Šúri et al. 2007). Initial spatial resolution of climatic variables was 1 km by 1 km and variables were rescaled to fit the

district resolution scale. For each climatic variable, we transformed district polygons into raster at a resolution of 1km by 1 km and computed the mean district value. To avoid correlation between our variables of interest, residual solar irradiation was derived from the linear regressions of effective solar irradiation against the maximum air temperature for each season. Correlation coefficients were computed using Pearson correlation. The maximum coefficient observed in season climatic datasets was 0.68 (Supporting information, Appendix A-1).

Spatial transformations and calculations were carried using GRASS GIS 6.4 (GRASS Development Team, 2010), R 2.11.1 (Development Core Team, 2011) with various packages (ade4, adehabitat, base, fields, graphics, gstat, lattice, lme4, maptools, rgdal, SDMTools, sp, spatstat, sprgrass6 and stats) and, finally, ArcGis 9.4 software.

Species distribution models

We used a consensus method to take into account the bias due to the choice of our methods and to incorporate predictions uncertainties (Marmion et al., 2009). BIOMOD is a computer platform for ensemble forecasting and uncertainty of species distribution (Thuiller et al., 2009). The method is implemented in R (R Development Core Team, 2011) on the “BIOMOD” package. We applied 8 different modeling techniques: generalized linear models (GLM, McCullagh & Nelder 1989), generalized additive models (GAM, Hastie & Tibshirani 1990), multivariate adaptive regression splines (MARS, Friedman 1991), classification tree analysis (CTA, Breiman et al. 1984), mixture discriminant analysis (MDA, Hastie et al. 1994), artificial neural networks (ANN, Ripley 1996), generalized boosted models (GBM, Ridgeway 1999) and random forests (RF, Breiman 2001).

Because we have presence-only data, we generated randomly 10 sets of pseudo-absence (5000 points) (for details, see Thuiller et al. 2009). All models was trained with 70% of initial data and evaluated on the remaining 30%. We used two methods to assess the agreement between predicted and observed values: the area under the receiver - operating characteristic curve (AUC; Hanley & McNeil, 1982) and the true skill statistic (TSS; Allouche et al., 2006). The AUC evaluation value varies from 0.5 (model predictions no different than random) to 1 (model predict perfectly observed data). The TSS evaluation value varies between 0 (random) and 1 (perfect). A useful predictions correspond to $AUC > 0.7$ or $TSS > 0.4$ (Swets 1988, Engler et al. 2011). This data-splitting procedure was randomly repeated 10 times and corresponding to a total of 880 models. We run BIOMOD also with the following modified parameterization. We used polynomial terms for GLM, the maximum

number of trees for the GBM was 2000 and the number of cross validation for the ANN was 2.

Output results

Evaluation scores (AUC and TSS) of 880 models were averaged for each season to compare and identify the most explanatory climatic datasets. We used a BIOMOD procedure to estimate each variable contribution. We used Pearson correlation coefficients between the initial predictions and predictions where the variable of interest has been randomly permuted. If the correlation is high, the variable permuted is considered not important for the model. We repeated 10 times the procedure for each variable. The importance of the variables corresponds to $1 - \text{the mean correlation coefficient}$.

In order to map potential distribution of the species by taking into account the predictions uncertainties, two steps of models outputs calculations were necessary. First, by using the more relevant season dataset, we computed predictions of presence probabilities (values between 0 and 1) of all 880 models of each species. Second, we transform presence probabilities into occurrence data (binary values equal to 0 or 1) using two techniques, the AUC and TSS threshold for all 880 models. Thus, we summed these 1760 occurrence predictions by species to compute the percentage of models predicting the presence of the species. For instance, a value of 0% correspond to 100% of models predicting the absence of the species and a value of 100% correspond to 100% of models predicting the presence of the species. This allows mapping the realized niches but also considers for each district the predictions uncertainties in the ensemble forecast. We assume arbitrary that the limit of the realized niche correspond to a minimum of 50% of models according to predict the presence of the species. The maps of realized niche of both species were downscaled to the original resolution (1km * 1km) to be comparable with resolution of mechanistic outputs.

To understand the effect of variables on predictions, we computed the response curves of each major variable for both species. We used a BIOMOD function to extract the responses plot (Elith et al. 2005) of each 880 models and to calculate the mean values to have an average response curve by variable and by species.

Mechanistic SDM and data

Physiological data

In order to map the fundamental niche, we considered relevant eco-physiological traits that are linked to standard metabolic rates, water loss and reproductive performance. We used previously obtained equations for standard metabolic rate (SMR) and total evaporative water loss (TEWL) for both species (Saint Girons et al. 1985; Lourdais et al. a in prep A1 ; Guillon et al. in prep A2). The thermal reaction norms for SMR and TEWL (Supporting information, Appendix C-2 & C-3) were implemented in the ectotherm model and we estimated the annual and seasonal maintenance requirements in energy (Kj) and water (g) for each species. Therefore, we used the same 4 seasonal groups described above: spring (March to May), summer (June to August), autumn (September to November) and winter (December to February).

Under temperate climate, gestation duration is closely related to summer temperature in vipers (Lourdais et al 2004). We used parturition dates (10 and 7 years for *V. berus* and *V. aspis* respectively) collected over a long term (1999-2008) field study in western central France (Guiller et al. in press; Lourdais et al. b in prep, Chap. I.2) to estimate development thermal dependence. Since body temperature were not collected, we estimated mean summer body temperature from monthly weather records collected in the nearest weather station (see appendix) using Niche Mapper™. This approach was possible as previous study demonstrated only limited difference in thermal profiles in a similar environment (Lourdais et al. in prep A1). Furthermore, reaction norms were consistent with data collected in standard conditions. For each species, we fitted a linear equation between annual parturition dates and estimated mean summer body temperature (Lourdais et al. b in prep Chap I.2). Body temperatures were derived from monthly weather records collected in the nearby ground weather station (Supporting information, Appendix B) using Niche Mapper™. For each year, we incorporated monthly minimal and maximal temperature records in the microclimate model and processed the ectotherm model to obtain mean daily body temperatures in June, July and August. Mean summer body temperature estimates explained most of the variation observed in parturition date, (77.2 % and 88.8 % for the asp viper and the common adder respectively) (Supporting information, Appendix C-4). These equations were used to map parturition dates estimate of both species.

Environmental datasets

We used topographic information (altitude, slope and orientation) based on SRTM data (provide initial resolution) version 4.1 (Jarvis et al. 2008). The resolution was upscaled to 1 x 1 km to meet the climatic datasets resolution. We used monthly maximum air temperature and the monthly minimum air temperature from AURELHY climatic model outputs (METEO-FRANCE). Finally, we derived a monthly cloudiness index using monthly interpolated solar irradiation (PVGIS © European Communities, 2001-2008) and monthly potential solar irradiation. Monthly potential solar irradiation is based on topographic data (SRTM version 4.1) and computed using spatial analyst in ArcGis 9.4 at a 1 x 1 km resolution. The cloudiness indexes were calculated from the following equation: (potential solar irradiation – interpolated solar irradiation) / potential solar irradiation.

Niche Mapper models

We used US patented Niche Mapper TM (Porter and Mitchell 2006) to address the spatial expression of species behavioral and physiological traits. Niche Mapper is composed of two executables: the microclimate model (Micro2011b) & the ectotherm model (Ecto2011a). The microclimate model generates microclimatic environmental variables relevant for organisms based on climate or weather records and topographic informations (Supporting information, Appendix B). The ectotherm model uses thermal gradients outputs of the microclimate model to generate hourly body temperature after computing average heat transfer properties (general morphology and reflectance) and thermoregulatory decisions for each species (Supporting information, Appendix C-1).

Output results

The ectotherm model computes at the defined landscape scale monthly estimates for daily body temperature profile (°C), daily energy maintenance (kj/day) and daily respiratory and total evaporative water loss (g/day). To address seasonal variation in maintenance costs, we computed annual and seasonal metabolic rate (Kj) and water losses (g) for each season (same seasonal group defined above). Season relative contribution (%) was simply derived from the annual budget (%).

We addressed the influence of temperature gradients on our estimate of maintenance costs (energy needs and evaporative water loss) and reproductive performance (parturition date). Since summer is a critical season for reproduction and maintenance, we used maximum

summer air temperature as a relevant climatic gradient. The results were presented as the mean \pm standard deviation. We extracted mechanistic predictions from realized niche (minimum of 50% of the correlative models according to predict the presence of the species) to confront with the fundamental niche.

Results

Correlative SDM

Species presence was well explained by climatic dataset according to AUC and TSS model evaluations and by a limited number of variables (Table 1). When addressing seasonal contributions, the highest evaluation scores was found with the summer climatic dataset for *V. berus* (Table 1) with mean evaluations of 0.87 (AUC) and 0.61 (TSS) (Supporting information, Appendix A-2, Table 1). In turn, *V. aspis* presence was not better explained by summer climatic conditions. However, seasonal evaluation score were less variable for *V. aspis* and it was not possible to identify a seasonal effect for this species (Table 1).

Table 1. Species distributions dependence upon climatic conditions. See Supporting information, Appendix A-2 for details.

	<i>Vipera aspis</i>	<i>Vipera berus</i>
<i>Predictions Evaluations</i>		
Climatic datasets	Useful	Useful
Highest score between seasonal datasets	No difference	Summer
<i>Variables importance</i>		
Precipitation	No	+
Maximum air temperature	+	++
Amplitude of air temperature	No	No
Adjusted solar irradiation	++	+

Maximum summer air temperature was a major predictor of for *V. berus* presence, (Table 1, Figure 2.). Summer precipitation and adjusted solar radiation were also selected in the model but their explanatory contribution was limited. Adjusted solar irradiation was the most important predictor for all seasonal datasets for *V. aspis* (Table 1). Maximum air

temperature was also a consistent variable but with a lower explanatory power than adjusted solar radiation (Table 1). The absence of seasonal effect for *V. aspis* was probably linked to limited inter-seasonal variation in adjusted seasonal solar irradianations since this variable was highly correlated between the four seasons (Supporting information, Appendix A-2, Table 3).

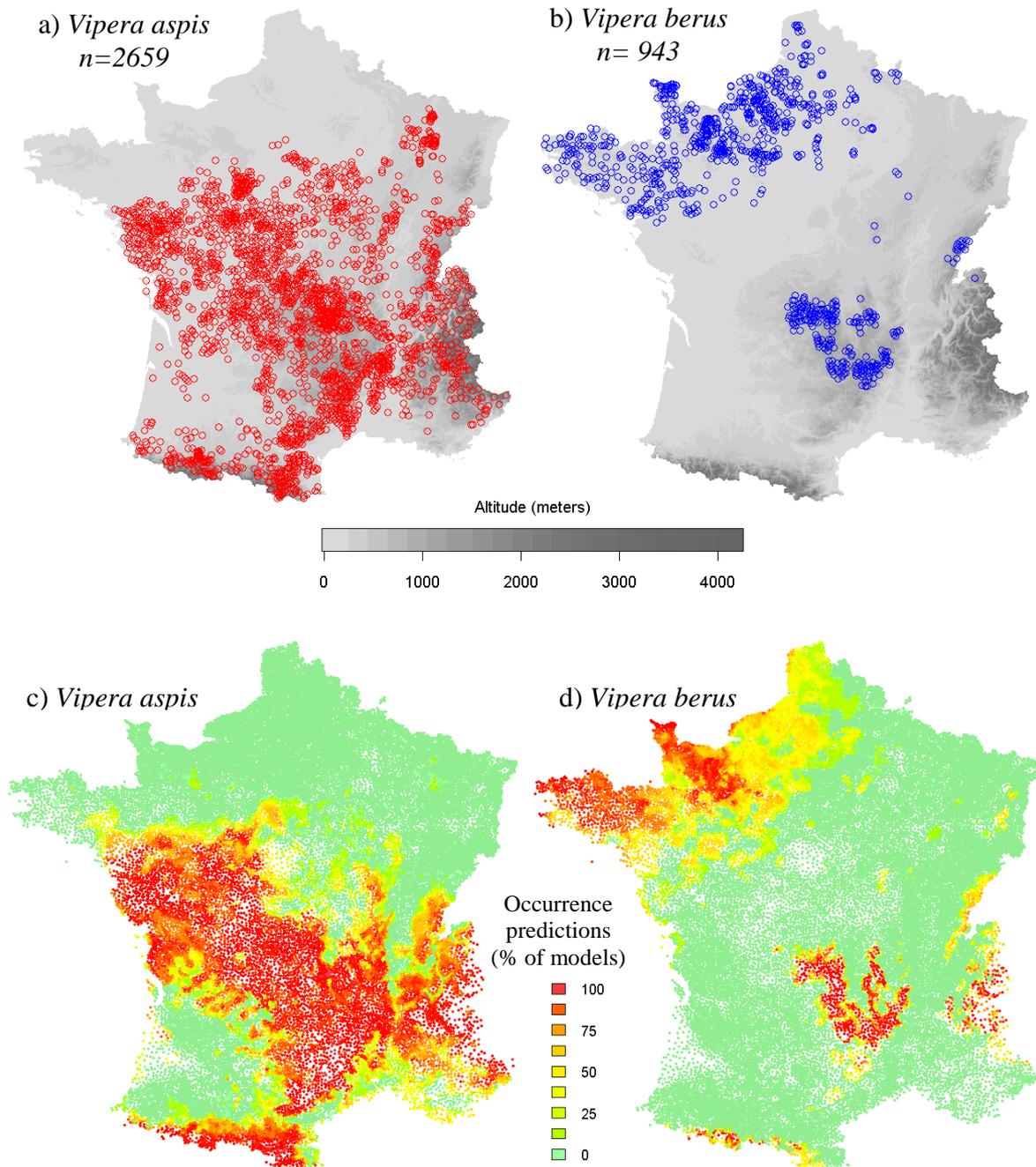


Figure 1. Maps of presence-only datasets and the realized niche based on the consensus predictions of 880 models for *Vipera aspis* and *Vipera berus*. Each circle corresponds to district with observations of the species. The maps c & d illustrate the percentage of models (1760 by species) predicting the presence of the species. Predictions are based on summer climatic dataset.

We used summer climatic dataset (with highest evaluation scores) to predict the distribution of both species. Among the 880 model tested, the proportion predicting species occurrence provided a robust estimate. High congruence (i.e. >50%) was consistent with the major part of the realized niches (field observations Figure 1 a & b) and especially the northern and southern margin of the distribution (Figure 1 c & d). Prediction uncertainties were mainly located in the margins of SD.

We computed a mean response plot for maximum air temperature and adjusted solar irradiation (Figure 2). Response plot showed a combined effect of the two climatic variables on the presence of each species. The presence of *V. aspis* is strongly linked with sunny conditions but with a non linear effect of temperature (negative influence to temperature extremes). For *V. berus*, temperature is crucial to predict species presence with a clear drop in the presence probability of this species above 20°C. A non linear effect of solar radiation was also found with a negative influence of radiation extremes.

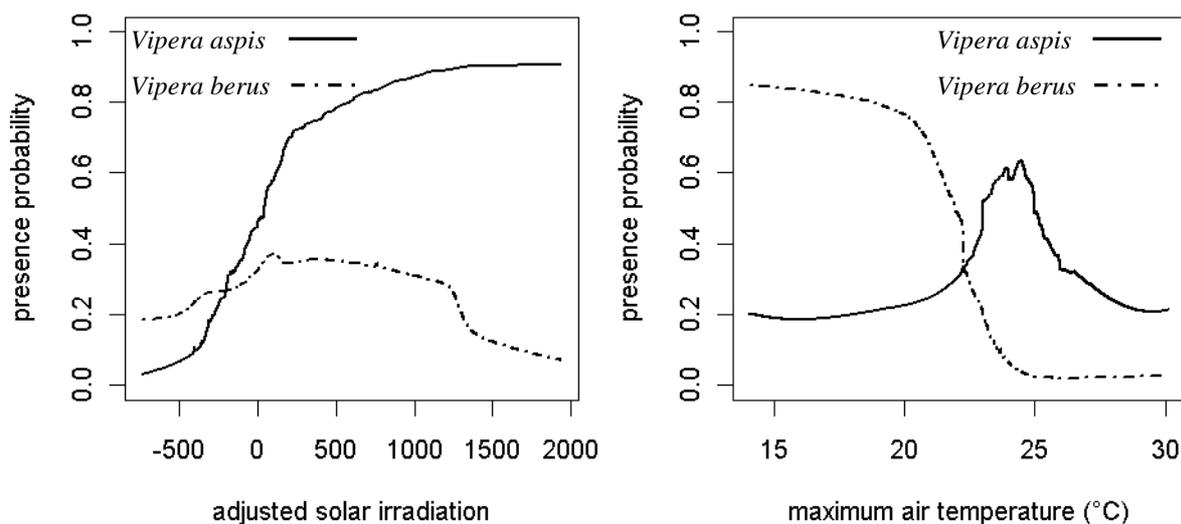


Figure 2. Mean responses curves of adjusted solar irradiation (left) and maximum air temperature (right) of all 880 predictions for *Vipera aspis* (black curves) and *Vipera berus* (dotted curves). Predictions are based on summer climatic dataset.

Mechanistic SDM

Summer had a major contribution on both energy and water requirements for both species (Figure 3. a.). For instance, summer energy requirements represented 55.8 ± 3.1 % and 56.7 ± 2.7 % of annual energy requirements estimates for *Vipera aspis* and *Vipera berus* respectively. Similarly evaporative water loss was prevalent during summer (72.5 ± 3.8 and 72.5 ± 3.1 % of annual evaporative water loss estimates for *Vipera aspis* and *Vipera berus* respectively).

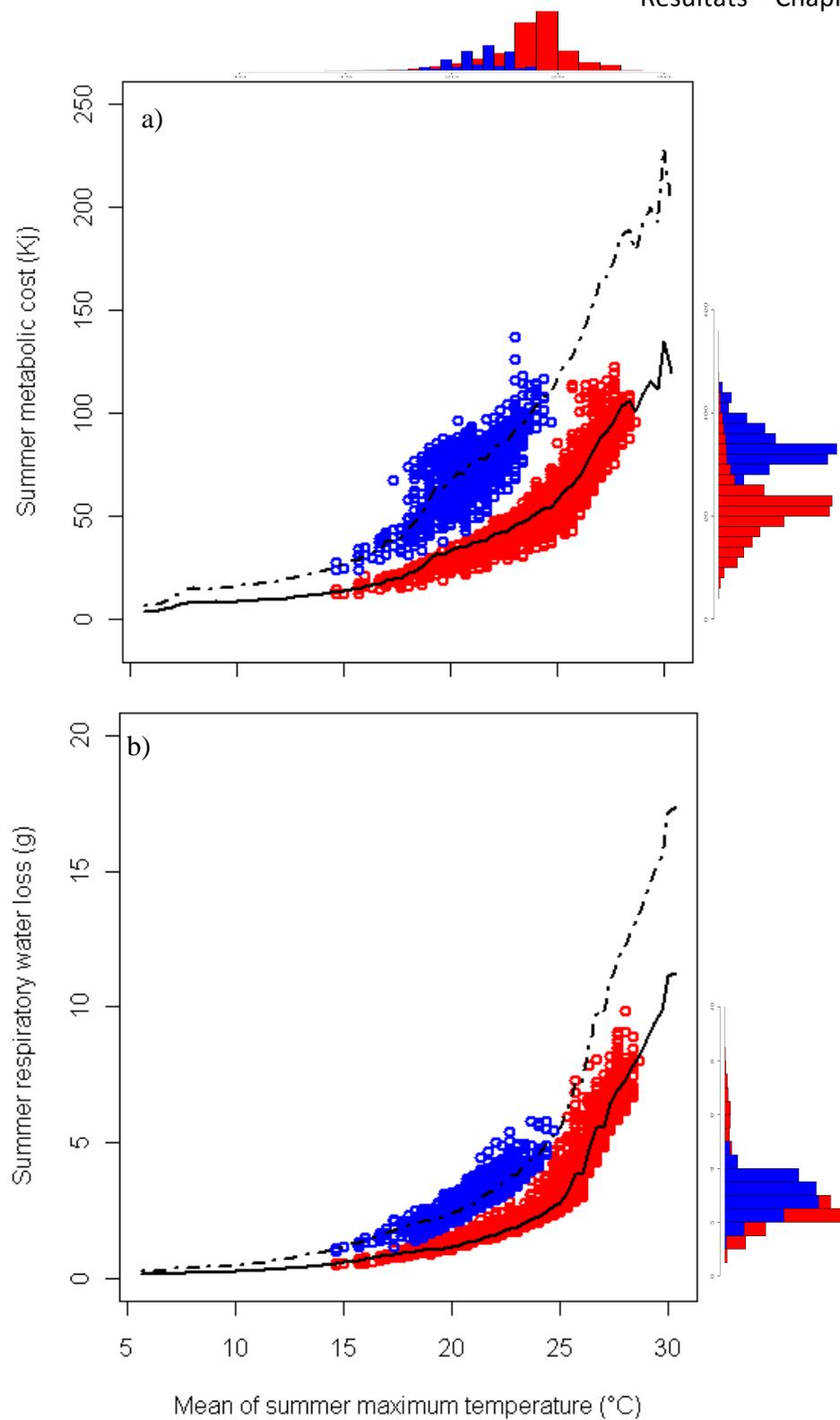


Figure 3. Summer energetic (a) and hydric (b) maintenance costs predictions all over the climatic gradient (mean of maximum summer air temperature) for *Vipera aspis* (black curves) and *Vipera berus* (dotted curves). Predictions corresponding to realized niche of species is plotted with *Vipera aspis* (red points) and *Vipera berus* (blue points). Frequencies of the maintenance cost of realized niche are plotted for the both species by the histogram on the right side. Curves represent the mean response of predictions (cubic smoothing spline) along the gradient.

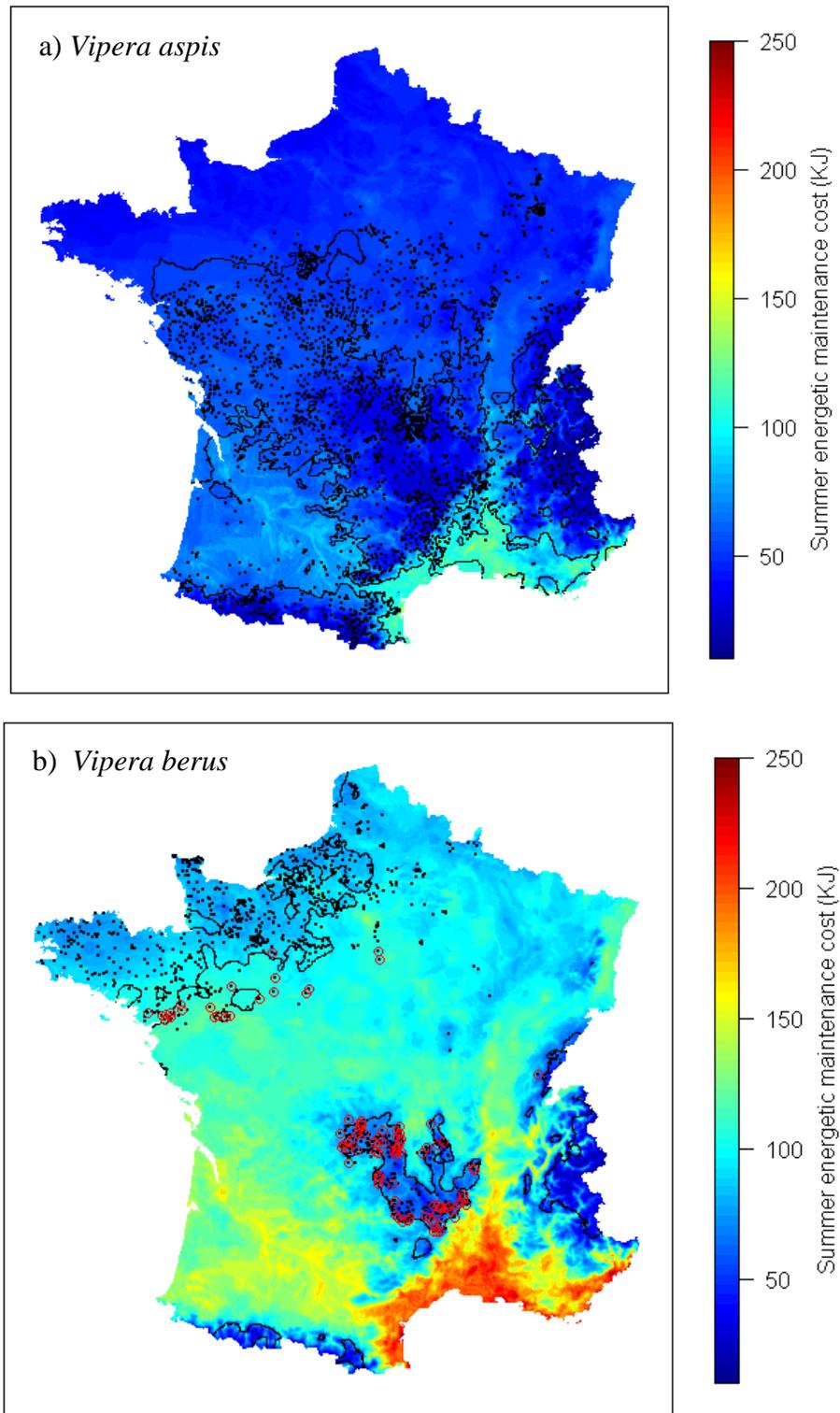


Figure 4. Predictions of summer energetic maintenance costs for *Vipera aspis* (a) and *Vipera berus* (b) mapped at the French scale. The presence datasets (black points) and the limits of the realized niche (black line) are shown for both species on their respective map. The presence of both species in the same district (red circles) was presented for the *Vipera berus* map (b)

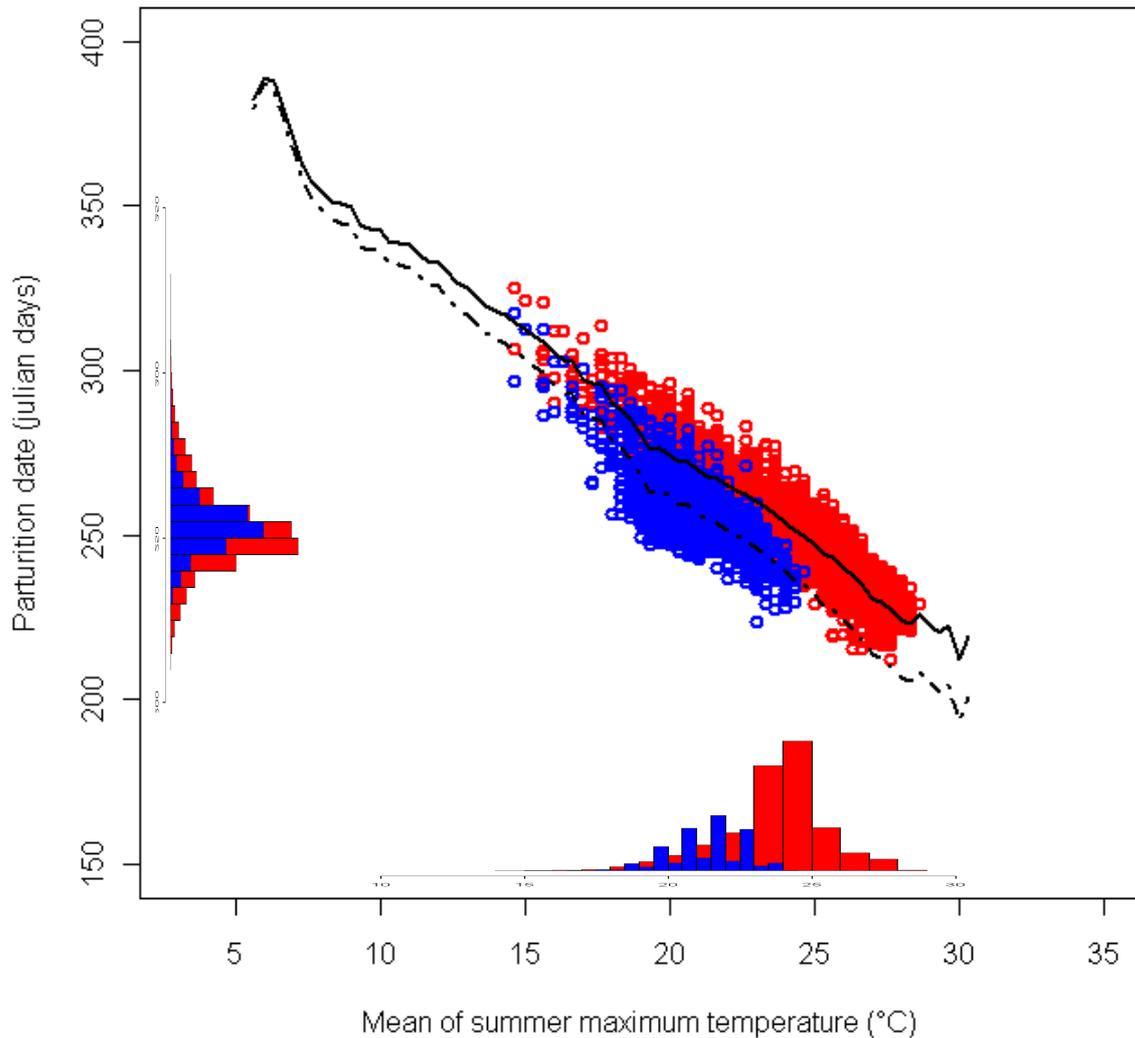


Figure 5. Predictions of parturition date all over the climatic gradient (mean of maximum summer air temperature) for *Vipera aspis* (black curves) and *Vipera berus* (dotted curves). Predictions corresponding to realized niche of species is plotted with *Vipera aspis* (red points) and *Vipera berus* (blue points). Frequencies of the parturition date and the climatic gradient of realized niche are plotted for the both species by the histograms along the axes. Curves represent the mean response of predictions (cubic smoothing spline) along the gradient.

We addressed spatial variation in water and energy requirements along the climatic gradient. Summer energy and water needs increased exponentially along the gradient (Figure 4 a. & b.). Maintenance costs were respectively 99.4 ± 6.0 % and 97.4 ± 9.9 % higher for energetic and water budget of the cold specialist when compared to the temperate-adapted species. When considering realized niche, the metabolic contrast was maintained (Fig 4). While *V. berus* was able to exploit colder environment than *V. aspis* (maximum summer temperature: 21.5 ± 1.4 °C vs. 24.1 ± 1.8 °C), but this species faced higher average energetic needs during summer (79.8 ± 13.0 kJ vs. 53.0 ± 14.2 kJ respectively; Figure 4. a.). It is noteworthy that both species shared the same upper energetic limits (broadly around 110 kJ,

Figure 4. a.), suggesting similar constraints in their respective southern geographic range (Figure 5. a. & b.). Mean respiratory EWL in the realized niche was similar between species (2.7 ± 1.2 g for *V. aspis* and 3.0 ± 0.7 g for *V. berus*; Figure 4. b.) but *V. aspis* appears able to sustain much desiccating environment than *V. berus*.

When considering reproductive phenology, the ecotherm model reported an earlier parturition date of *V. berus* all over the climatic gradient compared to *V. aspis* (on average 14.7 ± 1.4 days Figure 5.). Both species shared the same mean parturition date over their realized niche (ordinal date 252.8 ± 12.1 and 254.1 ± 12.1 for *V. aspis* and for *V. berus* respectively). The northern margin in this species was linked to a delay in the parturition date with a threshold around late September (ordinal date 260). This was consistent with the results from the contact area (north western part of France) but also with the results from the North Eastern margin where *V. aspis* is not replaced by *V. berus*.

Discussion

Understanding proximate determinant of species distribution is a major goal in ecology but this is often complex because species distribution is determined by a combination of biotic interactions, historical factors and species properties (physiological tolerance). In this study, we combined correlative and mechanistic SDMs to disentangle the ecological *versus* competitive parapatry hypothesis in two congeneric viper species. Our main prediction was that abiotic parameters (temperature and solar radiation) combined with specific physiological adaptations are prevalent distribution determinants in low energy specialists.

Correlative approach

We used a consensus correlative method (BIOMOD) to map the realized niches and also to test specific predictions using statistic consensus. First, we demonstrated that a small number of climatic variables (maximum air temperature and adjusted solar irradiation) were sufficient to predict both species distribution. As predicted, summer played a critical role to explain *V. berus* distribution in comparison to other seasons. On the other hand, no such seasonal effects was in *V. aspis* but examination of inter-seasonal variations in solar radiation variations showed a low variability between seasons.

Identifying environmental gradients across distribution is a crucial component to address the determinant of parapatric distribution (Bull 1991). According to the ecological parapatry hypothesis, species should exploit different environmental gradients due to contrasted adaptations and tolerance. Our response plots showed contrasted presence plots along temperature and solar radiation gradients. A threshold was particularly clear in the cold specialist with a drop in the presence probability above 22.5 °C (maximum air temperature). In turn, *V. aspis* presence was positively associated to high adjusted solar radiation (underlying its heliophilic nature) while negatively affected by extreme temperatures. In addition, the adjusted solar temperature has a negative effect on each species only for extreme values.

By combining eight statistical techniques, we were able to address forecasts uncertainties. According to score evaluations, variations in spatial predictions were low across the 880 models and mainly located in range boundaries. Hence, the consensus of presence probabilities and occurrences based on climatic variable allowed to model most of the SD for both species. This was possible despite a low resolution scale (district level) and the fact that topographic or habitat variables were not considered. Therefore, our results strongly support a prevalent influence of abiotic parameters on species distribution and also emphasize the contrasted thermal dependence of these two species. However, while this correlative approach provides robust tools to identify environmental correlates of species distribution it does not provide information on proximate determinants.

Mechanistic approach

We considered relevant physiological and phenological traits in our mechanistic models to accurately map the spatial responses of both species over the climatic gradient (fundamental niche). First we found dramatic seasonal variations in energy maintenance with a major influence of summer on this variable. Indeed, summer is a key period for gestation because summer conditions drive developmental dynamic (Lourdais et al. 2004). Thereby, these results complete and support our correlative findings. *V. berus* display higher SMR which is consistent with the “metabolic cold adaptation hypothesis” (Addo-Bediako et al. 2002). This metabolic contrast translated in higher maintenance requirement all over the gradient considered and this may explain why this species is likely to be constrained in its southern margin (i.e. the contact zone) by accrued energy requirements. Due to SMR thermal dependence, an exponential increase of maintenance costs was detected in both species along

the climatic cline. When considering realized niche, the two species shared the same upper metabolic limit at the southern margin of their range suggesting common proximate limits in energy requirement with contrasted spatial expression. Quite similar results were found on water loss with an exponential increase along the gradient and much higher level in *V. berus*. Seasonality was even more marked when considering this parameter with summer contributing to approximately 70% of annual water losses in both species.

Variations in parturition date along the climatic gradient were more linear but were in accordance with the metabolic contrasts observed. Vipers are typically active thermoregulators with high thermal needs for reproduction (Herczeg et al., 2007a; Ladyman et al., 2003; Saint Girons, 1978). Temperature can directly impact offspring phenotype and the proportion of stillborn (Lourdais et al. 2004) and parturition date. Maternal phenological effect are likely relevant since date of birth influence activity period before winter and thereby offspring survival (Olsson and Shine 1997). On average *V. berus* was able to give birth on average two weeks earlier than *V. aspis* notably in the contact zone. Previous studies suggest that *V. aspis* is limited in its northern margin by reproductive performance and late parturition date (Lourdais et al. 2004). Mapping gestation date over climatic gradient underlines phenological constraints at the northern margin of the distribution in *V. aspis*.

Benefits of complementary approaches

Combining the two approaches provided a robust tool to address our initial predictions. A prevalent influence of summer on reproductive performances and metabolic rate was underlined with our mechanistic model outputs. Confronting both approaches allows a better understanding of distribution boundaries and, especially, of the proximate constraints involved. For instance, the two vipers appear limited by divergent constraints in their contact zone. This mainly results from accrued metabolic costs (*V. berus*) or low reproductive performance (*V. aspis*). Vipers are low energy specialists (Zaidan 2003) and the two species share important ecological traits. They are low frequent feeders and capital breeders. Therefore energy storage is crucial to reproduce (Lourdais et al. 2003; Bonnet et al. 2002; Bonnet et al. 2001). The exponential increase of maintenance costs should impact energy saving and alter reproductive opportunities. Correlative models suggest that warm conditions limit both species southern distribution while mechanistic modeling demonstrated shared metabolic upper limits. Southern distribution boundaries may primarily from energy requirements.

Live-bearing is key innovation in viperid snakes (Lynch 2009). Phenological performances may be crucial determinants of reproductive success and climatic specialization (Tinkle & Gibbons 1977; Shine & Bull 1979; Shine 1985; Lourdais et al. in prep A1). Interestingly, the two species shared the same mean parturition date over their realized niche while they exploit contrasted climatic gradient suggesting similar proximate constraints. It has recently been show that *V. berus* is a more efficient thermoregulator during pregnancy (Lourdais et al. in prep A1) capable to reach and maintain thermal preferences under constraining weather. Such adaptations, combined with metabolic orientation may explain the widespread distribution of this species under cold climates.

Conclusion

Common boundaries and parapatric distribution is a widespread phenomenon within ectotherms (Bull 1971) and it appears as a general rule in the genus *Vipera* in Europe. We demonstrated the prevalence of climatic factors to explain distribution in two parapatric species. While our correlative approach emphasized the importance of two climatic variables, our mechanistic models provided robust proximate determinants of the southern limits in both species (accrued metabolic requirement) and the northern limit in the temperate species (reproductive phenology). Convergences in metabolic upper limits and average parturition date over the realized niche rather express specific behavioural and physiological adaptation supporting equivalent performances over contrasted thermal niches. Therefore, ecological parapatric seems to be the most parsimonious hypothesis to explain distribution in these related species. Competition may occur at a local scale but should play a marginal role since syntopic areas correspond to physiological and behavioral limits in each species.

Previous studies have suggested fine spatial scale segregation of vipers occurring in syntopy (Duguy et al. 1979; Luiselli et al. 2007; Martinez-Freiria et al. 2010; Monney 1996; Saint Girons 1975a) with difference in microhabitat (temperature and humidity gradients). Contrasted microhabitat selection may reflects thermal specialization and optimize physiological performances. Therefore, specific physiological adaptations constraints may provide robust element to unravel *i*) large scale processes such as parapatric distribution and *ii*) small scale phenomenon such as habitat partitioning in contact zone. Current distribution may reflect the “ghost of competition past” (Connell 1980).

Acknowledgements:

We warmly thank the Société Française d’Herpétologie permitting to use the national observations database of both species. We want to thank also a large number of regional French naturalist societies who permit to access to additional and up-date occurrence data: SHF Normandie, Groupe Mammalogique et Herpétologique du Limousin, Nature Midi-Pyrénées, Société d’Histoire Naturelle Alcide D’Orbigny,, Association Lozérienne pour l’Etude et la Protection de l’Environnement, Cora Ardèche, Ligue de Protection des Oiseaux délégation Loire, Ligue de Protection des Oiseaux délégation Auvergne for the www.faune-auvergne.com database, Atlas des reptiles du Languedoc Roussillon, Deux-Sèvres Nature Environnement. Finally, We want to gratefully thank the large number of herpetologists they kindly accept to give us their observations and help us to realized this work: Damien Aumaitre, Alexandre Boissinot, Olivier Chastel, Marc Cheylan, Dominique Chapus, Romuald Dohogne, Samuel Gagnier, Philippe Geniez, Olivier Gerriet, Eric Graitson, Pierre Grillet Jean-Luc Grossi, Gaëtan Guillet, Laure Isaac, Frédéric Lagarde, Jérôme Legentilhomme, Marc-Antoine Marchand, Jean-Christophe de Massary, Philippe Orsini, Clara Perron, Gilles Pottier, Stéphane Tillo, Jean-Pierre Vacher, Nicolas Varangue and Rob Ween.

We want to thank Alexandre Villiers and Adrien Pinot for their help and advices to use GRASS and R. We thank also David Pinaud for technical discussions.

This research was made possible by the financial support of the ANR (ECTOCLIM project) the “Programme opérationnel plurirégional Loire FEDER” (# PRESAGE 30810), the “Etablissement Public Loire” and the “Parc Naturel Régional de Millevaches en Limousin”.

Supporting information, A-1: Correlative modeling

Pearson correlation matrix between climatic variables of spring (a), summer (b), autumn (c) and winter (d). The biggest coefficient is bold.

a)

	precipitation	max. temp.	delta temp.	adj. irrad
precipitation	/	-0.15	0.20	0.46
max. temp.	#	/	0.53	0.00
delta temp.	#	#	/	0.16
adj. rad	#	#	#	/

b)

	precipitation	max. temp.	delta temp.	adj. irrad
precipitation	/	-0.27	0.06	0.16
max. temp.	#	/	0.65	0.00
delta temp.	#	#	/	0.11
res. rrad	#	#	#	/

c)

	precipitation	max. temp.	delta temp.	adj. irrad
precipitation	/	-0.14	0.09	0.48
max. temp.	#	/	0.55	0.00
delta temp.	#	#	/	0.45
res. rrad	#	#	#	/

d)

	precipitation	max. temp.	delta temp.	adj. irrad
precipitation	/	-0.06	0.24	0.28
max. temp.	#	/	0.47	0.00
delta temp.	#	#	/	0.68
res. rrad	#	#	#	/

Supporting information, Appendix A-2: Correlative modeling

Table 1) Seasonal comparison of models evaluations.

The tables present the mean values of 880 evaluation scores of each method (AUC and TSS) for the asp viper (a) and the common adder (b). The seasonal biggest value is bold.

a)

season	Mean evaluation score	
	AUC	TSS
spring	0.79	0.46
summer	0.80	0.48
autumn	0.80	0.48
winter	0.80	0.48

b)

season	Mean evaluation score	
	AUC	TSS
spring	0.84	0.53
summer	0.87	0.61
autumn	0.81	0.49
winter	0.85	0.58

Table 2) Importance of the four climatic variables: the precipitation (*precipitation*), the seasonal maximum air temperature (*max. temp.*), the seasonal amplitude of air temperature (*delta temp.*) and the seasonal adjusted solar irradiation (*adj. irradi.*). The table a) presents the mean value of coefficients of each season for the asp viper. The table b) presents the summer mean value of coefficients of each method and the average score for the common adder. The biggest coefficients are bold.

a)

	<i>precipitation</i>	<i>max. temp.</i>	<i>delta temp.</i>	<i>adj. irradi.</i>
Spring	0.05	0.27	0.15	0.85
Summer	0.13	0.24	0.13	0.80
Autumn	0.08	0.35	0.07	0.74
Winter	0.06	0.45	0.09	0.76

b)

	<i>precipitation</i>	<i>max. temp.</i>	<i>delta temp.</i>	<i>adj. irrad.</i>
ANN	0.36	1.00	0.26	0.25
CTA	0.31	0.86	0.01	0.24
GAM	0.25	1.04	0.06	0.02
GBM	0.22	0.86	0.00	0.14
GLM	0.26	1.02	0.07	0.03
MARS	0.25	0.95	0.08	0.30
FDA	0.18	1.03	0.20	0.06
RF	0.35	0.73	0.17	0.36
average	0.27	0.94	0.11	0.17

Table 3) Pearson correlation matrix of seasonal adjusted irradiation.

	Spring	Summer	Autumn	Winter
Spring	/	0.95	0.88	0.85
Summer	#	/	0.88	0.81
Autumn	#	#	/	0.96
Winter	#	#	#	/

Supporting information, Appendix B: Mechanistic modeling:

Microclimate model parameterization:

The microclimate model needs to define the habitat and climatic conditions allowed for France.

We assumed a range of percentage of shade (habitat structure) where individual could exploit from 65% to 100% all over France. We assumed 100% of relative humidity for the colder hour of the day that predicted daily relative humidity profiles using the temperature daily profil.

Finally the cloud cover (%) daily profile was constant and corresponds to the montly mean value.

Single site approach to estimate mean body temperature during summer

We compiled all monthly data of summer covering the entire period of the population monitoring (1999 2008) located at Blain. We used the weather stations of Blain, Montoir and Nort-sur-Erdre to collect monthly mean maximum temperature, mean minimum temperature, precipitation and the mean percentage of cloudiness. These four variables correspond to climatic variables used at the France scale.

Supporting information, Appendix C-1: Mechanistic modeling:

Ectotherm model parameterization:

Ectotherm model needs to define specific morphological and behavioral information.

Morphological traits

For both species, we compute the following allometric measurements: max and min solar absorptivity, normal weight, average diameter, the percentage of total body skin area contacting the ground and the mean density. Absorptivity measurements were realized on frozen dead specimens, n= 5 for *V. aspis* and & n= 4 for *V. berus*, based on spectral reflectance from 350 to 2500 nm (~98% of the solar spectrum). Mean body mass was computed based on field data (unpublished data) corresponding to mature but not pregnant females n=252 for *V. aspis* and & n=29 for *V. berus*. Both correspond to literature (Madsen 1988, Zuffi *et al.* 2009). We used 6 ventral pictures for each species to estimate snout-vent length (SVL), total length (TL) and ventral area. Based on these 3 parameters, we follow Brischoux & Shine (2011) to compute average diameter, total body surface and total body volume. These parameters permit to compute the percentage of ventral area contacting substrate and the density for each species.

	<i>Vipera aspis</i>	<i>Vipera berus</i>
Max absorptivity (%)	91	94
Min absorptivity (%)	88	89
Mean body Mass (g)	76.7	73.9
Mean SVL (cm)	48.9	48.9
Mean Total length (cm)	55.7	55.1
Mean total surface area (cm ²)	361.7	328.2
Mean ventral area (cm ²)	75.90	71.62
Mean average diameter (cm)	2.1	1.9
Mean Ventral area contacting substrate (%)	21.0	21.8
Mean density (kg/m³)	390.7	458.2

Summary of morphological traits compute and used (in bold) for ectotherm model

Behavioral traits

We assume that species was able to burrow underground, to seek ground shade but not able to climb to cool and without crepuscular activities. We consider the minimum and the maximum voluntary temperature core as 28 and 33°C for both species based on mean body temperature records of both species (Forsman 1995; Ladyman *et al.* 2003; Lourdais *et al.* in prep A1). However, contrasted behavioral performance traits on thermoregulation observed between

species (Lourdais et al. in prep A1) is not supported by the model. We assumed that thermoregulation performance is equal between species. Consequently, species have close body temperature profile due to close morphological traits and differ in performances only by supposed adaptive traits measured (metabolism rate, evaporative water loss and parturition date).

Supporting information, Appendix C-2: Mechanistic modeling:

Ectotherm model parameterization:

Standard metabolic rate equations based on data in Lourdais et al.(in prep A1).

Tb : Body Temperature (°C)

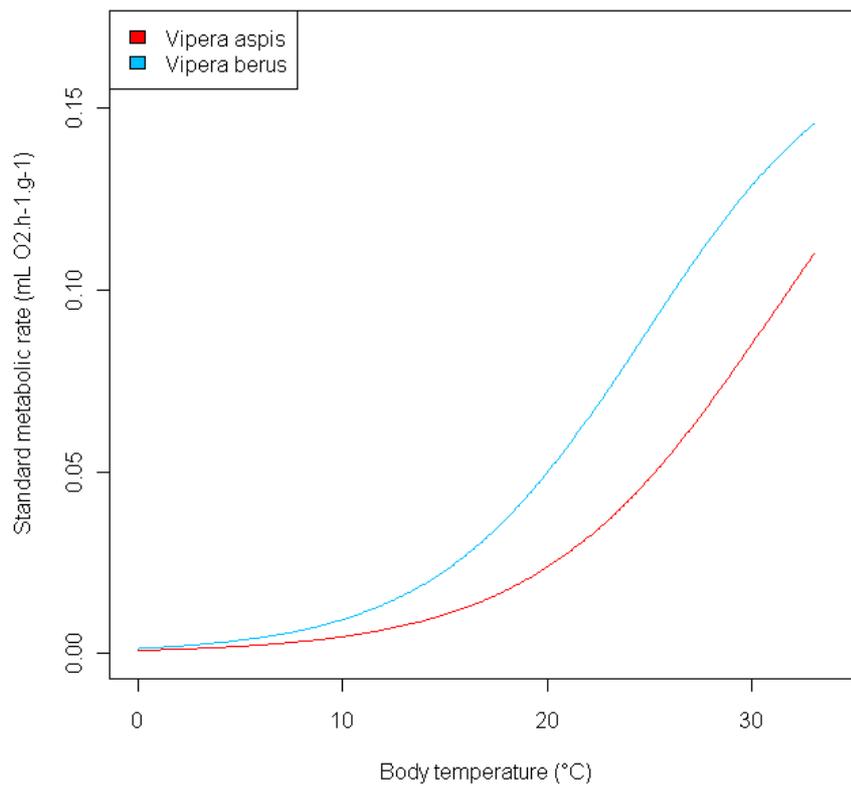
O2 : O2 consumption (mL O2.h-1.g-1)

Vipera aspis :

$$O_2 = 0.1905 / (1 + \exp(5.4238 - 0.1738 * T_b))$$

Vipera berus :

$$O_2 = 0.17453 / (1 + \exp(4.82727 - 0.19548 * T_b))$$



Supporting information, Appendix C-3: Mechanistic modeling:

Ectotherm model parameterization

Total evaporative water loss equations based on data in Guillon et al. (in prep A2).

Tb : Body temperature (°C)

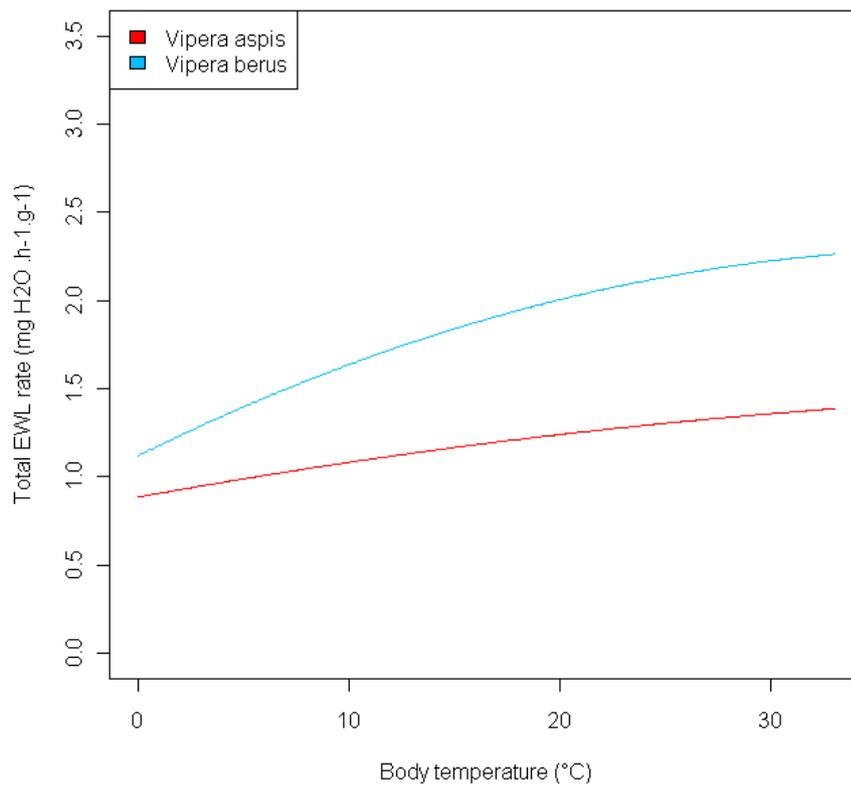
H2O : Total EWL rate (mg H2O.h-1.g-1)

Vipera aspis :

$$H2O = 0.8856813 + 0.0216937 * Tb - 0.0001973 * Tb^2$$

Vipera berus :

$$H2O = 1.1184567 + 0.0592376 * Tb - 0.0007453 * Tb^2$$



Supporting information, Appendix C-4: Mechanistic modeling:

Ectotherm model parameterization:

Parturition date equations based on 1999 to 2008 field monitoring data in Lourdais et al. b (in prep Chap I.2).

Tb : Mean summer body temperature (°C)

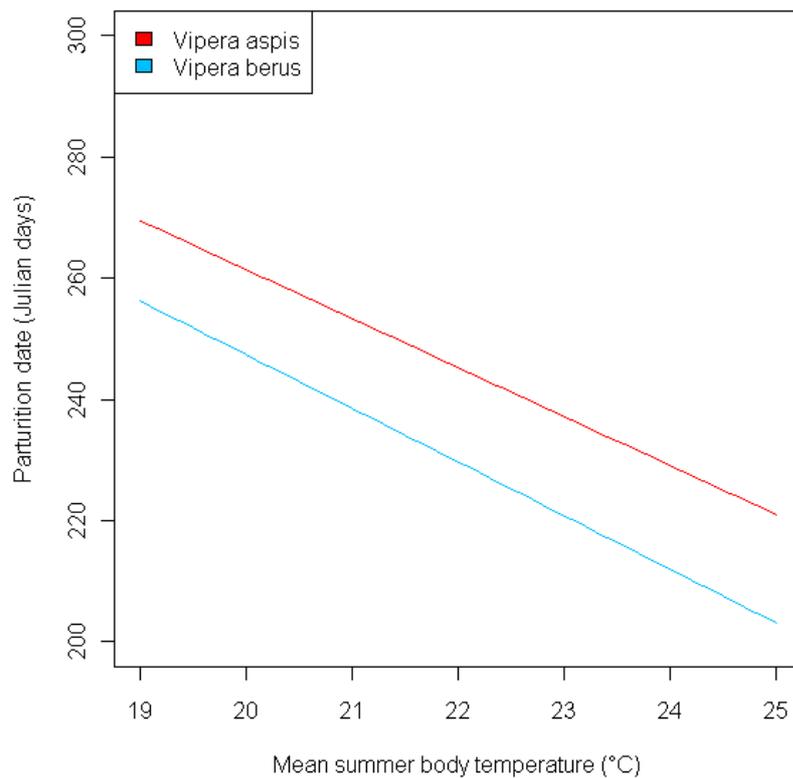
PD : parturition date (Julian days)

Vipera aspis :

$$PD = -8.0856 * Tb + 423.14$$

Vipera berus :

$$PD = -8.8553 * Tb + 424.5$$



Chapitre III

Approche diachronique de la distribution d'une relique glaciaire : implications en termes de conservation



Résumé du chapitre III

Dans les chapitres précédents, nous avons démontré l'importance du climat actuel sur la distribution de la vipère péliade (*V. berus*). Dans ce chapitre, nous abordons les effets des variations climatiques passées et l'impact des projections climatiques futures sur l'espèce, afin de mieux cerner la persistance de cette relique glaciaire et d'apporter des éléments utiles à sa conservation dans les landes et tourbières du Massif central.

Notre premier objectif a été d'évaluer les conséquences du dernier maximum glaciaire sur la diversité et les affinités génétiques des populations de *V. berus* présentes à l'échelle du sous-clade de l'Europe de l'Ouest. Les éléments obtenus nous ont permis de formuler des hypothèses sur les zones refuges durant le dernier maximum glaciaire (nombre et localisation) et les voies de recolonisation post-glaciaire. Les analyses génétiques réalisées montrent que les plus fortes diversités génétiques se situent dans les populations échantillonnées dans l'Ouest de la France ainsi que dans le Massif central. Nous avons également pu montrer que les populations du Massif central sont au centre des affinités génétiques et présentent deux entités distinctes (populations du Nord-Ouest versus Sud-Est). Nous émettons l'hypothèse d'une localisation du refuge glaciaire de l'espèce au sud du Massif central d'où l'espèce aurait recolonisé les zones actuelles par l'Ouest vers le Nord et par l'Est vers le Jura et les Alpes. De nombreuses espèces à affinités climatiques froides présentent des refuges d'altitudes aux limites Sud de leur aire de distribution. C'est le cas en France où *V. berus* est présente dans les zones d'altitude du Massif central, isolée du reste de son aire de distribution.

Notre second objectif a été de modéliser, à une fine échelle spatiale, la distribution actuelle de l'espèce dans le Massif central afin d'évaluer l'impact des changements climatiques futurs sur sa persistance. Les modèles corrélatifs soulignent une forte dépendance aux températures estivales. Les projections suggèrent un effet drastique de modifications climatiques futures sur la distribution de l'espèce. Ainsi, une augmentation moyenne d'environ 1°C par rapport aux conditions actuelles devrait générer une régression de 76.2% de l'aire de distribution potentielle de l'espèce. L'espèce est prédite comme éteinte lorsque l'on utilise les projections complètes issues du scénario B1 correspondant aux moyennes climatiques entre 2071 et 2100 (soit environ 4°C d'augmentation). Les secteurs du Massif du Sancy, les monts du Vivarais, le haut plateau du Forez et le sud de la Margeride

correspondent à des zones refuges où l'espèce a le plus de chances de persister à moyen terme.

Chapitre III.1. Recolonisation post-glaciaire de la vipère Péliade (*Vipera berus*) dans l'Europe de l'ouest

III.1.1. Contexte

Pour comprendre la distribution actuelle des espèces, il est important de comprendre l'histoire de leur distribution (Glor & Warren 2010). Les modifications majeures passées ont largement contraint la distribution des espèces et notamment celle du dernier maximum glaciaire (entre -23 à -18 k. ans), où les conditions climatiques froides ont provoqué un déplacement altitudinal et latitudinal considérable des biomes (Hewitt 2004). Toutefois toutes les espèces n'ont pas réagi de la même façon. Par exemple, les espèces boréales peuvent être considérées comme des « reliques glaciaires » (Varga & Schmitt 2008) au Sud de leur distribution. Elles présentent un intérêt pour tester l'hypothèse des refuges méditerranéens (Taberlet et al. 1998 ; Hewitt 2000) et adresser l'hypothèse alternative de refuges plus nordiques dits « cryptiques » (Stewart & Lister 2001; Provan & Bennett 2008).

Les études génétiques ont largement été utilisées pour adresser ces questions. Même si les caractéristiques génétiques des populations sont liées au contexte local actuel et à l'écologie des espèces, elles reflètent également les événements passés. En effet, ces paramètres sont fortement influencés par les facteurs démographiques, ainsi que par les modifications de distribution. Par exemple, lors d'événements de colonisation, la théorie prédit une perte de diversité génétique. Ainsi, les populations périphériques devraient présenter des diversités génétiques plus faibles que les populations proches des zones de refuges. La diversité génétique est un paramètre à prendre en compte car il peut impacter la persistance d'une population (Madsen et al. 1999). Toutefois, les populations périphériques peuvent également présenter une forte importance en termes de conservation, notamment dans le contexte actuel des changements climatiques. En effet, ces populations peuvent par exemple représenter des refuges futurs pour l'espèce. Comparé à l'ADN mitochondrial, l'ADN nucléaire (microsatellitaire) permet d'adresser, à plus fine échelle, la structuration génétique des populations et par conséquent d'adresser l'impact d'événements plus récents comme celui du dernier maximum glaciaire.

Le lien fort qui lie les conditions climatiques et la persistance des ectothermes terrestres, additionné à des capacités de dispersion limitées, font que la structuration génétique des populations de *V. berus* devrait bien refléter les contraintes passées. Ainsi, notre objectif a été d'évaluer les conséquences du dernier maximum glaciaire sur la diversité et les affinités

génétiques des populations de *V. berus* présentes à l'échelle du sous-clade de l'Europe de l'Ouest. Les résultats nous ont permis de formuler des hypothèses sur le nombre de zones refuge utilisé par l'espèce durant le dernier maximum glaciaire, leur localisation et les voies de recolonisation post-glaciaire.

III.1.2. Méthode

La diversité génétique a été estimée au sein de 32 populations totalisant 602 *V. berus* (entre 5 et 30 individus par localisation) originaire de France, Suisse, Allemagne, Belgique et des Pays-Bas (Table 1.). Ces populations ont été groupées en 5 régions (le Massif central, la côte Atlantique, le Jura, les Alpes et le Nord-est) correspondant à des affinités géographiques différentes. Notre contribution à cette étude s'est concentrée, à l'échelle du Massif central, à échantillonner 9 populations sur les 10 inventoriées au total sur ce secteur. Ceci représente ainsi 148 individus supplémentaires à la banque de données (pour plus d'information, se référer dans le matériel et méthode au paragraphe 4 Génétique des populations)

III.1.3. Résultats

Diversité génétique

Nous avons estimé la diversité génétique en utilisant 9 marqueurs microsatellites. Parmi eux, aucun locus n'est en déséquilibre lié mais l'occurrence d'allèles nuls a été détectée dans plusieurs populations du Massif central et de la côte atlantique (pour les loci Vb-B10 et Vb-B18), mais également pour le VbB'2 uniquement dans le Massif central. Ainsi nous avons retiré ces 3 loci des analyses.

L'évaluation de la diversité génétique de chaque population est présentée dans la table 1. La richesse allélique est significativement plus forte au sein des populations de la côte Atlantique (4.06) et du Massif central (3.62) comparée à celle du Jura (2.70 sans la population TI), des Alpes (2.57 sans la population SA) ou de la région Nord-Est (France et Belgique : 2.46 sans la population ME) ($ANOVA_{4,181} = 10.09$; $p < 0.001$; test *Post hoc* de Tukey). Un résultat identique a été trouvé pour l'hétérozygotie espérée ($ANOVA_{4,181} = 11.74$; $p < 0.001$). Une très faible diversité génétique a été trouvée dans les populations SA et TI (respectivement $Ar = 1.10$ et 1.35). Une seule structure intra-populationnelle significative (F_{IS}) a été trouvée dans la Pop 1 (Lozère).

Affinités et différenciation génétique entre les populations

Nous avons trouvé une différenciation génétique significative entre 94% des populations (valeur de F_{ST} moyenne: 0.34 ± 0.16 , min = 0.02, max = 0.87). Les valeurs de F_{ST} les plus faibles ont été trouvées dans la population Pop2 (Aubrac) et Pop24 (Ardennes), probablement dû au nombre trop limité d'individus échantillonnés (respectivement $n=9$ et $n=5$). Les valeurs de F_{ST} moyenne sont les plus faibles pour les populations du Massif central (0.26), ainsi que pour la région de la côte Atlantique (0.23) en comparaison des populations du Jura (0.35), des Alpes (0.37) et du Nord-Est (0.40). L'AMOVA montre que 57% de la variation génétique est distribuée au sein des individus, 10% entre les individus, 25% entre les populations et 8% entre les régions.

Noms	Régions	Pays	n	Ar	He
	Massif central	France	17	3.36	0.63
	Massif central	France	9	4.02	0.63
	Massif central	France	17	4.14	0.68
	Massif central	France	16	3.83	0.68
	Massif central	France	21	3.74	0.62
	Massif central	France	19	2.94	0.46
	Massif central	France	15	3.82	0.69
	Massif central	France	18	3.44	0.60
	Massif central	France	18	3.89	0.61
	Massif central	France	16	3.03	0.55
Sous-total	Massif central		166	3.62	0.61
	Côte Atlantique	France	17	3.96	0.68
	Côte Atlantique	France	18	4.23	0.68
RE	Côte Atlantique	France	20	3.99	0.65
Sous-total	Côte Atlantique		55	4.06	0.67
AM	Jura	Suisse	25	2.78	0.39
CH2	Jura	Suisse	30	3.11	0.54
RO	Jura	Suisse	14	2.43	0.44
FR2	Jura	Suisse	24	3.32	0.54
PM	Jura	Suisse	28	1.85	0.29
TI	Jura	Allemagne	21	1.35	0.09
Sous-total	Jura		121	2.70	0.44
SA	Alpes	France	8	1.10	0.02
DL	Alpes	Suisse	30	2.39	0.40
HO	Alpes	Suisse	23	2.59	0.44
UR	Alpes	Suisse	20	2.73	0.45
Sous-total	Alpes		73	2.57	0.43
	Région nord-est	France	5	2.33	0.35
	Région nord- est	Belgique	18	2.84	0.49
	Région nord- est	Belgique	11	1.80	0.17
	Région nord- est	France	16	2.47	0.42
	Région nord- est	France	17	3.43	0.61
	Région nord- est	France	18	2.57	0.46
	Région nord- est	France	21	2.37	0.36
	Région nord- est	France	23	1.82	0.26
ME	Région nord- est	Pays-Bas	29	2.51	0.35
Sous-total	Région nord- est		158	2.46	0.39
Total	Sous-Clade "Ouest"		602		

Table 1 : Diversité génétique mesurée chez les différentes populations échantillonnées. Les populations sont regroupées par région afin de présenter le nombre d'échantillons analysés (n) ainsi que les résultats de richesse allélique (Ar) et d'hétérozygotie espérée (He).

Relation entre les populations

La distance génétique entre chaque population démontre la position « centrale » des populations du Massif central par rapport aux autres populations échantillonnées. Dans cette région, deux groupes se différencient, l'une dans le Sud-Est (Pop1, 4, 6 et la 3 de manière plus marginale) et les autres dans le Centre, le Nord et l'Ouest de cette région (Figure 1.). De plus, les populations de la région Nord-Est et celles des Alpes et du Jura constituent deux groupes distincts sans relation (Figure 1.). Les populations de la côte Atlantique semblent intermédiaires entre celles du Massif central d'une part, et celles de la région Nord-Est (Figure 1.).

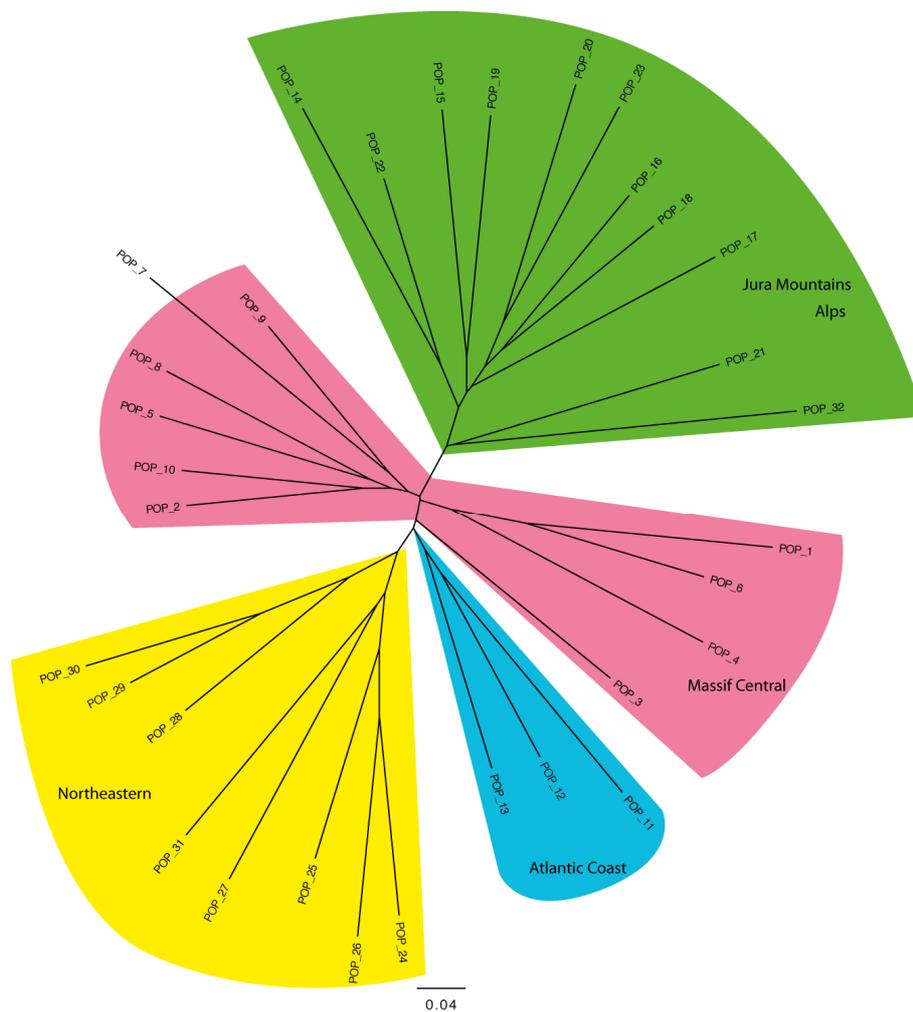


Figure 1 : Arbre phylogénétique représentant les relations génétiques calculées entre les 32 populations échantillonnées. La distance génétique représente la distance de corde suivant Cavalli-Sforza & Edwards (1967). Ainsi, plus deux populations se retrouvent éloignées dans l'arbre phylogénétique et plus elles présentent des distances génétiques importantes. Ainsi les populations du Nord-Est (jaune) sont les plus éloignées des populations des Alpes et du Jura (vert). Au contraire, les populations du Massif central (rose) sont les plus proches de toutes les populations. Les populations de la côte Atlantique (bleu) sont intermédiaires entre celles du Massif central (rose) et du Nord-Est (jaune).

Réduction de la diversité génétique et isolation par la distance

En comparant la diversité génétique et la position géographique des populations, nous avons trouvé une relation significative entre la richesse allélique et la latitude ($r^2 = 0.191$; $p = 0.014$), ainsi que pour la longitude ($r^2 = 0.325$; $p < 0.001$). Des résultats similaires ont été obtenus avec l'hétérozygotie espérée et la position géographique des populations. En considérant d'une part, que les populations de la région Nord-Est sont probablement plus proche des populations de la côte Atlantique (groupe Nord) et que les populations des Alpes et du Jura sont probablement issues d'une zone du Massif central (groupe Sud), nous avons estimé séparément pour ces deux groupes la relation entre la diversité génétique et la position géographique des populations. Nous avons trouvé de plus fortes corrélations entre la richesse allélique et la latitude et la longitude pour les deux groupes (groupe Nord : Ar/longitude : $r^2 = 0.581$; $p = 0.006$; Ar/latitude : $r^2 = 0.698$; $p = 0.001$; groupe Sud : Ar/longitude : $r^2 = 0.621$; $p < 0.001$; Ar/latitude : $r^2 = 0.538$; $p < 0.001$) (Figure 2).

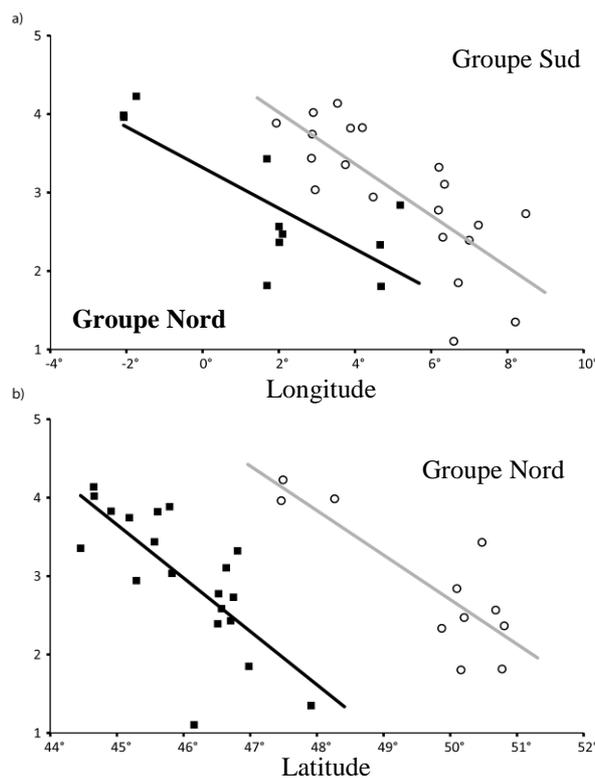


Figure 2. Relation entre la richesse allélique et la localisation des populations en fonction de la longitude et de la latitude. Le jeu de données a été séparé en deux groupes : le « groupe Nord » correspond aux populations du Nord-Est et de la côte Atlantique alors que le « groupe Sud » correspond aux populations du Massif central, du Jura et des Alpes.

Localisation du refuge glaciaire et des voies de recolonisation post-glaciaire

En combinant les informations de diversité génétique et des liens entre populations, il est possible de proposer des hypothèses sur la localisation des refuges glaciaires et les voies de colonisation. Ainsi il semble que la localisation du (ou des) refuge(s) glaciaire(s) de l'espèce soit au Sud / Sud-Ouest du Massif central. Les liens entre les populations montrent la situation centrale du Massif central (Figure 1) avec 2 groupes distincts (Nord-Ouest *versus* Sud-Est) (Figure 1., 2.b et 3.). Notre scénario est illustré dans la Figure 4. où un refuge (possiblement séparé en deux) engloberait le sud du Massif central. L'espèce aurait recolonisé le Nord par l'Ouest et les Alpes/Jura par l'Est (Figure 4) à partir de cette zone refuge.

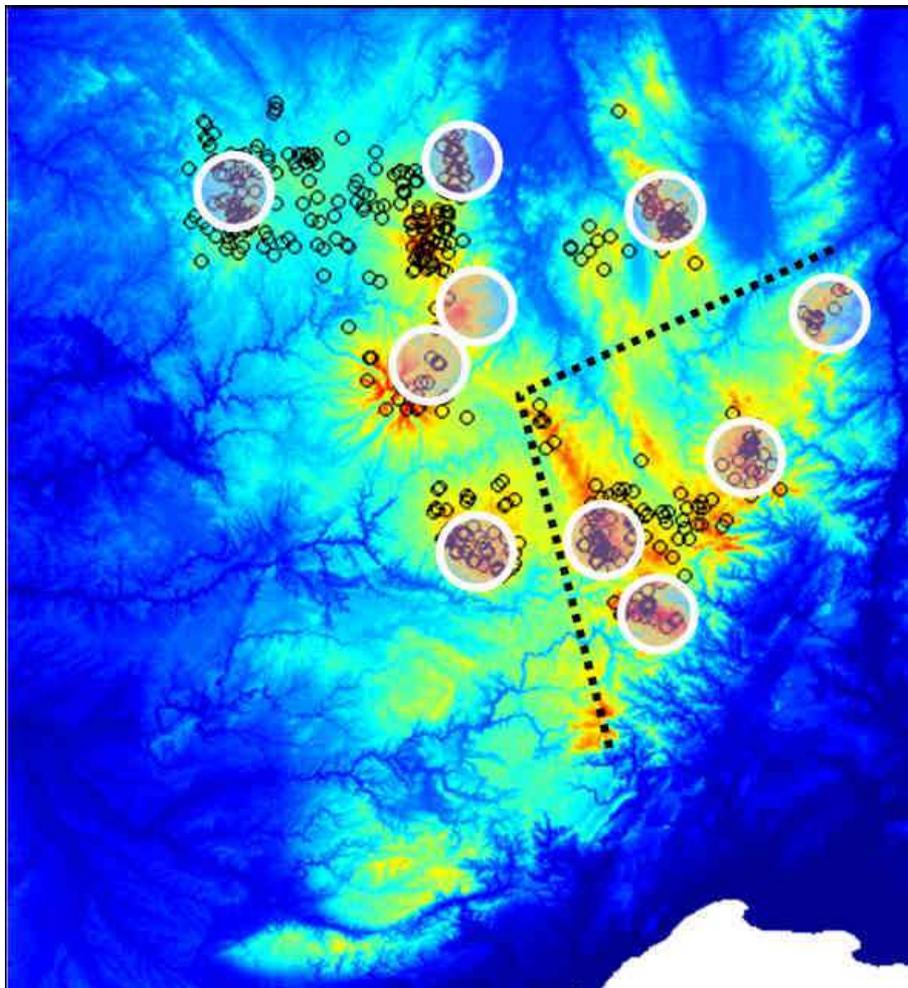


Figure 3. Localisation des 10 populations (cercles blancs) échantillonnées dans le Massif central. Le trait pointillé sépare les deux entités populationnelles possédant des relations génétiques distinctes.

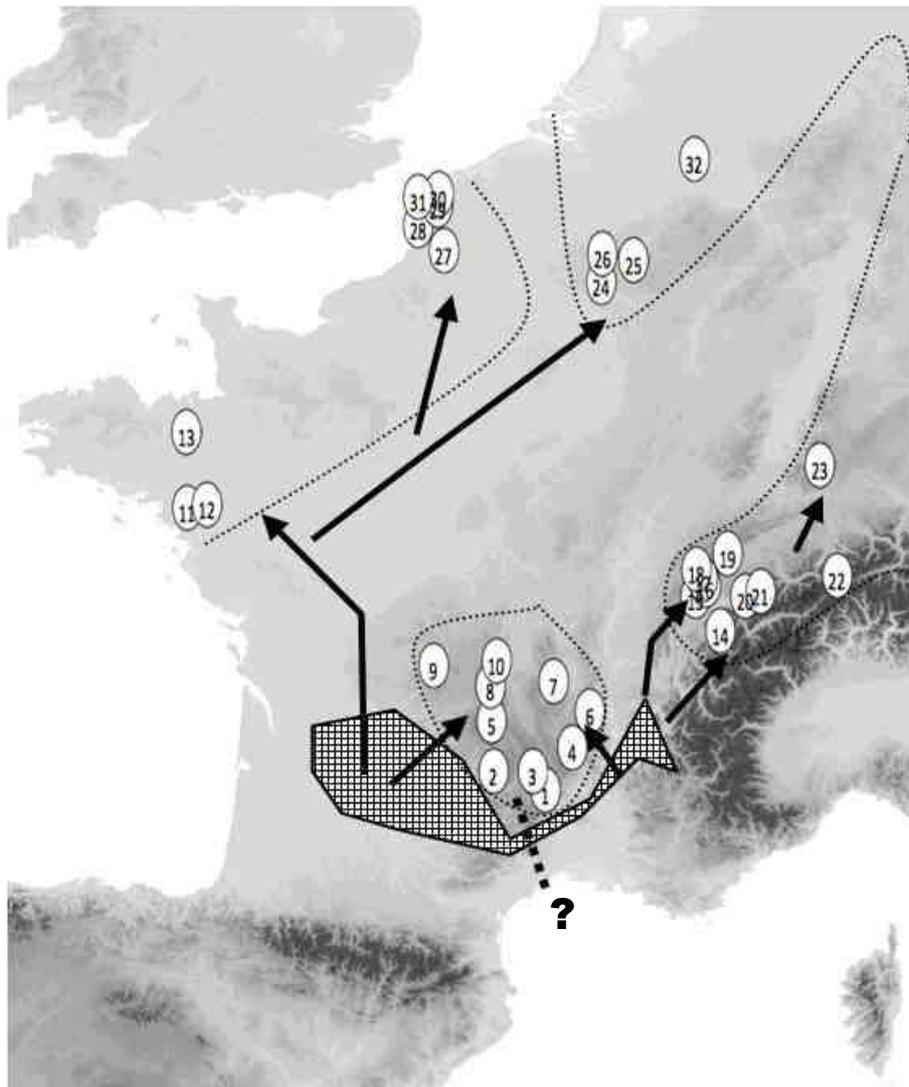


Figure 4. Localisation des populations à l'échelle du sous-clade « Ouest ». Les lignes finement pointillées représentent les limites générales de distribution de l'espèce. La localisation du refuge glaciaire potentiel est représentée par la zone cadrée. Les flèches représentent les voies de colonisation post-glaciaire proposées. La possible séparation du refuge glaciaire est représentée par un trait en pointillé associé à un point d'interrogation.

Nous avons toutefois des incertitudes sur le nombre de refuges. Des analyses complémentaires sont en cours afin de valider l'existence d'un seul refuge ou bien de deux zones distinctes.

III.1.4. Discussion

Nos résultats nous donnent des éléments de réponses sur l'histoire de la répartition de *V. berus* depuis le dernier maximum glaciaire. Les contraintes climatiques fortes ont entraîné comme pour la plupart des espèces un glissement de la distribution vers le sud. Grâce à ses adaptations aux climats froids, l'espèce semble avoir trouvé des refuges dits « cryptiques » en

dehors des refuges classiques localisés dans les péninsules méditerranéennes (Stewart & Lister 2001 ; Provan & Bennett 2008). Ainsi, nos résultats confirment la présence de ces refuges nordiques pendant le dernier maximum glaciaire, localisés au Sud du Massif central et en cohérence avec les études menées chez d'autres espèces (Banks et al. 2008 ; Svenning et al. 2008 ; Habel et al. 2010)

L'existence de ce refuge nous indique une recolonisation post-glaciaire beaucoup moins rapide que celle supposée par Taberlet et collaborateurs (1998) (« paradoxe de Reid » ; Clark et al. 1998). En effet, l'espèce, et notamment les populations du groupe du Nord, n'ont pas colonisé l'Angleterre par la manche alors que la mer a séparé vraisemblablement les deux pays vers -6000 ans (Waller & Long 2003).

Nos résultats permettent également de mieux comprendre la distribution actuelle de l'espèce. Par exemple, les modèles de répartition prédisent que l'espèce pourrait être présente (du fait de conditions climatiques favorables) dans les Vosges ou sur le Mont Aigoual (relief au sud du Massif central). Du fait des voies de colonisation et du temps de colonisation, l'espèce n'a probablement pas pu (absence de corridor climatique) coloniser les Vosges. En effet, d'autres espèces de climat froid mais possédant des capacités de dispersion plus importantes (papillons) ont réussi à coloniser les Vosges (Habel et al. 2010) Du fait de la localisation du refuge glaciaire, *V. berus* aurait dû coloniser le Mont Aigoual. Son absence serait possiblement liée à des phénomènes d'extinctions plus récents comme par exemple suite aux réchauffements durant l'optimum climatique holocène (-7000 à -4000 ans).

Toutefois il reste des questions à adresser comme par exemple son absence dans les Pyrénéens ou encore l'origine des populations du sud des Alpes françaises disparues au début du siècle dernier (Orsini 1984).

Ces informations nous donnent également l'occasion de montrer l'importance, en termes de conservation, des populations du Massif central à l'échelle européenne (sous-clade génétique de l'Ouest). En effet, ces populations sont les plus proches génétiquement des populations ancestrales (refuges) mais également les plus diversifiées génétiquement. Enfin, l'existence de 2 entités génétiques distinctes à l'échelle du Massif est un élément important à prendre en compte dans les stratégies de conservation de l'espèce.

Chapitre III.2. « Locked in the South » : Impact du changement climatique sur la distribution d'une relique glaciaire.

III.2.1. Contexte

Alors que 2012 correspond à la fin du protocole de Kyoto et à l'année du 4^{ème} sommet pour la terre « Rio+20 », l'un des défis actuels est de lutter contre l'érosion de la biodiversité (Thomas et al. 2006) face aux changements globaux (IPCC 2007). Afin d'évaluer l'impact des perturbations du climat sur la biodiversité, il est important de prédire les réponses des espèces face aux modifications climatiques futures pour orienter les stratégies de conservation.

L'impact des changements climatiques ne devrait pas être uniforme sur la biodiversité (Deutsch et al. 2008) mais dépendre de l'amplitude des variations et des propriétés des espèces (Portner & Farrel 2008). Les espèces adaptées au climat froid semblent particulièrement sensibles aux changements climatiques. Les modifications climatiques actuelles ont déjà généré une régression des marges de distribution altitudinale ou latitudinale des espèces spécialistes des climats froids (Franco et al. 2006 ; Lepetz 2009). Les espèces présentes dans des refuges d'altitudes localisés en Sud de répartition peuvent être « bloquées » dans leur « archipel climatique » et présentent des risques d'extinction particulièrement importants. Les espèces du groupe « *pelias* » correspondent à ce cas de figure avec de nombreux refuges d'altitudes, correspondant souvent aux limites Sud d'aire de distribution. En France *V. berus* est présente dans les landes et tourbières d'altitude du Massif central. Cette poche est complètement isolée du reste de l'aire de distribution.

L'objectif de cette étude a été i) de modéliser, à une fine échelle spatiale, la distribution actuelle de l'espèce dans le Massif central puis ii) d'évaluer l'impact des changements climatiques futurs sur sa distribution.

III.2.2. Méthode

Afin de réaliser des analyses à une fine échelle spatiale nous avons bénéficié d'un ensemble de données, soit issues de bases de données associatives soit d'observations ponctuelles d'herpétologues. Nous avons ainsi regroupé 787 points d'observations (GPS ou

lieux–dit) différents de *V. berus* à l'échelle du Massif central, correspondant à une précision spatiale au moins égale à 4ha (pixel de 200m de côté).

Nous avons utilisé la température moyenne et le cumul des précipitations issues des moyennes climatiques actuelles (période 1971-2000) et une projection future correspondant à une réponse moyenne sur la période de 2071 à 2100. Ces données se basant sur le scénario socio-économique B1 (le plus modéré) proposé par le « Intergovernmental Panel on Climate Change » utilisé dans le dernier rapport des estimations (IPCC, 2007). Nous avons également utilisé l'irradiation potentielle et l'indice de nébulosité comme variables complémentaires, mais en l'absence de prédictions futures sur la nébulosité, nous avons maintenu ce paramètre constant. Nous n'avons utilisé que la saison la plus explicative d'après les résultats des analyses à l'échelle de la France

Nous avons utilisé la méthodologie que dans le Chapitre II, impliquant un ensemble de différentes méthodes statistiques se basant sur un consensus de prédictions, prenant en compte les incertitudes liées au choix des méthodes (BIOMOD ; Thuiller et al. 2009).

Afin de cartographier la distribution de *V. berus* à l'échelle du Massif central, nous avons utilisé les prédictions d'occurrence pondérée en fonction de la qualité d'évaluation de chacun des 880 modèles. Nous avons ensuite utilisé ces cartes pour prédire la distribution future de l'espèce.

III.2.3. Résultats

Nous avons choisi d'utiliser les variables climatiques estivales correspondant à la saison la plus explicative à l'échelle de la France (Chapitre II). Cette approche devrait nous permettre de prédire au mieux la distribution actuelle de *V. berus* à fine échelle, mais également son évolution future face au scénario de changements climatiques.

III. 2. 3. 1. Distribution actuelle de l'espèce dans le Massif central

Evaluation des modèles et importance des variables

Les évaluations des modèles présentent des scores élevés pour l'ensemble des méthodes qui présentent des TSS > à 0.8 et des ROC > 0.9 (Figure 5.). En moyenne, les scores des évaluations sont de 0.81 ± 0.02 pour la TSS et 0.95 ± 0.02 pour la ROC montrant une très bonne qualité des prédictions. Pour des raisons statistiques, nous n'avons pas pu obtenir de résultats pour la méthode ANN qui ne sera pas prise en compte dans les résultats.

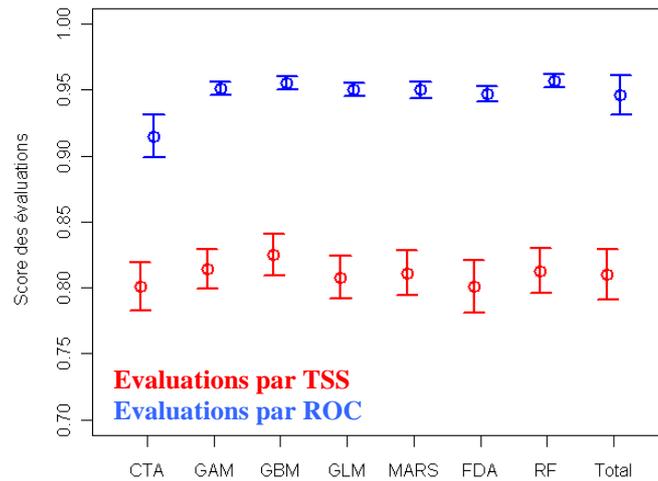


Figure 5. Evaluations des prédictions en fonction des méthodes. Les 7 méthodes statistiques sont représentées en abscisses ainsi que l'évaluation globale de l'ensemble des modèles (« Total »). Les points représentent la moyenne des évaluations avec leur écart type.

Le calcul de l'importance relative des quatre variables utilisées montre que la température moyenne estivale est la variable la plus explicative pour prédire la distribution de *V. berus* dans le Massif central (Table 2). Les précipitations estivales ainsi que la nébulosité jouent un rôle beaucoup moins important en moyenne (Table 2).

	Précipitation	Température	Irradiation	Nébulosité
CTA	0.148	0.943	0.006	0.159
GAM	0.031	0.941	0.000	0.039
GBM	0.033	0.898	0.003	0.055
GLM	0.067	0.962	0.000	0.043
MARS	0.322	0.818	0.034	0.241
FDA	0.121	0.978	0.026	0.023
RF	0.187	0.866	0.113	0.197
Moyenne	0.130	0.915	0.026	0.108

Table 2. Importance moyenne des variables sur les prédictions pour chacune des méthodes utilisées.

Modélisation de la distribution actuelle de l'espèce

Nous avons ainsi pu projeter les prédictions de nos modèles à l'échelle de la zone d'étude, en utilisant les données climatiques actuelles pour modéliser la distribution de *V. berus* (Figure 6). Cette modélisation permet de montrer le caractère très morcelé de la distribution de l'espèce dans le Massif central. Parmi les plus importantes on retrouve un secteur allant du plateau de Millevaches au plomb du Cantal. De plus, l'espèce est prédite dans certains

secteurs où les connaissances locales nous permettent de dire qu'elle n'est pas présente. C'est notamment le cas au sud de la Lozère où l'espèce est prédite comme présente mais avec toutefois des probabilités assez faibles.

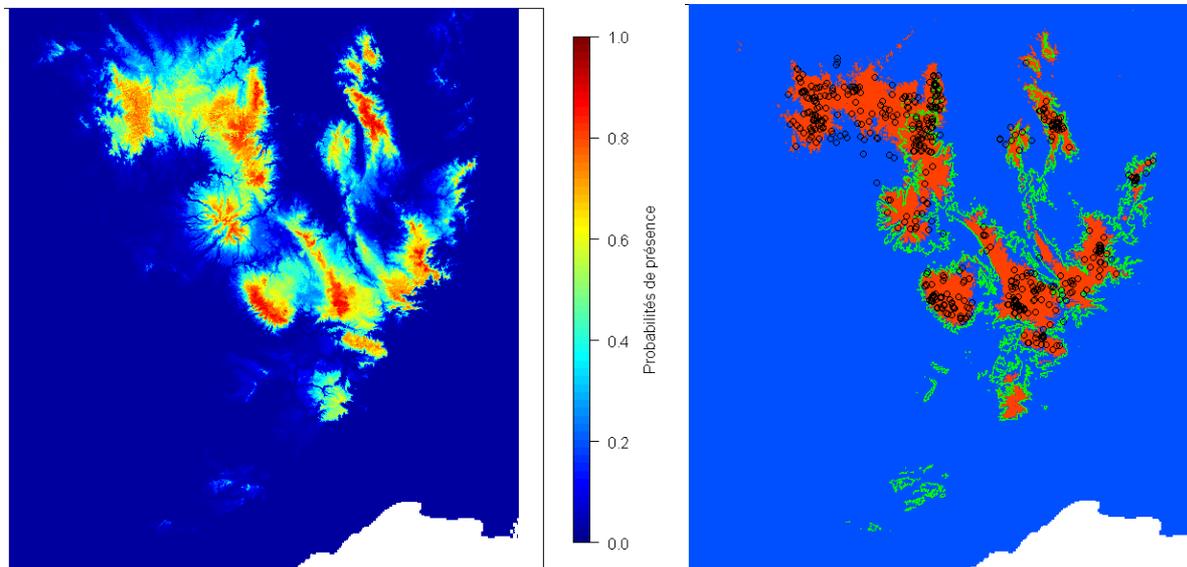


Figure 6. Prédiction de la distribution actuelle de la vipère péliade dans le Massif central. Probabilités de présence de l'espèce (à gauche) ainsi que l'occurrence (présence en rouge / absence en bleue) issues de l'ensemble des prédictions pondérées (à droite). A droite figurent les points d'observations de l'espèce (o) et les lignes vertes délimitent les secteurs d'altitude au moins égale à 1000m.

III. 2. 3. 2. Réponse aux changements climatiques

Choix des scénarii

En plus du scénario utilisé (B1) nous disposons de 3 autres scénarii supplémentaires pour tester les effets des changements globaux sur la distribution de l'espèce : A1F1, A2 et B2. Les A1F1 et A2 sont les modèles qui prédisent les plus forts changements (environ + 8°C) sur la zone d'étude et le scénario B2 avait une position intermédiaire (environ + 6°C). Du fait de l'importance des changements climatiques, tous ces scénarios prédisent la disparition de l'espèce à terme (2071/2100). Nous avons ainsi préféré être plus conservateur en utilisant le scénario le plus modéré (B1) et orienter notre étude sur la réponse spatiale de l'espèce en quantifiant pas à pas la régression de sa distribution.

Variations climatiques associées au scénario B1

Pour évaluer l'évolution de la distribution de l'espèce entre le climat actuel et les projections futures (2071/2100 scénario B1), nous avons ajouté 3 étapes intermédiaires représentant 25% 50% et 75% des projections futures (Figure 7).

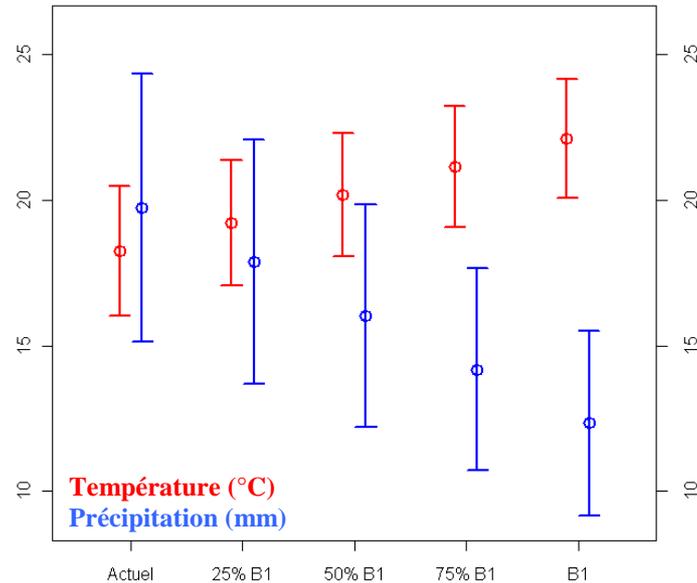


Figure 7. : Modifications des conditions climatiques à l'échelle du site d'étude. Moyennes et écart type des températures moyennes estivales (rouge, échelle des ordonnées à gauche) et des précipitations estivales (bleu, échelle des ordonnées à droite) pour le climat actuel (moyennes climatiques de 1971/2000) et futur pour les projections B1 (moyennes climatiques de 2071/2100) ainsi que les étapes intermédiaires testées (25% 50% et 75% de B1).

Le scénario B1 prévoit pour la période 2071/2100 à l'échelle de la zone d'étude, une augmentation de 3.87 ± 0.52 °C des températures moyennes estivales (soit 0.97 ± 0.13 °C d'augmentation pas à pas), et une diminution de 7.40 ± 1.99 mm des précipitations estivales (soit 1.85 ± 0.50 mm de diminution pas à pas). Toutefois, il existe une hétérogénéité spatiale dans ces variations (Figure 8). En effet, les zones d'altitudes font partie des secteurs les plus impactés par l'augmentation de la température et par la diminution des précipitations.

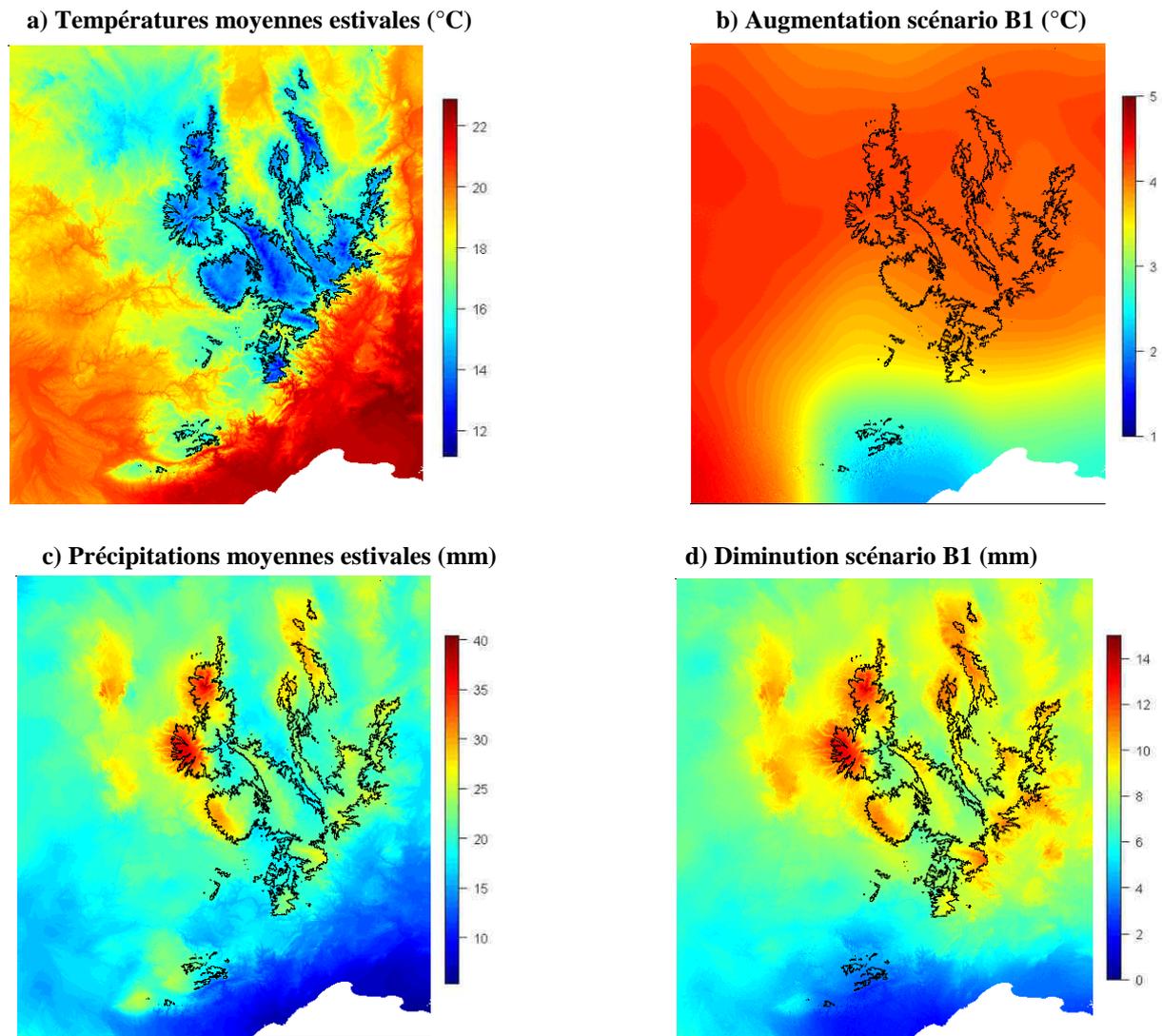


Figure 8. : Hétérogénéité spatiale des conditions climatiques actuelles et des modifications futures. Températures moyennes estivales actuelles (a) et augmentation prédite par le scénario B1 (b). Précipitations estivales actuelles (c) et diminution prédite par le scénario B1 (d). Les lignes noires délimitent les secteurs d'altitude $\geq 1000\text{m}$.

Effets des changements climatiques sur la distribution de l'espèce

Nous avons ensuite projeté les prédictions de nos modèles en considérant les quatre étapes de changements climatiques. Ainsi, les réponses de nos modèles face à ces modifications climatiques prédisent des modifications drastiques et brutales de la distribution de l'espèce (Table 3.). Ainsi dès la première étape, correspondant à 25% des changements climatiques proposés par le scénario B1, (soit 0.97 ± 0.13 °C d'augmentation), on observe une régression de 76.2% de l'aire de distribution potentielle de l'espèce, passant ainsi de 9300 km² à 2174 km² (Figure 9). A 50% des modifications climatiques, 96.5% de l'aire de distribution potentielle initiale a disparu. A 75% des changements climatiques, il ne reste que 0.09% de la distribution, représentant 9.2 km² se répartissant par ordre décroissant de surface entre le

massif du Sancy, les monts du Vivarais, le haut plateau du Forez et le sud de la Margeride (Figure 10). L'espèce est prédite comme éteinte lorsque l'on utilise les projections complètes issues du scénario B1, correspondant à 3.87 ± 0.52 °C d'augmentation à l'échelle de la zone d'étude (Table 3.).

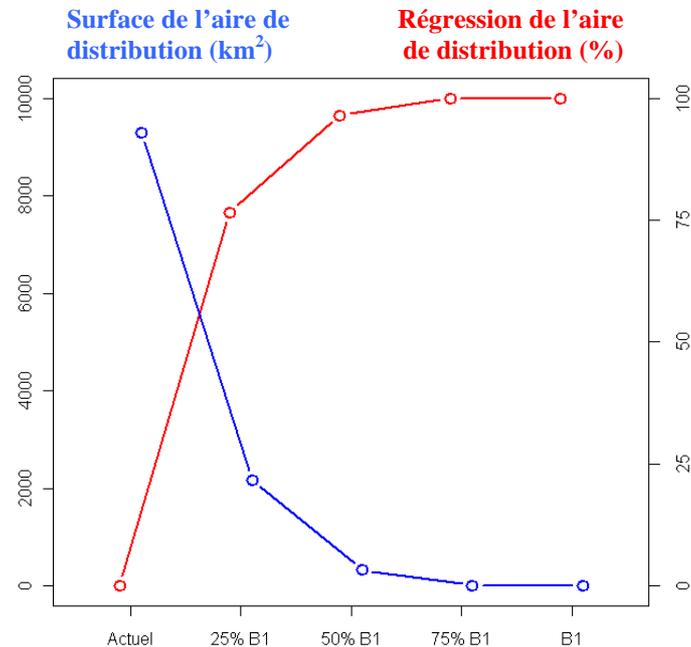


Figure 9. : Régression de la distribution de *V. berus* selon les étapes du scénario B1. La courbe bleue représente l'évolution de la surface totale de l'aire de distribution prédite comme favorable pour la vipère péliade dans le Massif central en fonction des conditions climatiques. La courbe rouge représente la régression de l'aire de distribution prédite par rapport à la distribution actuelle potentielle en fonction des conditions climatiques (en pourcentage).

III.2.4. Discussion

Comprendre la réponse spatiale des espèces face aux modifications futures est un élément essentiel pour évaluer leur statut de conservation et mieux orienter les stratégies de conservation. Ainsi nos résultats montrent que *V. berus* pourrait disparaître du Massif central à moyen terme (2071/2100).

Etapes climatiques	Augmentation de la température (°C)	Surface de l'aire de distribution (km ²)	Régression de l'aire de l'espèce (%)
Actuel	/	9300.3	/
25% B1	0.97 ± 0.13	2174.2	76.62
50% B1	1.94 ± 0.26	330.0	96.45
75% B1	2.91 ± 0.39	9.2	99.9
100% B1	3.87 ± 0.52	0.0	100

Table 3. : Impact des modifications climatiques sur la distribution de la vipère péliade dans le Massif central. Ce tableau présente, pour les différentes étapes de variations climatiques considérées, l'augmentation de la température par rapport aux conditions actuelles (moyenne 1971/2000).

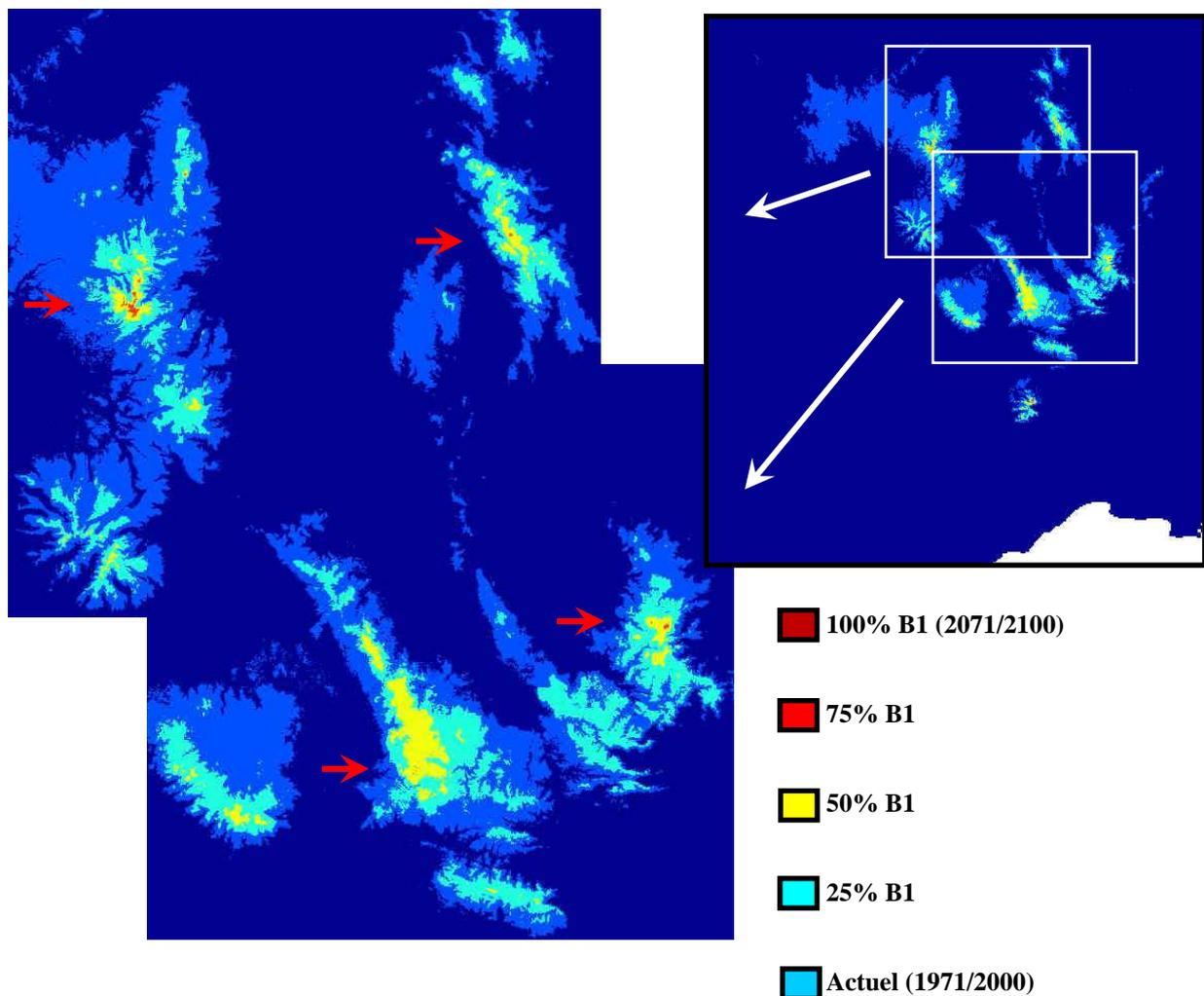


Figure 10. : Evolution spatiale des étapes de la régression de la distribution de la vipère péliade prédites dans le Massif central associées au scénario B1. En haut à droite, la carte représente les prédictions à l'échelle de l'ensemble du Massif central. A gauche, nous avons zoomé sur les 4 zones « refuges » où *V. berus* est toujours prédite comme présente à 75% du scénario B1. Les flèches rouges localisent les 4 secteurs.

Les projections climatiques utilisées proviennent de modèles « globaux » qui ne peuvent prédire les subtilités locales qui pourraient tamponner les changements climatiques et plus particulièrement pour la température. L'utilisation de prédictions issues de modèles climatiques « régionaux » permettrait d'estimer plus finement l'évolution de la distribution de l'espèce pour prédire l'existence de refuges plus pérennes pour l'espèce. Cependant, notre étude a pu montrer un effet drastique des hausses des températures sur la limite sud de distribution de l'espèce. Ceci est cohérent avec les adaptations climatiques de l'espèce et plus particulièrement le fort lien qui lie la température environnemental et les limites sud de distribution de l'espèce démontré dans cette thèse.

Ainsi le maintien de la qualité des tourbières et des landes d'altitude semble être des actions de conservations essentielles. Plus particulièrement, le potentiel effet de tampon thermique des tourbières pourrait limiter les effets des modifications climatiques futures permettant de conserver les espèces adaptées aux climats froids comme *V. berus*.

Discussion & perspectives



1. Comprendre les déterminants de la distribution

Comprendre la distribution des espèces est un thème majeur en écologie et notamment établir les facteurs proximaux qui régissent l'occurrence des espèces dans le temps et l'espace (Mac Arthur 1984 ; Lawton 1999). Toutefois, devant la nature très complexe et diverse des communautés d'espèces, certains auteurs doutent de la possibilité d'atteindre cet objectif (Simberloff 2004). En effet, les interactions entre un organisme et l'environnement sont multiples et parmi les facteurs environnementaux, les interactions biotiques sont vraisemblablement les plus complexes à appréhender. Il est par conséquent difficile d'élucider simplement l'ensemble des mécanismes et leurs interactions, qui régissent la répartition des espèces afin de prédire de manières robustes, la réponse des espèces face aux variations de l'environnement (Simberloff 2004). L'impact des gradients environnementaux sur les interactions biotiques est le plus communément admis (Bull 1991), mais l'importance relative des facteurs biotiques et abiotiques est difficile à distinguer en conditions naturelles (Bull & Burzacott 2001 ; Cunningham et al. 2009).

Une solution alternative proposée (McGill et al. 2006 ; Kearney & Porter 2006) est de contourner la difficulté d'adresser les facteurs biotiques. Les auteurs proposent d'évaluer, à l'échelle spécifique, la part des propriétés des organismes (traits fonctionnels) et de leur expression, dans l'environnement physique (niche fondamentale) qui explique la distribution de l'espèce (niche réalisée). Une différence importante entre la niche fondamentale et la niche réalisée correspond alors au rôle primordial des interactions biotiques sur la distribution. Il est donc crucial d'identifier les traits fonctionnels qui possèdent des liens pertinents avec la valeur sélective des organismes, afin de pouvoir évaluer de manière robuste la réponse des espèces (performances) face aux variations environnementales dans l'espace et dans le temps.

Dans le cadre de ce travail de thèse, j'ai élaboré une approche intégrée pour comprendre la distribution d'ectothermes terrestres. J'ai tout d'abord cherché à clarifier les adaptations physiologiques et les contraintes spécifiques pour comprendre ensuite des processus observés à grande échelle (patron de distribution), mais aussi à plus petite échelle (partition de l'habitat).

2. Contraintes thermiques et adaptations climatiques

2.1. Thermorégulation et métabolisme

La sensibilité thermique a été mise en évidence chez une diversité d'espèces et sur un grand nombre de performances, telles que les réactions enzymatiques (Seebacher et al. 2003 ; Somero 2004), le tonus musculaire (Stevenson et al. 1985 ; James & Seebacher 2008), la locomotion (McConnell & Richards 1955 ; Bennett 1980 ; Hirano & Rome 1984 ; Weinstein 1998 ; Ojanguren & Braña 2000), la digestion (Hopkins et al. 2004), les taux de croissance (Dutton et al. 1975), et la réponse immunitaire (Mondal & Rai 2001). La température environnementale impacte les organismes en affectant leur croissance, leur développement, leur reproduction ou leur survie. Les paramètres démographiques devraient ainsi être également touchés, et de manière ultime, influencer la distribution de l'espèce. La distribution maximale d'une espèce correspondrait donc aux capacités individuelles d'exploiter l'environnement. Toutefois, le lien entre les performances individuelles et la distribution de l'espèce n'est pas forcément direct. Le choix des performances à adresser doit, par conséquent, prendre en considération les particularités écologiques de chaque organisme (Bennett & Huey 1990) pour garantir le lien fort avec les proxis de la valeur sélective («fitness») tels que la survie, la fécondité, la croissance ou la maintenance. Par exemple, chez les espèces exploitant des milieux thermiquement contraignants avec des périodes d'activité courtes, l'optimisation des processus physiologiques est particulièrement importante à adresser.

Nos résultats sur le taux métabolique démontrent que *V. berus* (espèce boréale) présente un métabolisme plus important à toutes les températures par rapport à l'espèce sœur *V. aspis* (espèce médio-européenne). Ce décalage est probablement un élément clé pour comprendre les performances physiologiques supérieures de l'espèce *V. berus* aux basses températures (Naulleau 1983a, Naulleau 1986), en accord avec l'hypothèse de l'adaptation métabolique au froid. Cette hypothèse a été proposée par Clarke (1993) (idée originale de compensation thermique (Hazel & Prosser 1974)). Un métabolisme élevé permettrait aux espèces de conserver un niveau de performance élevé malgré des températures basses, et ainsi de réussir à compléter leurs cycles vitaux plus rapidement (Chown & Gaston 1999). Chez les organismes terrestres, la plupart des études vont dans le sens prédit par l'hypothèse comme

l'illustre, par exemple, une méta-analyse sur 346 espèces d'insectes terrestres (Addo-Bediako et al. 2002).

La température préférée devrait correspondre à la gamme des températures optimales des processus physiologiques clés de l'organisme, c'est-à-dire les plus reliés à la valeur sélective. Pourtant, des préférences thermiques plus basses auraient été avantageuses pour l'espèce exploitant des climats thermiquement plus contraignant (Huey & Bennet 1987 ; Hare et al. 2006). En effet, les conditions météorologiques défavorables réduisent considérablement les opportunités d'atteindre et de maintenir cette température préférée, d'autant plus que l'espèce se situe dans une gamme de températures élevées. La similitude de température préférée de gestation semble suggérer que ces espèces proches phylogénétiquement, partagent la même sensibilité du développement embryonnaire. Ainsi, en cohérence avec cette contrainte physiologique identique (accès à T_{set}), mais dans des environnements différents, le décalage métabolique permet de meilleures performances physiologiques et de thermorégulation.

Outre les aspects métaboliques, nos résultats en conditions naturelles montrent que *V. berus* possède une thermorégulation plus efficace. En effet, elle est capable dans les mêmes conditions, de maintenir plus longtemps sa température corporelle à la température préférée, en exploitant mieux les opportunités de thermorégulation. Cette différence s'observe particulièrement lorsque les conditions météorologiques sont défavorables. Ce résultat est clairement en accord avec nos prédictions d'une meilleure efficacité thermique des espèces des climats froids, qui parviennent à mieux exploiter les milieux thermiquement contraignant, en saisissant plus vite les opportunités de thermorégulation. Ceci suggère une influence sur les décisions comportementales autorisant une émergence du refuge et une initialisation de la thermorégulation dans des conditions environnementales trop froides pour *V. aspis*.

L'hypothèse de coadaptation thermique appliquée aux ectothermes (Huey & Bennett 1987 ; Angilletta et al. 2002) pose le fait que la sélection naturelle devrait favoriser, pour un environnement donné, une évolution harmonieuse du comportement de thermorégulation (température préférée), des performances physiologiques (les optimums thermiques) et des traits d'histoire de vie. Nos résultats suggèrent en effet, un contraste des performances entre les deux espèces, tant au niveau physiologique qu'au niveau comportemental, en cohérence avec les contraintes thermiques que les espèces rencontrent dans leurs aires de distribution respectives. L'investissement important dans la thermorégulation devrait être favorisé lorsque les bénéfices associés sont importants. Sous des climats froids, les contraintes thermiques rendent la thermorégulation précise coûteuse (risques de prédation, temps) si les bénéfices

associés sont réduits (amélioration des performances) (Huey & Slatkin 1976). Toutefois, un taux métabolique plus important peut partiellement compenser les contraintes thermiques et modifier la relation coûts/bénéfices de la thermorégulation. Ainsi, un épisode de thermorégulation même bref et l'accès à la température préférée, devraient permettre un gain de performance physiologique significatif sur la dynamique de gestation et la qualité de la reproduction. Les performances métaboliques bénéficient d'une plus forte efficacité de thermorégulation de *V. berus* pendant des conditions thermiquement défavorables.

Toutefois signalons que la comparaison à deux espèces n'est pas suffisante pour tester des hypothèses d'adaptation (Garland & Adolph 1994). Une approche comparative est donc essentielle pour examiner les adaptations métaboliques au froid au sein de genre *Vipera*. Les données d'études antérieures ont montré que *V. berus* présente des performances supérieures pour la digestion, comparativement aux espèces du même genre (Naulleau 1983a). Une étude complémentaire que nous avons menée en 2011, a permis de réaliser des mesures complémentaires sur une espèce méditerranéenne, la vipère ammodyte (*Vipera ammodytes*). Le taux métabolique des espèces (corrigé par la masse) semble étroitement lié aux conditions thermiques moyennes, mesurées à l'échelle de leurs aires de distribution respectives (Figure 1. a et b). Par exemple, *V ammodytes* exploitant un milieu chaud, possède le taux métabolique le plus bas.

Les compromis adaptatifs occupent une position centrale en biologie évolutive. Les adaptations aux froids permettent d'optimiser les performances aux basses températures mais deviennent probablement très défavorables aux températures élevées, en engendrant une augmentation des besoins caloriques journaliers. Ces coûts de maintenance devraient être particulièrement contraignants pour des espèces qui cumulent à la fois de faibles fréquences d'alimentation, et qui se reproduisent sur réserves (Bonnet et al. 2001). Un autre coût physiologique concerne le budget hydrique. En effet, la balance hydrique est une composante essentielle qui peut entrer en conflit avec la thermorégulation (Moen et al. 2005). Les pressions de sélection semblent avoir favorisé la résistance aux pertes hydriques dans les milieux xériques. Ainsi, nous avons pu montrer que *V. berus* est plus sensible aux pertes hydriques que *V. aspis*. La relation coûts/bénéfices de l'adaptation au froid (métabolique et comportementale) est donc directement liée aux contraintes thermiques environnementales. Lorsque les contraintes thermiques sont relâchées, les bénéfices liés à la thermorégulation disparaissent, alors que les coûts physiologiques (énergétique et hydrique) augmentent de manière exponentielle.

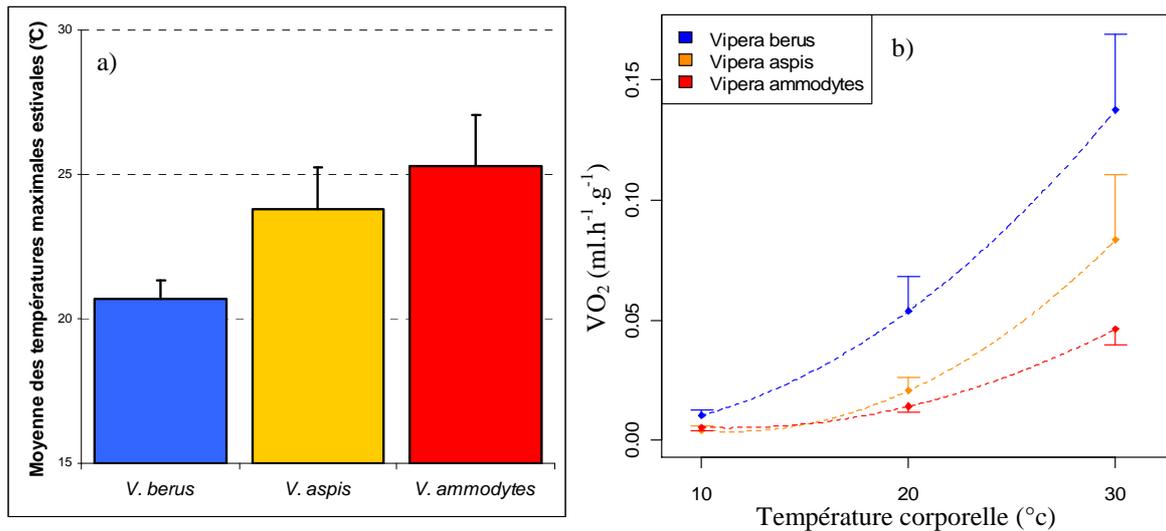


Figure 1. Relation entre le climat moyen exploité chez 3 espèces de Viperidae dans leur aire de distribution en Europe (a) et leur taux métabolique associé (b). En bleu, une espèce boréale (*Vipera berus*), en orange une espèce médio-européenne (*Vipera aspis*) et en rouge une espèce méditerranéenne (*Vipera ammodytes*). A gauche (a), la moyenne des températures maximales estivales de l'aire de distribution de l'espèce (\pm l'écart type). A droite (b), chaque point représente la moyenne de la consommation d'O₂ (VO₂) masse spécifique (ml.h⁻¹.g⁻¹) \pm l'écart type.

2.2. Contraintes thermiques du développement

Nous avons pu montrer qu'en conditions contrôlées, où la température corporelle des espèces était proche, *V. berus* met bas plus tôt, confirmant les résultats d'études expérimentales antérieures (Naulleau 1986). Cet avantage phénologique semble particulièrement cohérent chez une espèce exploitant des climats froids, où la période d'activité est courte avant l'hiver. Le développement embryonnaire est un processus complexe composé de nombreuses phases, qui est reconnu pour être particulièrement sensible notamment durant les premières étapes (Sulik et al. 1981 ; Birchard & Reiber 1995 ; Shine & Elphick 2001 ; Andrews 2004). La sensibilité thermique embryonnaire est un élément universel tant chez les vertébrés (Deeming & Fergusson 1991 ; Farmer 2000 ; Gillooly & Dodson 2000 ; Ojanguren & Braña 2003), que chez les invertébrés (Johnston & Bennett 2008 ; Byrne et al. 2009). Ces caractéristiques et cette sensibilité ont vraisemblablement joué un rôle clé dans l'évolution des stratégies de régulation des conditions de développement

Le mode de reproduction vivipare est apparu de façons indépendantes dans plus de 105 lignées distinctes de squamates (Blackburn 2006). Les bénéfices de la viviparité semblent associés à la thermorégulation maternelle accentuée qui garantiraient aux embryons l'accès à

des températures plus élevées que celles disponibles dans les sites de pontes (Shine 1995 ; Shine 2004). Les pressions de sélection responsables de la transition vers la viviparité chez les reptiles ont attiré un intérêt scientifique considérable, et deux hypothèses évolutives ont été formulées. Tout d'abord, la thermorégulation active des femelles confère des avantages en augmentant la vitesse de développement des embryons, notamment sous les climats froids (« Cold climate hypothesis » ; Tinkle & Gibbons 1977; Shine & Bull 1979 ; Shine 1985) et des bénéfices associés à une date de naissance précoce. L'autre hypothèse repose sur l'avantage sélectif d'une amélioration de la qualité phénotypique des jeunes (« Maternal manipulation hypothesis » ; Shine 1995, 2004, 2006).

Dans des milieux tempérés ou froids, les contraintes phénologiques peuvent être très fortes avec une période d'activité réduite pour les jeunes avant le premier hivernage. Plusieurs travaux ont ainsi pu montrer la relation entre la date de naissance et la survie (Warner & Shine 2007). Dans ce cadre, les pressions de sélection peuvent favoriser l'émergence de réponses embryonnaires (développement plus rapide) et maternelles (rétention des embryons et prise en charge du développement). La transition vers la viviparité semble être un élément clé de la radiation évolutive des vipéridés en relation avec les climats froids (Lynch 2009). Si les hypothèses sur la viviparité ont généralement été considérées de façon indépendante, elles semblent en fait compatibles d'un point de vue fonctionnel (Rodríguez et al. 2010). Nos travaux expérimentaux sur le développement de *V. aspis* (voir article en annexe des résultats) démontrent clairement que la régulation thermique maternelle peut fournir à la fois un avantage phénologique (date de naissance) et qualitatif (phénotype des jeunes). Ces effets sont complexes car la nature de la régulation maternelle dépend du stade de développement. Ainsi, le phénotype des jeunes est très dépendant de la qualité de la thermorégulation en début de vie embryonnaire. En revanche, les bénéfices en termes de vitesse du développement s'expriment pendant l'ensemble de la gestation.

Ces effets offrent une base explicative pour comprendre l'amplitude des changements comportementaux associés à la période de gestation. La gestation modifie profondément les stratégies de thermorégulation des femelles (Shine 1980 ; Naulleau 1997 ; Lourdais et al. 2004). Les femelles gravides allouent leur budget temps dans la thermorégulation, modifient leurs déplacements (Naulleau et al. 1996), et réduisent leurs prises alimentaires (voire cessent de s'alimenter ; Saint Girons 1952, 1957). Malgré ce contrôle actif, les femelles gestantes ne peuvent pas toujours tamponner l'effet des contraintes climatiques et des conditions météorologiques défavorables. Ainsi, il a été montré chez *V. aspis* un impact des conditions thermiques froides sur la reproduction en marge nord de sa répartition (Lourdais et al. 2004).

Dans ces conditions, cette espèce est affectée par des mises bas tardives et la production plus fréquente d'éléments infertiles (mort-nés, «jaunes»). Nous avons mis en évidence un fort contraste dans les performances reproductrices dans les zones de syntopie avec *V. berus*. Ainsi, dans les mêmes conditions, l'espèce boréale est capable d'assurer un développement plus rapide et des mises bas plus précoces, ce qui semble particulièrement avantageux pour exploiter les zones froides. Les performances physiologiques et comportementales que nous avons mises en évidence chez *V. berus* permettent de mieux comprendre les différences au niveau de la reproduction (phénologie).

La sensibilité thermique du développement a attiré un intérêt scientifique considérable. Si la plupart des travaux ont été menés avec des températures constantes (et donc souvent peu réalistes), on sait désormais que la température moyenne et les fluctuations thermiques affectent le phénotype des jeunes à la naissance (Webb et al. 2001; Shine 2004 ; Du & Shine 2010). La thermorégulation maternelle est typiquement associée à des cycles thermiques journaliers et limitée par les opportunités d'exposition. Une étude expérimentale récente chez le python de Children (*A. childreni*) a démontré qu'un accès même bref, à la température préférée, peut influencer la phénologie de la reproduction et optimiser le phénotype des jeunes, en comparaison avec un régime de même température moyenne mais sans accès à T_{set} . (Lorion et al. sous presse). En terme fonctionnel, l'accès à la température préférée est donc peut-être plus important que la température moyenne ou la variance thermique pendant le développement (Georges 1989; Du & Shine 2010). Grâce à la thermorégulation comportementale (exposition accentuée), la femelle prolonge donc l'exposition aux températures optimales de développement et optimise ainsi la reproduction (phénologie et phénotype ; Wapstra 2000). A la lumière de ces résultats récents, les meilleures capacités de thermorégulation révélées chez *V. berus* pendant la gestation, offrent possiblement un avantage majeur en permettant une optimisation de la reproduction, malgré des conditions climatiques contraignantes. En outre, ces éléments permettent de mieux comprendre les avantages proximaux d'une thermorégulation active dans les milieux froids, et réaffinent le cadre théorique des coûts-bénéfices (Huey & Slatkin 1976).

3. Etude de la distribution

Les situations de parapatrie sont un cas particulier où la compétition interspécifique a été l'hypothèse la plus souvent soulevée, pour expliquer les limites communes à deux espèces proches (parapatrie par compétition). Toutefois, les distributions parapatriques peuvent

également être l'expression d'adaptations contrastées entre espèces, qui exploiteraient de manières différentes les gradients environnementaux (parapatricie écologique ; Haffer 1986). En effet, les travaux menés dans cette thèse ont pu montrer que *V. berus* et *V. aspis* possédaient des adaptations contrastées générant des différences de performances, notamment lorsque les conditions météorologiques étaient contraignantes. Néanmoins, ces adaptations spécifiques sont-elles suffisantes pour expliquer à elles seules les limites de distribution des espèces ? Devant les difficultés d'adresser les interactions compétitives (McGill et al. 2006), nous avons développé une approche originale, en combinant les méthodes corrélatives (niche réalisée) et mécanistes (niche fondamentale). En effet, la comparaison des deux peut aider à déduire les contributions respectives des facteurs abiotiques et biotiques sur les limites de distribution, afin d'évaluer l'importance relative des possibles interactions compétitives entre les espèces.

3.1 Approche corrélative

Nous avons utilisé une méthode corrélative (BIOMOD) pour cartographier les niches réalisées. Cette méthode permet de limiter les biais liés au choix des méthodes statistiques en intégrant les incertitudes dans les prévisions. Nous avons testé nos prédictions à l'aide de consensus statistiques. Nous avons ainsi démontré que deux variables climatiques (température maximale de l'air et rayonnement solaire ajusté) étaient suffisantes pour prédire la distribution des deux espèces. L'été joue un rôle essentiel pour expliquer la distribution *V. berus* par rapport aux autres saisons. Identifier les effets des gradients environnementaux sur la présence des espèces est un élément crucial pour définir les déterminants de la distribution parapatricie (Bull 1991). Les courbes de réponse moyenne de l'ensemble de nos modèles statistiques ont montré des effets contrastés des gradients de température et de rayonnement solaire sur les probabilités de présence des deux espèces. Un seuil très clair semble exister chez *V. berus* avec une baisse de la probabilité de présence au-dessus de 22,5°C (températures maximum estivales). La présence de *V. aspis* est, quant à elle, positivement associée aux rayonnements solaires (nature héliophile), mais négativement affectée par des températures trop fortes. Le consensus des prévisions utilisant les variables climatiques a permis pour les deux espèces de modéliser la majeure partie de leur distribution (niche réalisée). Ceci a été possible malgré une basse échelle de résolution (niveau communal), et alors que les variables topographiques ou de l'habitat n'ont pas été considérées. Ces résultats corrélatifs appuient fortement une influence prédominante de paramètres abiotiques (climat) sur la distribution

des espèces. Ils soulignent également le fort contraste du gradient thermique sur la présence de ces deux espèces.

3.2 Approche mécaniste

Afin de comprendre la niche fondamentale des espèces, nous avons considéré les traits écophysologiques (le taux métabolique standard, les pertes en eau et la performance de reproduction), préalablement étudiés dans le cadre de cette thèse. Ces caractéristiques physiologiques et phénologiques des deux espèces ont été injectées dans nos modèles mécanistes, pour cartographier leurs réponses spécifiques le long du gradient climatique en France. Nous avons trouvé d'importantes variations saisonnières dans la maintenance énergétique, où le budget estival représente la majeure partie des besoins énergétiques annuels. Le taux métabolique supérieur de *V. berus* se traduit inévitablement par des besoins plus élevés de maintenance tout au long du gradient considéré, expliquant vraisemblablement pourquoi cette espèce est susceptible d'être limitée dans sa marge Sud (zone de contact avec *V. aspis*) avec des besoins énergétiques trop importants. L'augmentation exponentielle des coûts de maintenance le long du gradient climatique a été détectée chez les deux espèces. En prenant en compte leur niche réalisée, les deux espèces partagent la même limite supérieure énergétique correspondant aux marges sud de leur aire de répartition. Cet élément suggère des contraintes proximales identiques dans leurs besoins en énergie, malgré des niches réalisées contrastées. Des résultats assez similaires ont été trouvés sur la perte en eau, avec une augmentation exponentielle le long du gradient climatique où *V. berus* présente un niveau beaucoup plus élevé. La saisonnalité était encore plus marquée pour ce paramètre, puisque l'été contribue à environ 70% des pertes annuelles en eau pour les deux espèces.

L'effet du gradient climatique sur la date de mise bas est plus linéaire, mais reste en accord avec les contrastes métaboliques observés. *V. berus* peut mettre bas, en moyenne, deux semaines plus tôt que *V. aspis*. Des études antérieures suggèrent que *V. aspis* est limitée dans sa marge Nord par la performance de reproduction et des dates de parturition trop tardives (Lourdais et al. 2004). En effet, les vipères sont généralement des thermorégulateurs actifs présentant d'importants besoins thermiques pour la reproduction (Saint Girons 1978 ; Ladyman et al. 2003 ; Herczeg et al. 2007a). Les estimations spatiales des dates de mises bas soulignent les contraintes phénologiques au niveau de la limite nord de distribution de *V. aspis*.

3.3 Intérêt d'une approche combinée

La compétition interspécifique a généralement été invoquée pour expliquer la distribution parapatrique du genre *Vipera* (Saint-Girons 1975a ; Monney 1996). Toutefois, ces interactions n'ont pas été démontrées dans les populations syntopiques (Capizzi et al. 1995 ; Capizzi & Luiselli 1996 ; Monney 1996 ; Luiselli 2006). La compétition est cependant un phénomène difficile à mettre en évidence en dehors d'approches expérimentales (Luiselli 2006). Les études menées dans le cadre de cette thèse apportent des éléments de compréhension importants sur la distribution parapatrique.

Nous avons testé si ces limites géographiques pouvaient correspondre aux limites de tolérance physiologique des espèces. Nos travaux démontrent que les deux espèces semblent limitées par des contraintes divergentes dans leur zone de contact, principalement dû à des coûts métaboliques accentués en limite Sud pour *V. berus*, et à de faibles performances de reproduction au Nord pour *V. aspis*. Les vipères sont caractérisées par de faibles besoins en énergie (Zaidan 2003), et les deux espèces partagent de nombreuses caractéristiques. Elles présentent une faible fréquence d'alimentation et une reproduction sur réserves où le stockage de l'énergie est un élément crucial pour se reproduire (Bonnet et al. 2001 ; Bonnet et al. 2002 ; Lourdais et al. 2003). L'augmentation exponentielle des coûts de maintenance devrait avoir un impact sur leur capacité à constituer des réserves énergétiques, et ainsi impacter leurs possibilités de reproduction. Les modèles corrélatifs suggèrent que des conditions trop chaudes limitent la distribution des deux espèces, tandis que les modélisations mécanistes ont montré que les deux espèces partageaient les mêmes limites maximales énergétiques. Par conséquent, les marges Sud de distribution sont susceptibles de correspondre principalement aux limites en besoins en énergie des espèces.

Les performances phénologiques peuvent être des facteurs déterminants du succès de reproduction et de la spécialisation climatique (Tinkle & Gibbons 1977; Shine & Bull 1979; Lourdais et al. en préparation A1). Nos résultats montrent que les deux espèces présentent des dates moyennes de mises bas identiques au sein de leur niche réalisée respective, alors qu'elles exploitent des gradients climatiques contrastés. Cette convergence suggère des contraintes phénologiques similaires. Nous avons pu montrer dans cette thèse que *V. berus* est un thermorégulateur plus efficace pendant la gestation (Lourdais et al. en préparation A1), en étant capable d'atteindre et de maintenir ses préférences thermiques lors de conditions contraignantes. Une telle adaptation, combinée à un taux métabolique plus fort, peut expliquer le fait que de cette espèce est capable d'exploiter des zones de plus hautes latitudes. En

conclusion, ces éléments semblent supporter l'hypothèse d'une parapatrie écologique où la compétition entre les espèces semble représenter un phénomène marginal pour expliquer les limites communes aux deux espèces.

La partition par l'habitat a été mise en évidence chez ces deux espèces en zone de syntopie (Saint Girons 1975a ; Duguy & Saint Girons 1978 ; Monney 1996 ; Lapini 1983 ; Luiselli et al. 2007 ; Martinez-Freiria et al. 2010 ; Scali et al. 2011, Guillon et al. en préparation A2). Ce phénomène pourrait refléter des exigences contrastées. Notre travail suggère que dans les zones de syntopie, les espèces se situent dans leurs limites respectives de performances (Guillon et al. en préparation A3). Une sélection contrastée de l'habitat pourrait refléter la modulation des coûts et bénéfices associés à leur adaptation climatique. Ainsi, l'espèce en limite Sud utiliserait des conditions favorisant la diminution de ses coûts de maintenance (énergie et eau), alors que l'espèce en limite Nord chercherait à maximiser ses performances physiologiques (température préférée de gestation).

En conclusion, nous avons montré que les adaptations physiologiques et comportementales peuvent expliquer, en grande partie, la gamme climatique qu'une espèce peut exploiter. Ainsi, le patron de distribution générale pourrait être le reflet d'adaptations climatiques spécifiques au sein de ce groupe. L'hypothèse de « ghost of competition past » (Connell 1980) qui implique une séparation des niches fondamentales par compétition pourrait expliquer ce patron de distribution. Toutefois, l'hypothèse d'espèces vicariantes issues d'un processus de spéciation allopatrique (isolement par une barrière physique) semble être une alternative possible.

4. Approche diachronique chez une relique glaciaire

L'approche diachronique est un élément important pour bien comprendre la distribution actuelle d'une espèce. Cela permet d'avoir un maximum de connaissances pour orienter les stratégies de conservation sur ces espèces liées au climat froid, ce qui est nécessaire dans le contexte actuel des changements globaux (climat et habitat).

4.1 Impact des variations climatiques durant le dernier maximum glaciaire

Les contraintes climatiques fortes ont entraîné comme pour la plupart des espèces, un glissement de la distribution de *V. berus* vers le sud. Grâce à ses adaptations climatiques,

l'espèce semble avoir trouvé des refuges dits « cryptiques », en dehors des refuges classiques localisés dans les péninsules méditerranéennes (Stewart & Lister 2001 ; Provan & Bennett 2008). Ainsi, nos résultats confirment la présence de ces refuges nordiques pendant le dernier maximum glaciaire, localisés au Sud du Massif central et en cohérence avec les études menées chez d'autres espèces possédant des affinités proches (Banks et al. 2008 ; Svenning et al. 2008 ; Habel et al. 2010). L'existence de ce refuge nous indique une recolonisation post-glaciaire beaucoup moins rapide que celle supposée par Taberlet et collaborateurs (1998) (« paradoxe de Reid » ; Clark et al. 1998). En effet l'espèce, et notamment les populations du groupe du Nord, n'a pas colonisé l'Angleterre par la Manche alors que le Channel s'est vraisemblablement installé entre vers -6000 ans (Waller & Long 2003).

Nos résultats permettent également de mieux comprendre la distribution actuelle de l'espèce. Par exemple, les modèles de répartition prédisent que l'espèce pourrait être présente (du fait de conditions climatiques favorables) dans les Vosges ou sur le Mont Aigoual (au Sud du Massif central). En raison des voies de colonisation et du temps de colonisation, l'espèce n'a probablement pas pu (absence de corridor climatique) coloniser les Vosges. Au contraire, d'autres espèces de climat froid mais possédant des capacités de dispersion plus importantes (papillons), ont réussi (Habel et al. 2010). Son absence du Mont Aigoual serait possiblement liée à des phénomènes d'extinction plus récents, comme par exemple suite aux réchauffements durant l'optimum climatique holocène (-7000 à -4000 ans). Toutefois, il reste des questions à adresser comme par exemple son absence dans les Pyrénées ou encore l'origine des populations du sud des Alpes françaises, disparues au début du siècle dernier (Orsini 1984).

Ces informations démontrent l'importance, en termes de conservation, des populations du Massif central à l'échelle européenne (sous-clade génétique de l'Ouest). En effet, ces populations sont les plus proches génétiquement des populations ancestrales (refuges glaciaires) mais également les plus diversifiées génétiquement. Enfin, l'existence de 2 entités génétiques distinctes à l'échelle du Massif est un élément important à prendre en compte dans les stratégies de conservation de l'espèce.

Afin de répondre plus précisément à nos hypothèses sur la localisation des refuges glaciaires et des voies de colonisation post-glaciaire, nous envisageons de modéliser la distribution de *V. berus* durant le dernier maximum glaciaire en utilisant les données paléoclimatiques. Les données climatiques sont les mêmes que celles utilisées à l'échelle de la France ou du Massif central, et permettrons de confronter les informations de la génétique et celles de la niche climatique de l'espèce.

4.2 Impact des projections climatiques futures

Comprendre la réponse spatiale des espèces face aux modifications futures est un moyen robuste pour orienter les stratégies de conservation. Nos résultats montrent que *V. berus* pourrait disparaître du Massif central à moyen terme (2071/2100). Les projections climatiques utilisées proviennent de modèles « globaux », qui ne peuvent prédire les subtilités locales qui pourraient tamponner les changements climatiques, plus particulièrement pour la température. L'utilisation de prédictions issues de modèles climatiques « régionaux » permettrait d'estimer plus finement l'évolution de la distribution de l'espèce pour prédire l'existence de refuges plus pérennes pour l'espèce. Cependant, notre étude a pu montrer un effet drastique des hausses des températures sur la limite Sud de distribution de l'espèce, en lien avec les adaptations climatiques de l'espèce.

Ainsi, le maintien de la qualité des tourbières et des landes d'altitude semble être une action de conservation essentielle. Plus particulièrement, le potentiel effet de tampon thermique des tourbières pourrait limiter les effets des modifications climatiques futures, permettant de conserver les espèces adaptées aux climats froids comme *V. berus*.

5. Conclusions générales et perspectives

La modélisation de la distribution des espèces est un domaine de recherche en plein essor depuis les 10 dernières années (Guisan & Thuiller 2005). En comparaison aux modèles corrélatifs, des études récentes soulignent l'importance de prendre en compte la physiologie des organismes pour mieux comprendre les mécanismes expliquant la répartition des espèces. (Kearney & Porter 2004 ; Somero 2005 ; Bernardo & Spotila 2007 ; Pörtner & Farrell 2008 ; Kearney et al. 2009a ; Dillon et al. 2010 ; Huey et al. 2010 ; Sinervo et al. 2010 ; Kearney 2012). Ces informations permettent d'adresser l'impact des changements climatiques sur les ectothermes. Par exemple, certaines études centrées sur le temps d'activité des organismes (Pörtner & Farrell 2008 ; Kearney et al. 2009b ; Dillon et al. 2010 ; Huey et al. 2010 ; Sinervo et al. 2010) prédisent que l'augmentation des températures devrait diminuer les temps d'activité des espèces vivant sous les tropiques. Au contraire, ces travaux prédisent des bénéfices sur les espèces de climat tempéré / froid, avec des temps d'activité augmentés

(Deutsch et al. 2008). Cependant l'évaluation des coûts liés à l'inactivité est essentiellement abordée sous la forme de pertes d'opportunités alimentaires.

Les espèces spécialisées dans l'économie d'énergie ont des taux d'acquisition très faibles et leur stratégie repose surtout sur l'économie de l'énergie acquise. Nos travaux sont originaux car ils soulignent i) l'importance de la prise en compte des coûts de maintenance et ii) les compromis physiologiques inhérents aux adaptations climatiques. Ces éléments sont essentiels à considérer pour appréhender les effets des changements climatiques chez des espèces à faibles besoins énergétiques. Nous avons également pu soulever l'importance de la reproduction et la sensibilité thermique embryonnaire. Le développement a été étudiée chez les papillons afin d'expliquer les limites Nord de distribution des espèces (Buckley et al. 2001), ainsi que la réponse phénologique des populations face aux modifications climatiques (Kearney et al. 2010a). La sensibilité thermique du développement et des coûts de maintenance sont probablement des mécanismes déterminants, aussi bien au niveau des populations que de la distribution des espèces. Afin de réaffiner la compréhension des niches fondamentales des espèces, il est désormais crucial d'injecter les processus populationnels. En effet, les modèles actuels sont principalement individu-centrés, ce qui limite les capacités d'analyse. Si les difficultés méthodologiques sont encore importantes, plusieurs études commencent à développer cette approche innovante, en combinant l'acquisition d'énergie, la croissance et la fécondité (Buckley 2008 ; Kearney 2012).

Dans le cadre de cette thèse, nous avons développé une approche innovante intégrant différents champs disciplinaires comme l'écophysiologie évolutive, les modélisations spatiales des distributions (corrélative et mécaniste) ainsi que la phylogéographie. Cette approche pluridisciplinaire a permis de cerner les adaptations physiologiques et comportementales chez une espèce relique glaciaire à faibles besoins énergétiques, mais également d'évaluer de manière robuste ses réponses et leurs implications face aux variations climatiques. Nos travaux devraient apporter des éléments nouveaux afin d'améliorer la compréhension des mécanismes qui sous-tendent la distribution des ectothermes terrestres. Notre travail a également permis de montrer l'importance d'une approche combinant les adaptations climatiques, la physiologie et la distribution. Notamment, la prise en compte des coûts et bénéfices des performances (Angilletta 2009) est particulièrement importante, et pourrait pondérer les conclusions actuelles sur les effets bénéfiques des changements climatiques sur les performances des ectothermes de hautes latitudes (Deutsch et al. 2008). De plus, l'intégration des contraintes physiologiques propres aux organismes, comme la nécessité

d'atteindre une température préférée durant le développement embryonnaire, semble également essentielle afin de bien évaluer les impacts sur le développement. Une opportunité pour tester cette question spécifique serait d'évaluer l'impact des modes de reproduction chez une espèce possédant une bimodalité du mode de reproduction, comprenant à la fois des populations ovipares et vivipares. Ainsi, le lézard vivipare (*Zootoca vivipara*) serait un bon modèle pour comparer les contraintes associées aux deux modes de reproduction (coûts de maintenance, sensibilité embryonnaire, température préférée) et d'évaluer l'implication des deux stratégies sur sa distribution.

Dans le cadre des changements climatiques, la prise en compte des tolérances physiologiques et des coûts et bénéfices associés nous semble particulièrement pertinente. Notamment, si l'hypothèse d'adaptation au froid est valide à l'échelle des ectothermes terrestres, l'importance des coûts de maintenance devrait montrer un impact majeur sur la persistance des espèces boréales.

Références bibliographiques



- Addo-Bediako, A., S. L. Chown, and K. J. Gaston. 2000. Thermal tolerance, climatic variability and latitude. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* **267**:739-745.
- Addo-Bediako, A., S. L. Chown, and K. J. Gaston. 2002. Metabolic cold adaptation in insects: a large-scale perspective. *Functional Ecology* **16**:332-338.
- Adolph, S. C. 1990. Influence of behavioral thermoregulation on microhabitat use by 2 sceloporus lizards. *Ecology* **71**:315-327.
- Allouche, O., A. Tsoar, and R. Kadmon. 2006. Assessing the accuracy of species distribution models: prevalence, kappa and the true skill statistic (TSS). *Journal of Applied Ecology* **43**:1223-1232.
- Andren, C. and G. Nilson. 1983. Reproductive tactics in an island population of adders, *Vipera berus* (L.), with a fluctuating food resource. *Amphibia-Reptilia* **4**:63-79.
- Andrewartha, H. G. and L. C. Birch. 1954. *The distribution and abundance of animals*. University of Chicago Press.
- Andrews, R. M. 2004. Patterns of embryonic development. Pages 75-102 *Reptilian Incubation. Environment, Evolution and Behaviour*. Nottingham University Press.
- Angilletta, M. J. 2001. Variation in metabolic rate between populations of a geographically widespread lizard. *Physiological and Biochemical Zoology* **74**:11-21.
- Angilletta, M. J. 2006. Estimating and comparing thermal performance curves. *Journal of Thermal Biology* **31**:541-545.
- Angilletta, M. J. 2009. Looking for answers to questions about heat stress: researchers are getting warmer. *Functional Ecology* **23**:231-232.
- Angilletta, M. J., T. Hill, and M. A. Robson. 2002a. Is physiological performance optimized by thermoregulatory behavior?: a case study of the eastern fence lizard, *Sceloporus undulatus*. *Journal of Thermal Biology* **27**:199-204.
- Angilletta, M. J., R. B. Huey, and M. R. Frazier. 2010. Thermodynamic Effects on Organismal Performance: Is Hotter Better? *Physiological and Biochemical Zoology* **83**:197-206.
- Angilletta, M. J., P. H. Niewiarowski, and C. A. Navas. 2002b. The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of Thermal Biology* **27**:249-268.
- Araujo, M. B. and M. New. 2007. Ensemble forecasting of species distributions. *Trends in Ecology & Evolution* **22**:42-47.

- Avery, H. W., J. R. Spotila, J. D. Congdon, R. U. Fischer, E. A. Standora, and S. B. Avery. 1993. Roles of diet protein and temperature in the growth and nutritional energetics of juvenile slider turtles, *Trachemys scripta*. *Physiological Zoology* **66**:902-925.
- Ayers, D. Y. and R. Shine. 1997. Thermal influences on foraging ability: Body size, posture and cooling rate of an ambush predator, the python *Morelia spilota*. *Functional Ecology* **11**:342-347.
- Bakken, G. S. 1992. Measurement and application of operative and standard operative temperatures in ecology. *American Zoologist* **32**:194-216.
- Banks, W. E., F. d'Errico, A. T. Peterson, M. Kageyama, and G. Colombeau. 2008. Reconstructing ecological niches and geographic distributions of caribou (*Rangifer tarandus*) and red deer (*Cervus elaphus*) during the Last Glacial Maximum. *Quaternary Science Reviews* **27**:2568-2575.
- Bartholomew, G. A. 1982. Physiological control of body temperature. Pages 167-212 in C. Gans and F. H. Pough, editors. *Biology of the Reptilia*. Academic Press, New York.
- Bauwens, D., A. M. Castilla, and P. L. N. Mouton. 1999. Field body temperatures, activity levels and opportunities for thermoregulation in an extreme microhabitat specialist, the girdled lizard (*Cordylus macropholis*). *Journal of Zoology* **249**:11-18.
- Bea, A., F. Brana, J. P. Baron, and H. Saint Girons. 1992. Diet and alimentary cycles of european *Vipera berus* (Reptilia, Viperidae). A comparative study. *L'Année biologique* **31**:25-44.
- Beitinger, T. L. and L. C. Fitzpatrick. 1979. Physiological and ecological correlates of preferred temperature in fish. *American Zoologist* **19**:319-329.
- Bennett, A. F. 1980. The thermal dependence of lizard behavior. *Animal Behaviour* **28**:752-762.
- Bennett, A. F. 1987. Evolution of the control of body temperature: is warmer better. Pages 421-431 in C. R. T. a. E. R. W. P. Dejours, editor. *Comparative Physiology: Life in Water and on Land*. Liviana Press, Padova, Italy.
- Bennett, A. F. and W. R. Dawson. 1976. Metabolism. in C. Gans and D. W. R., editors. *Biology of the Reptilia*. Academic Press, New York.
- Bennett, A. F. and R. B. Huey. 1990. Studying the evolution of physiological performance. *Oxford surveys in evolutionary biology* **7**:251-284.
- Bentz, G. 2002. La vipère péliade *Vipera berus* à Trébeurden, Côtes d'Armor: Adaptation de la stratégie de thermorégulation aux mauvaises conditions météorologiques. Pages 225-235. Société des sciences naturelles de la Charente-Maritime.

- Bernardo, J. and J. R. Spotila. 2006. Physiological constraints on organismal response to global warming: mechanistic insights from clinally varying populations and implications for assessing endangerment. *Biology Letters* **2**:135-139.
- Birchard, G. F. and C. L. Reiber. 1995. Growth, metabolism, and chorioallantoic vascular density of developing snapping turtles (*Chelydra serpentina*) - Influence of temperature. *Physiological Zoology* **68**:799-811.
- Blackburn, D. G. 2006. Squamate reptiles as model organisms for the evolution of viviparity. *Herpetological Monographs* **20**:131-146.
- Blouin-Demers, G. and P. Nadeau. 2005. The cost-benefit model of thermoregulation does not predict lizard thermoregulatory behavior. *Ecology* **86**:560-566.
- Blouin-Demers, G. and P. J. Weatherhead. 2001. Thermal ecology of black rat snakes (*Elaphe obsoleta*) in a thermally challenging environment. *Ecology* **82**:3025-3043.
- Blouin-Demers, G. and P. J. Weatherhead. 2002. Habitat-specific behavioural thermoregulation by black rat snakes (*Elaphe obsoleta obsoleta*). *Oikos* **97**:59-68.
- Blouin-Demers, G., P. J. Weatherhead, and H. A. McCracken. 2003. A test of the thermal coadaptation hypothesis with black rat snakes (*Elaphe obsoleta*) and northern water snakes (*Nerodia sipedon*). *Journal of Thermal Biology* **28**:331-340.
- Bonnet, X., O. Lourdais, R. Shine, and G. Naulleau. 2002. Reproduction in a typical capital breeder: Costs, currencies, and complications in the aspik viper. *Ecology* **83**:2124-2135.
- Bonnet, X. and G. Naulleau. 1996. Catchability in snakes: consequences for estimates of breeding frequency. *Canadian journal of zoology* **74**:233-239.
- Bonnet, X., G. Naulleau, R. Shine, and O. Lourdais. 2001. Short-term versus long-term effects of food intake on reproductive output in a viviparous snake, *Vipera aspis*. *Oikos* **92**:297-308.
- Bonnet, X., R. Shine, G. Naulleau, and M. Vacher-Vallas. 1998. Sexual dimorphism in snakes: different reproductive roles favour different body plans. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **265**:179-183.
- Bradshaw, S. D. 1997. Homeostasis in desert reptiles. Springer Berlin, Germany.
- Brattstrom, B. H. 1979. Amphibian temperature regulation studies in the field and laboratory. *American Zoologist* **19**:345-356.
- Breiman, L. 1984. Classification and regression trees. Chapman & Hall/CRC.
- Breiman, L. 2001. Random forests. *Machine learning* **45**:5-32.

- Brischoux, F. and R. Shine. 2011. Morphological Adaptations to Marine Life in Snakes. *Journal of Morphology* **272**:566-572.
- Broennimann, O., U. A. Treier, H. Muller-Scharer, W. Thuiller, A. T. Peterson, and A. Guisan. 2007. Evidence of climatic niche shift during biological invasion. *Ecology Letters* **10**:701-709.
- Brown, J. H., J. F. Gillooly, A. P. Allen, V. M. Savage, and G. B. West. 2004. Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology* **85**:1771-1789.
- Bryant, S. R., C. D. Thomas, and J. S. Bale. 2002. The influence of thermal ecology on the distribution of three nymphalid butterflies. *Journal of Applied Ecology* **39**:43-55.
- Buckley, L. B. 2008. Linking traits to energetics and population dynamics to predict lizard ranges in changing environments. *American Naturalist* **171**:E1-E19.
- Buckley, L. B. 2010. The range implications of lizard traits in changing environments. *Global Ecology and Biogeography* **19**:452-464.
- Buckley, T. R., C. Simon, and G. K. Chambers. 2001. Exploring among-site rate variation models in a maximum likelihood framework using empirical data: Effects of model assumptions on estimates of topology, branch lengths, and bootstrap support. *Systematic Biology* **50**:67-86.
- Bull, C. M. 1991. Ecology of parapatric distributions. *Annual Review of Ecology and Systematics* **22**:19-36.
- Bull, C. M. and D. Burzacott. 2001. Temporal and spatial dynamics of a parapatric boundary between two Australian reptile ticks. *Molecular Ecology* **10**:639-648.
- Bull, C. M. and H. Possingham. 1995. A model to explain ecological parapatry. *American Naturalist* **145**:935-947.
- Burnham, K. P. and D. R. Anderson. 2002. Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. Springer Verlag.
- Byrne, M., M. Ho, P. Selvakumaraswamy, H. D. Nguyen, S. A. Dworjanyn, and A. R. Davis. 2009. Temperature, but not pH, compromises sea urchin fertilization and early development under near-future climate change scenarios. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **276**:1883-1888.
- Calenge, C. and M. Basille. 2008. A general framework for the statistical exploration of the ecological niche. *Journal of Theoretical Biology* **252**:674-685.
- Campbell, G. S. and J. M. Norman. 1998. Introduction to environmental biophysics. Springer Verlag.

- Capizzi, D. and L. Luiselli. 1996. Feeding relationships and competitive interactions between phylogenetically unrelated predators (owls and snakes). *Acta oecologica* **17**:265-284.
- Capizzi, D., L. Luiselli, M. Capula, and L. Rugiero. 1995. Feeding habits of a Mediterranean community of snakes in relation to prey availability. *Revue d'Ecologie* **50**:353-363.
- Capula, M. and L. Luiselli. 1994. Reproductive strategies in alpine adders, *Vipera berus*. The black females bear more often. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology* **15**:207-214.
- Carlsson, M. 2003. Phylogeography of the Adder, *Vipera berus*. Acta Universitatis Upsaliensis. Comprehensive summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology **849**.
- Catenazzi, A. and M. A. Donnelly. 2007. Distribution of geckos in northern Peru: Long-term effect of strong ENSO events? *Journal of Arid Environments* **71**:330-336.
- Cavalli-Sforza, L. L. and A. W. F. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis. Models and estimation procedures. *American journal of human genetics* **19**:233-257.
- Chamaille-Jammes, S., M. Massot, P. Aragon, and J. Clobert. 2006. Global warming and positive fitness response in mountain populations of common lizards *Lacerta vivipara*. *Global Change Biology* **12**:392-402.
- Charland, M. B. and P. T. Gregory. 1990. The influence of female reproductive status on thermoregulation in a viviparous snake, *Crotalus viridis*. *Copeia*:1089-1098.
- Chown, S. L., A. Addo-Bediako, and K. J. Gaston. 2002. Physiological variation in insects: large-scale patterns and their implications. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology* **131**:587-602.
- Chown, S. L. and K. J. Gaston. 1999. Exploring links between physiology and ecology at macro-scales: the role of respiratory metabolism in insects. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* **74**:87-120.
- Christian, K., C. R. Tracy, and W. P. Porter. 1983. Seasonal shifts in body-temperature and use of microhabitats by Galapagos land iguanas (*Conolophus pallidus*). *Ecology* **64**:463-468.
- Christian, K. A. and B. W. Weavers. 1996. Thermoregulation of monitor lizards in Australia: An evaluation of methods in thermal biology. *Ecological monographs* **66**:139-157.
- Clark, J. S., C. Fastie, G. Hurtt, S. T. Jackson, C. Johnson, G. A. King, M. Lewis, J. Lynch, S. Pacala, C. Prentice, E. W. Schupp, T. Webb, and P. Wyckoff. 1998. Reid's paradox of rapid plant migration - Dispersal theory and interpretation of paleoecological records. *Bioscience* **48**:13-24.

- Clarke, A. 1980. A reappraisal of the concept of metabolic cold adaptation in polar marine-invertebrates. *Biological Journal of the Linnean Society* **14**:77-92.
- Clarke, A. 1993. Seasonal acclimatization and latitudinal compensation in metabolism - Do they exist ? *Functional Ecology* **7**:139-149.
- Clusella Trullas, S., J. H. van Wyk, and J. R. Spotila. 2007. Thermal melanism in ectotherms. *Journal of Thermal Biology* **32**:235-245.
- Connell, J. H. 1980. Diversity and the coevolution of competitors, or the ghost of competition past. *Oikos* **35**:131-138.
- Cunningham, H. R., L. J. Rissler, and J. J. Apodaca. 2009. Competition at the range boundary in the slimy salamander: using reciprocal transplants for studies on the role of biotic interactions in spatial distributions. *Journal of Animal Ecology* **78**:52-62.
- Danks, H. V. 2004. Seasonal adaptations in arctic insects. *Integrative and Comparative Biology* **44**:85-94.
- Davis, A. J., L. S. Jenkinson, J. H. Lawton, B. Shorrocks, and S. Wood. 1998. Making mistakes when predicting shifts in species range in response to global warming. *Nature* **391**:783-786.
- Davis, J. R. and D. F. DeNardo. 2009. Water Supplementation Affects the Behavioral and Physiological Ecology of Gila Monsters (*Heloderma suspectum*) in the Sonoran Desert. *Physiological and Biochemical Zoology* **82**:739-748.
- Davis, J. R., E. N. Taylor, and D. F. DeNardo. 2008. An automated temperature-based option for estimating surface activity and refuge use patterns in free-ranging animals. *Journal of Arid Environments* **72**:1414-1422.
- Deeming, D. C. and M. W. J. Ferguson. 1991. Egg turning incubation has no effect upon the growth of embryos of *Alligator mississippiensis*. *Acta Zoologica* **72**:125-128.
- Deitloff, J., J. O. Church, D. C. Adams, and R. G. Jaeger. 2009. Interspecific agonistic behaviors in a salamander community: implications for alpha selection. *Herpetologica* **65**:174-182.
- DeNardo, D. F., T. E. Zubal, and T. C. M. Hoffman. 2004. Cloacal evaporative cooling: a previously undescribed means of increasing evaporative water loss at higher temperatures in a desert ectotherm, the Gila monster *Heloderma suspectum*. *Journal of Experimental Biology* **207**:945-953.
- Deutsch, C. A., J. J. Tewksbury, R. B. Huey, K. S. Sheldon, C. K. Ghalambor, D. C. Haak, and P. R. Martin. 2008. Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across

- latitude. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **105**:6668-6672.
- Diego-Rasilla, F. J. 2003. Influence of predation pressure on the escape behaviour of *Podarcis muralis* lizards. Behavioural Processes **63**:1-7.
- Diego-Rasilla, F. J. and V. Perez-Mellado. 2003. Home range and habitat selection by *Podarcis hispanica* (Squamata, Lacertidae) in Western Spain. Folia Zoologica **52**:87-98.
- Dillon, M. E., G. Wang, and R. B. Huey. 2010. Global metabolic impacts of recent climate warming. Nature **467**:704-706.
- Dmi'el, R. 1972. Effect of activity and temperature on metabolism and water loss in snakes. American Journal of Physiology **223**:510-516.
- Dmi'el, R. 1998. Skin resistance to evaporative water loss in viperid snakes: habitat aridity versus taxonomic status. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology **121**:1-5.
- Dmi'el, R. and B. Zilber. 1971. Water balance in a desert snake. Copeia **1971**:754-755.
- Dorcas, M. E., W. A. Hopkins, and J. H. Roe. 2004. Effects of body mass and temperature on standard metabolic rate in the eastern diamondback rattlesnake (*Crotalus adamanteus*). Copeia:145-151.
- Dormann, C. F. 2007. Promising the future? Global change projections of species distributions. Basic and Applied Ecology **8**:387-397.
- Downes, S. 2001. Trading heat and food for safety: Costs of predator avoidance in a lizard. Ecology **82**:2870-2881.
- Downes, S. and D. Bauwens. 2002. An experimental demonstration of direct behavioural interference in two Mediterranean lacertid lizard species. Animal Behaviour **63**:1037-1046.
- Du, W. G. and R. Shine. 2010. Why do the eggs of lizards (*Bassiana duperreyi*: Scincidae) hatch sooner if incubated at fluctuating rather than constant temperatures? Biological Journal of the Linnean Society **101**:642-650.
- Duguy, R. and H. Saint-Girons. 1978. La répartition des vipères et de quelques autres reptiles sur le plateau de Millevaches (Limousin). Pages 351-354.
- Dury, M., A. Hambuckers, P. Warnant, A. Henrot, E. Favre, M. Ouberdous, and L. Francois. 2011. Responses of European forest ecosystems to 21(st) century climate: assessing changes in interannual variability and fire intensity. Iforest-Biogeosciences and Forestry **4**:82-99.

- Dutton, R. H., L. C. Fitzpatrick, and J. L. Hughes. 1975. Energetics of the rusty lizard *Sceloporus olivaceus*. *Ecology* **56**:1378-1387.
- Easterling, D. R., G. A. Meehl, C. Parmesan, S. A. Changnon, T. R. Karl, and L. O. Mearns. 2000. Climate extremes: Observations, modeling, and impacts. *Science* **289**:2068-2074.
- Elith, J. and M. Burgman. 2002. Predictions and their validation: Rare plants in the Central Highlands, Victoria, Australia. Pages 303-313 in J. M. Scott, P. J. Heglund, M. L. Morrison, J. B. Haufler, M. G. Raphael, W. A. Wall, and F. B. Samson, editors. *Predicting Species Occurrences: Issues of Accuracy and Scale*. Island Press, Covelo, CA.
- Elith, J., S. Ferrier, F. Huettmann, and J. Leathwick. 2005. The evaluation strip: a new and robust method for plotting predicted responses from species distribution models. *Ecological modelling* **186**:280-289.
- Elith, J., C. H. Graham, R. P. Anderson, M. Dudik, S. Ferrier, A. Guisan, R. J. Hijmans, F. Huettmann, J. R. Leathwick, A. Lehmann, J. Li, L. G. Lohmann, B. A. Loiselle, G. Manion, C. Moritz, M. Nakamura, Y. Nakazawa, J. M. Overton, A. T. Peterson, S. J. Phillips, K. Richardson, R. Scachetti-Pereira, R. E. Schapire, J. Soberon, S. Williams, M. S. Wisz, and N. E. Zimmermann. 2006. Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. *Ecography* **29**:129-151.
- Engler, R., A. Guisan, and L. Rechsteiner. 2004. An improved approach for predicting the distribution of rare and endangered species from occurrence and pseudo-absence data. *Journal of Applied Ecology* **41**:263-274.
- Engler, R., C. F. Randin, W. Thuiller, S. Dullinger, N. E. Zimmermann, M. B. Araujo, P. B. Pearman, G. Le Lay, C. Piedallu, C. H. Albert, P. Choler, G. Coldea, X. De Lamo, T. Dirnbock, J. C. Gegout, D. Gomez-Garcia, J. A. Grytnes, E. Heegaard, F. Hoistad, D. Nogues-Bravo, S. Normand, M. Puscas, M. T. Sebastia, A. Stanisci, J. P. Theurillat, M. R. Trivedi, P. Vittoz, and A. Guisan. 2011. 21st century climate change threatens mountain flora unequally across Europe. *Global Change Biology* **17**:2330-2341.
- Farmer, C. G. 2000. Parental care: The key to understanding endothermy and other convergent features in birds and mammals. *American Naturalist* **155**:326-334.
- Fitzpatrick, M. C. and W. W. Hargrove. 2009. The projection of species distribution models and the problem of non-analog climate. *Biodiversity and Conservation* **18**:2255-2261.
- Flatau, P. J., R. L. Walko, and W. R. Cotton. 1992. Polynomial fits to saturation vapor-pressure. *Journal of Applied Meteorology* **31**:1507-1513.

- Forsman, A. 1991. Variation in sexual size dimorphism and maximum body size among adder populations : Effects of prey size. *Journal of Animal Ecology* **60**:253-267.
- Forsman, A. 1995. Heating rates and body temperature variation in melanistic and zigzag *Vipera berus*: Does colour make a difference? *Annales Zoologici Fennici* **32**:365-374.
- Forsman, A. and S. As. 1987. Maintenance of color polymorphism in adder, *Vipera berus berus*, populations - A test of a popular hypothesis. *Oikos* **50**:13-16.
- Franco, A. M. A., J. K. Hill, C. Kitschke, Y. C. Collingham, D. B. Roy, R. Fox, B. Huntley, and C. D. Thomas. 2006. Impacts of climate warming and habitat loss on extinctions at species' low-latitude range boundaries. *Global Change Biology* **12**:1545-1553.
- Friedman, J. H. 1991. Multivariate adaptive regression splines. *Annals of Statistics* **19**:1-67.
- Gans, C., T. Krakauer, and C. V. Paganelli. 1968. Water loss in snakes: interspecific and intraspecific variability. *Comparative Biochemistry and Physiology* **27**:747-761.
- Garland, T. and S. C. Adolph. 1994. Why not to do 2-species comparative studies - Limitations on inferring adaptation. *Physiological Zoology* **67**:797-828.
- Garrigues, T., C. Dauga, E. Ferquel, V. Choumet, and A. B. Failloux. 2005. Molecular phylogeny of *Vipera Laurenti*, 1768 and the related genera *Macrovipera* (Reuss, 1927) and *Daboia* (Gray, 1842), with comments about neurotoxic *Vipera aspis aspis* populations. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **35**:35-47.
- Gasc, J. P., A. Cabela, D. Crnobrnja-isailovic, K. Dolmen, K. Grossenbacher, P. Haffner, J. Lescure, H. Martens, J. P. Martinez-Rica, H. Maurin, M. E. Oliviera, T. S. Sofianidou, M. Veith, and A. C. M. Zuiderwijk. 1997. Atlas of amphibians and reptiles in Europe. *Societas Europaea Herpetologica & Museum National d'Histoire Naturelle*.
- Ghalambor, C. K., R. B. Huey, P. R. Martin, J. J. Tewksbury, and G. Wang. 2006. Are mountain passes higher in the tropics? Janzen's hypothesis revisited. *Integrative and Comparative Biology* **46**:5-17.
- Gillooly, J. F. and S. I. Dodson. 2000. The relationship of neonate mass and incubation temperature to embryonic development time in a range of animal taxa. *Journal of Zoology* **251**:369-375.
- Glor, R. E. and D. Warren. 2011. Testing ecological explanations for biogeographic boundaries. *Evolution* **65**:673-683.
- Gordon, C., C. Cooper, C. A. Senior, H. Banks, J. M. Gregory, T. C. Johns, J. F. B. Mitchell, and R. A. Wood. 2000. The simulation of SST, sea ice extents and ocean heat transports in a version of the Hadley Centre coupled model without flux adjustments. *Climate Dynamics* **16**:147-168.

- Goudet, J. 1995. FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Journal of heredity* **86**:485-486.
- Graham, C. H., S. R. Ron, J. C. Santos, C. J. Schneider, and C. Moritz. 2004. Integrating phylogenetics and environmental niche models to explore speciation mechanisms in dendrobatid frogs. *Evolution* **58**:1781-1793.
- Greenwald, O. E. 1974. Thermal dependence of striking and prey capture by gopher snakes. *Copeia* **1974**:141-148.
- Gregory, P. T., L. H. Crampton, and K. M. Skebo. 1999. Conflicts and interactions among reproduction, thermoregulation and feeding in viviparous reptiles: are gravid snakes anorexic? *Journal of Zoology* **248**:231-241.
- Grover, M. C. 1996. Microhabitat use and thermal ecology of two narrowly sympatric *Sceloporus* (Phrynosomatidae) lizards. *Journal of Herpetology* **30**:152-160.
- Guiller, G. 2009. Les voies ferrées: une alternative pour la conservation des ophidiens. *Bulletin de la Société des sciences naturelles de l'Ouest de la France* **31**:1-21.
- Guiller, G. and J. Legentilhomme. 2006. Impact des pratiques agricoles sur une population de *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) (Ophidia, Viperidae) en Loire-Atlantique. *Bulletin de la Société des sciences naturelles de l'Ouest de la France* **28**:73-82.
- Guisan, A., O. Broennimann, R. Engler, M. Vust, N. G. Yoccoz, A. Lehmann, and N. E. Zimmermann. 2006. Using niche-based models to improve the sampling of rare species. *Conservation Biology* **20**:501-511.
- Guisan, A. and U. Hofer. 2003. Predicting reptile distributions at the mesoscale: relation to climate and topography. *Journal of biogeography* **30**:1233-1243.
- Guisan, A. and W. Thuiller. 2005. Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecology Letters* **8**:993-1009.
- Guisan, A. and N. E. Zimmermann. 2000. Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological modelling* **135**:147-186.
- Gunderson, A. R., J. Siegel, and M. Leal. 2011. Tests of the contribution of acclimation to geographic variation in water loss rates of the West Indian lizard *Anolis cristatellus*. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* **181**:965-972.
- Habel, J. C., T. Schmitt, M. Meyer, A. Finger, D. Rodder, T. Assmann, and F. E. Zachos. 2010. Biogeography meets conservation: the genetic structure of the endangered lycaenid butterfly *Lycaena helle* (Denis & Schiffermuller, 1775). *Biological Journal of the Linnean Society* **101**:155-168.

- Haffer, J. 1986. Superspecies and species limits in vertebrates. *Zeitschrift Fur Zoologische Systematik Und Evolutionsforschung* **24**:169-190.
- Hairston, N. G. 1981. An experimental test of a guild - salamander competition. *Ecology* **62**:65-72.
- Hanley, J. A. and B. J. McNeil. 1982. The meaning and use of the area under a Receiver Operating (ROC) Curvel characteristic. *Radiology* **143**:29-36.
- Hare, J. R., K. M. Holmes, J. L. Wilson, and A. Cree. 2009. Modelling exposure to selected temperature during pregnancy: the limitations of squamate viviparity in a cool-climate environment. *Biological Journal of the Linnean Society* **96**:541-552.
- Hare, K. M., S. Pledger, M. B. Thompson, J. H. Miller, and C. H. Daugherty. 2006. Daily patterns of metabolic rate among New Zealand lizards (Reptilia : Lacertilia : Diplodactylidae and Scincidae). *Physiological and Biochemical Zoology* **79**:745-753.
- Harmon, L. J., L. L. Harmon, and C. G. Jones. 2007. Competition and community structure in diurnal arboreal geckos (genus *Phelsuma*) in the Indian Ocean. *Oikos* **116**:1863-1878.
- Hastie, T., R. Tibshirani, and A. Buja. 1994. Flexible discriminant-analysis by optimal scoring. *Journal of the American Statistical Association* **89**:1255-1270.
- Hastie, T. J. and R. J. Tibshirani. 1990. *Generalized additive models*. Chapman & Hall/CRC.
- Hazel, J. R. and C. L. Prosser. 1974. Molecular mechanisms of temperature compensation in poikilotherms. *Physiological Reviews* **54**:620-677.
- Heinrich, B. 1974. Thermoregulation in endothermic insects. *Science* **185**:747-756.
- Helmuth, B., J. G. Kingsolver, and E. Carrington. 2005. Biophysics, physiological ecology, and climate change: Does mechanism matter? Pages 177-201 *Annual review of physiology*.
- Herczeg, G., A. Gonda, J. Perala, J. Saarikivi, A. Tuomola, and J. Merila. 2007a. Ontogenetic differences in the preferred body temperature of the European adder *Vipera berus*. *The Herpetological Journal* **17**:58-61.
- Herczeg, G., A. Herrero, J. Saarikivi, A. Gonda, M. Jantti, and J. Merila. 2008. Experimental support for the cost-benefit model of lizard thermoregulation: the effects of predation risk and food supply. *Oecologia* **155**:1-10.
- Herczeg, G., T. Kovacs, A. Hettyey, and J. Merila. 2003. To thermoconform or thermoregulate? An assessment of thermoregulation opportunities for the lizard *Zootoca vivipara* in the subarctic. *Polar Biology* **26**:486-490.

- Herczeg, G., J. Saarikivi, A. Gonda, J. Perala, A. Tuomola, and J. Merila. 2007b. Suboptimal thermoregulation in male adders (*Vipera berus*) after hibernation imposed by spermiogenesis. *Biological Journal of the Linnean Society* **92**:19-27.
- Hertz, P. E., R. B. Huey, and T. Garland. 1988. Time budgets, thermoregulation, and maximal locomotor performance: are reptiles olympians or boy scouts. *American Zoologist* **28**:927-938.
- Hertz, P. E., R. B. Huey, and E. Nevo. 1982. Fight versus flight: body temperature influences defensive responses of lizards. *Animal Behaviour* **30**:676-679.
- Hertz, P. E., R. B. Huey, and E. Nevo. 1983. Homage to Santa-Anita: Thermal sensitivity of sprint speed in agamid lizards. *Evolution* **37**:1075-1084.
- Hertz, P. E., R. B. Huey, and R. D. Stevenson. 1993. Evaluating temperature regulation by field-active ectotherms - The fallacy of the inappropriate question. *American Naturalist* **142**:796-818.
- Hewitt, G. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* **405**:907-913.
- Hewitt, G. M. 2004. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* **359**:183-195.
- Hijmans, R. J. and C. H. Graham. 2006. The ability of climate envelope models to predict the effect of climate change on species distributions. *Global Change Biology* **12**:2272-2281.
- Hinzman, L. D., N. D. Bettez, W. R. Bolton, F. S. Chapin, M. B. Dyurgerov, C. L. Fastie, B. Griffith, R. D. Hollister, A. Hope, H. P. Huntington, A. M. Jensen, G. J. Jia, T. Jorgenson, D. L. Kane, D. R. Klein, G. Kofinas, A. H. Lynch, A. H. Lloyd, A. D. McGuire, F. E. Nelson, W. C. Oechel, T. E. Osterkamp, C. H. Racine, V. E. Romanovsky, R. S. Stone, D. A. Stow, M. Sturm, C. E. Tweedie, G. L. Vourlitis, M. D. Walker, D. A. Walker, P. J. Webber, J. M. Welker, K. Winker, and K. Yoshikawa. 2005. Evidence and implications of recent climate change in northern Alaska and other arctic regions. *Climatic Change* **72**:251-298.
- Hirano, M. and L. C. Rome. 1984. Jumping performance of frogs (*Rana pipiens*) as a function of muscle temperature. *Journal of Experimental Biology* **108**:429-439.
- Hirzel, A. H., J. Hausser, D. Chessel, and N. Perrin. 2002. Ecological-niche factor analysis: How to compute habitat-suitability maps without absence data? *Ecology* **83**:2027-2036.

- Hochachka, P. W. and G. N. Somero. 2002. Biochemical adaptation: mechanism and process in physiological evolution. Oxford University Press, USA.
- Hopkins, W. A., J. H. Roe, T. Philippi, and J. D. Congdon. 2004. Standard and digestive metabolism in the banded water snake, *Nerodia fasciata fasciata*. Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology **137**:141-149.
- Howe, S. A. and A. T. Marshall. 2002. Temperature effects on calcification rate and skeletal deposition in the temperate coral, *Plesiastrea versipora* (Lamarck). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology **275**:63-81.
- Huey, R. B. 1974. Behavioral thermoregulation in lizards - Importance of associated costs. Science **184**:1001-1003.
- Huey, R. B. 1979. Parapatry and niche complementarity of Peruvian desert geckos (*Phyllodactylus*) - The ambiguous role of the competition. Oecologia **38**:249-259.
- Huey, R. B. 1982. Temperature, physiology and the ecology of reptiles. Pages 25-91 in F. H. Pough and C. Gans, editors. Biology of Reptilia. Academic Press, New York.
- Huey, R. B. and A. F. Bennett. 1987. Phylogenetic studies of coadaptation - Preferred temperatures versus optimal performance temperatures of lizards. Evolution **41**:1098-1115.
- Huey, R. B., C. A. Deutsch, J. J. Tewksbury, L. J. Vitt, P. E. Hertz, H. J. A. Perez, and T. Garland. 2009. Why tropical forest lizards are vulnerable to climate warming. Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences **276**:1939-1948.
- Huey, R. B. and P. E. Hertz. 1984. Is a jack-of-all-temperatures a master of none? Evolution **38**:441-444.
- Huey, R. B. and J. G. Kingsolver. 1989. Evolution of thermal sensitivity of ectotherm performance. Trends in Ecology & Evolution **4**:131-135.
- Huey, R. B. and M. Slatkin. 1976. Cost and benefits of lizard thermoregulation. Quarterly Review of Biology **51**:363-384.
- Huey, R. B. and R. D. Stevenson. 1979. Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms: a discussion of approaches. American Zoologist **19**:357-366.
- Hutchinson, G. E. 1957. Population studies - Animal ecology and demography - Concluding remarks. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology **22**:415-427.
- James, R. and F. Seebacher. 2008. Do changes in muscle mechanics explain alterations in locomotor performance caused by thermal acclimation in the saltwater crocodile (*Crocodylus porosus*)? Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology **150**:S76-S76.

- Janzen, D. H. 1967. Why mountain passes are higher in the tropics. *American Naturalist* **101**:233-249.
- Jarvis, A., H. I. Reuter, A. Nelson, and E. Guevara. 2008. Hole-filled seamless SRTM data V4, International Centre for Tropical Agriculture (CIAT). Cali, Columbia.
- Johnston, I. A. and A. F. Bennett. 2008. *Animals and temperature: phenotypic and evolutionary adaptation*. Cambridge University Press.
- Kalyabina-Hauf, S., S. Schweiger, U. Joger, and W. Mayer. 2004. Phylogeny and systematics of adders (*Vipera berus* complex). *Mertensiella* **15**:7-15.
- Kaufmann, R. and F. H. Pough. 1982. The effect of temperature upon the efficiency of assimilation of preformed water by the desert iguana (*Dipsosaurus dorsalis*). *Comparative Biochemistry and Physiology a-Physiology* **72**:221-224.
- Kearney, M. 2006. Habitat, environment and niche: what are we modelling? *Oikos* **115**:186-191.
- Kearney, M. 2012. Metabolic theory, life history and the distribution of a terrestrial ectotherm. *Functional Ecology* **26**:167-179.
- Kearney, M., A. Moussalli, J. Strasburg, D. Lindenmayer, and C. Moritz. 2003. Geographic parthenogenesis in the Australian arid zone: I. A climatic analysis of the *Heteronotia binoei* complex (Gekkonidae). *Evolutionary Ecology Research* **5**:953-976.
- Kearney, M., B. L. Phillips, C. R. Tracy, K. A. Christian, G. Betts, and W. P. Porter. 2008. Modelling species distributions without using species distributions: the cane toad in Australia under current and future climates. *Ecography* **31**:423-434.
- Kearney, M. and W. Porter. 2009. Mechanistic niche modelling: combining physiological and spatial data to predict species' ranges. *Ecology Letters* **12**:334-350.
- Kearney, M. and W. P. Porter. 2004. Mapping the fundamental niche: physiology, climate, and the distribution of a nocturnal lizard. *Ecology* **85**:3119-3131.
- Kearney, M., W. P. Porter, C. Williams, S. Ritchie, and A. A. Hoffmann. 2009a. Integrating biophysical models and evolutionary theory to predict climatic impacts on species ranges: the dengue mosquito *Aedes aegypti* in Australia. *Functional Ecology* **23**:528-538.
- Kearney, M., R. Shine, and W. P. Porter. 2009b. The potential for behavioral thermoregulation to buffer "cold-blooded" animals against climate warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106**:3835-3840.

- Kearney, M., N. J. Briscoe, D. J. Karoly, W. P. Porter, M. Norgate and P. Sunnucks. 2010a. Early emergence in a butterfly causally linked to anthropogenic warming. *Biology Letters* **6**:674-677.
- Kearney, M. R., B. A. Wintle, and W. P. Porter. 2010b. Correlative and mechanistic models of species distribution provide congruent forecasts under climate change. *Conservation Letters* **3**:203-213.
- Kerr, G. D. and C. M. Bull. 2006. Interactions between climate, host refuge use, and tick population dynamics. *Parasitology Research* **99**:214-222.
- Key, K. H. L. 1981. Species, parapatry and the morabine grasshoppers. *Systematic Zoology* **30**:425-458.
- Kingsolver, J. G. and W. B. Watt. 1983. Thermoregulatory strategies in *Colias* butterflies - Thermal-stress and the limits to adaptation in temporally varying environments. *American Naturalist* **121**:32-55.
- Kohler, A., J. Sadowska, J. Olszewska, P. Trzeciak, O. Berger-Tal, and C. R. Tracy. 2011. Staying warm or moist? Operative temperature and thermal preferences of common frogs (*Rana temporaria*), and effects on locomotion. *Herpetological Journal* **21**:17-26.
- Krebs, C. J. 1972. *Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance*. Benjamin Cummings; 5 edition.
- Labra, A. and F. Bozinovic. 2002. Interplay between pregnancy and physiological thermoregulation in *Liolaemus* lizards. *Ecoscience* **9**:421-426.
- Labra, A., J. Pienaar, and T. F. Hansen. 2009. Evolution of Thermal Physiology in *Liolaemus* Lizards: Adaptation, Phylogenetic Inertia, and Niche Tracking. *American Naturalist* **174**:204-220.
- Labra, A., M. Soto-Gamboa, and F. Bozinovic. 2001. Behavioral and physiological thermoregulation of Atacama desert-dwelling *Liolaemus* lizards. *Ecoscience* **8**:413-420.
- Ladyman, M., X. Bonnet, O. Lourdais, D. Bradshaw, and G. Naulleau. 2003. Gestation, thermoregulation, and metabolism in a viviparous snake, *Vipera aspis*: evidence for fecundity-independent costs. *Physiological and Biochemical Zoology* **76**:497-510.
- Ladyman, M. and D. Bradshaw. 2003. The influence of dehydration on the thermal preferences of the Western tiger snake, *Notechis scutatus*. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* **173**:239-246.
- Lagerspetz, K. Y. H. and L. A. Vainio. 2006. Thermal behaviour of crustaceans. *Biological Reviews* **81**:237-258.

- Langella, O. 1999. Populations 1.2. 28 (12/5/2002): a population genetic software. CNRS UPR9034.
- Lapini, L. 1983. Anfibi e rettili (del Friuli Venezia Giulia). Carlo Lorenzini Editore, Udine.
- Lapini, L. 1988. Osservazioni sulla fauna erpetologica (Amphibia, Reptilia) dell'alta Val Torre (Italia nord-orientale, Prealpi Giulie). *Gortania* **9**:201-222.
- Lardies, M. A., L. D. Bacigalupe, and F. Bozinovic. 2004. Testing the metabolic cold adaptation hypothesis: an intraspecific latitudinal comparison in the common woodlouse. *Evolutionary Ecology Research* **6**:567-578.
- Lasiewski, R. C., A. L. Acosta, and M. H. Bernstei. 1966. Evaporative water loss in birds. I. Characteristics of open flow method of determination and their relation to estimates of thermoregulatory ability. *Comparative Biochemistry and Physiology* **19**:445-457.
- Lawton, J. H. 1999. Are there general laws in ecology? *Oikos* **84**:177-192.
- Le Galliard, J. F., J. Clobert, and R. Ferriere. 2004. Physical performance and darwinian fitness in lizards. *Nature* **432**:502-505.
- Le Lay, G., R. Engler, E. Franc, and A. Guisan. 2010. Prospective sampling based on model ensembles improves the detection of rare species. *Ecography* **33**:1015-1027.
- Lelievre, H., G. Blouin-Demers, D. Pinaud, H. Lisse, X. Bonnet, and O. Lourdais. 2011. Contrasted thermal preferences translate into divergences in habitat use and realized performance in two sympatric snakes. *Journal of Zoology* **284**:265-275.
- Lenk, P., S. Kalyabina, M. Wink, and U. Joger. 2001. Evolutionary relationships among the true vipers (Reptilia: Viperidae) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **19**:94-104.
- Lepetz, V. 2009. Rechauffement climatique, dessins dorsaux et variabilité environnementale chez le lézard vivipare, *Lacerta vivipara*. PhD. Université Pierre et Marie Curie.
- Lesica, P. and B. McCune. 2004. Decline of arctic-alpine plants at the southern margin of their range following a decade of climatic warming. *Journal of Vegetation Science* **15**:679-690.
- Lillywhite, H. B. 2006. Water relations of tetrapod integument. *Journal of Experimental Biology* **209**:202-226.
- Lopez, P. and J. Martin. 2001. Fighting rules and rival recognition reduce costs of aggression in male lizards, *Podarcis hispanica*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **49**:111-116.
- Lorenzon, P., J. Clobert, and M. Massot. 2001. The contribution of phenotypic plasticity to adaptation in *Lacerta vivipara*. *Evolution* **55**:392-404.

- Lourdais, O., X. Bonnet, and P. Doughty. 2002a. Costs of anorexia during pregnancy in a viviparous snake (*Vipera aspis*). *Journal of Experimental Zoology* **292**:487-493.
- Lourdais, O., X. Bonnet, R. Shine, D. Denardo, G. Naulleau, and M. Guillon. 2002b. Capital-breeding and reproductive effort in a variable environment: a longitudinal study of a viviparous snake. *Journal of Animal Ecology* **71**:470-479.
- Lourdais, O., X. Bonnet, R. Shine, and E. N. Taylor. 2003. When does a reproducing female viper (*Vipera aspis*) "decide" on her litter size? *Journal of Zoology* **259**:123-129.
- Lourdais, O., T. C. M. Hoffman, and D. F. DeNardo. 2007. Maternal brooding in the children's python (*Antaresia childreni*) promotes egg water balance. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* **177**:569-577.
- Lourdais, O., R. Shine, X. Bonnet, M. Guillon, and G. Naulleau. 2004. Climate affects embryonic development in a viviparous snake, *Vipera aspis*. *Oikos* **104**:551-560.
- Luiselli, L. 2006. Resource partitioning and interspecific competition in snakes: the search for general geographical and guild patterns. *Oikos* **114**:193-211.
- Lutolf, M., F. Kienast, and A. Guisan. 2006. The ghost of past species occurrence: improving species distribution models for presence-only data. *Journal of Applied Ecology* **43**:802-815.
- Lynch, V. J. 2009. Live-birth in vipers (Viperidae) is a key innovation and adaptation to global cooling during the Cenozoic. *Evolution* **63**:2457-2465.
- MacArthur, R. H. 1984. *Geographical ecology: patterns in the distribution of species*. Princeton University Press.
- Madsen, T. 1988. Reproductive success, mortality and sexual size dimorphism in the adder, *Vipera berus*. *Holarctic Ecology* **11**:77-80.
- Madsen, T. and R. Shine. 1993. Costs of reproduction in a population of European adders. *Oecologia* **94**:488-495.
- Madsen, T., R. Shine, J. Loman, and T. Hakansson. 1993. Determinants of mating success in male adders, *Vipera berus*. *Animal Behaviour* **45**:491-499.
- Madsen, T., R. Shine, M. Olsson, and H. Wittzell. 1999. Conservation biology - Restoration of an inbred adder population. *Nature* **402**:34-35.
- Marmion, M., M. Luoto, R. K. Heikkinen, and W. Thuiller. 2009. The performance of state-of-the-art modelling techniques depends on geographical distribution of species. *Ecological Modelling* **220**:3512-3520.

- Martinez-Freiria, F. 2009. *Vibora aspid - Vipera aspis* (Linnaeus, 1758).in A. Salvador, Marco, A., editor. Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Espanoles. Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid.
- Martinez-Freiria, F., M. Lizana, J. P. do Amaral, and J. C. Brito. 2010. Spatial and temporal segregation allows coexistence in a hybrid zone among two Mediterranean vipers (*Vipera aspis* and *V. latastei*). *Amphibia-Reptilia* **31**:195-212.
- McConnell, E. and A. G. Richards. 1955. How fast can a cockroach run. *Bulletin of the Brooklyn Entomological Society* **50**:36-43.
- McCullagh, P. and J. A. Nelder. 1989. Generalized linear models (Monographs on statistics and applied probability 37). Chapman Hall, London.
- McGill, B. J., B. J. Enquist, E. Weiher, and M. Westoby. 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution* **21**:178-185.
- Medvick, P. A., J. J. Magnuson, and S. Sharr. 1981. Behavioral thermoregulation and social interactions of bluegills, *Lepomis macrochirus*. *Copeia*:9-13.
- Melville, J. 2002. Competition and character displacement in two species of scincid lizards. *Ecology Letters* **5**:386-393.
- Mitchell, J. F. B. 2004. Can we believe predictions of climate change? *Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society* **130**:2341-2360.
- Mitchell, J. F. B., T. C. Johns, C. A. Senior, P. Hadley Centre for Climate, and Research. 1998. Transient response to increasing greenhouse gases using models with and without flux adjustment. Hadley Centre for Climate Prediction and Research, Meteorological Office.
- Mitchell, T. D. and P. D. Jones. 2005. An improved method of constructing a database of monthly climate observations and associated high-resolution grids. *International Journal of Climatology* **25**:693-712.
- Moen, D. S., C. T. Winne, and R. N. Reed. 2005. Habitat-mediated shifts and plasticity in the evaporative water loss rates of two congeneric pit vipers (Squamata, Viperidae, *Agkistrodon*). *Evolutionary Ecology Research* **7**:759-766.
- Moilanen, A. and B. A. Wintle. 2007. The boundary-quality penalty: a quantitative method for approximating species responses to fragmentation in reserve selection. *Conservation Biology* **21**:355-364.
- Mondal, S. and U. Rai. 2001. In vitro effect of temperature on phagocytic and cytotoxic activities of splenic phagocytes of the wall lizard, *Hemidactylus flaviviridis*.

- Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular and Integrative Physiology **129**:391-398.
- Monney, J. C. 1996. Biologie comparée de *Vipera aspis* L. et de *Vipera berus* L.(Reptilia, Ophidia, Viperidae) dans une station des Préalpes bernoises. PhD. Université de Neuchâtel, Institut de Zoologie.
- Nagy, K. A. 2005. Field metabolic rate and body size. *Journal of Experimental Biology* **208**:1621-1625.
- Nakicenovic, N. and R. Swart. 2000. Emissions Scenarios: Special Report of IPCC Working Group III. IPCC.
- Naulleau, G. 1981. Détermination des périodes de l'ovulation chez *Vipera aspis* et *Vipera berus* dans l'ouest de la France, étudiée par radiographie. *Bulletin de la Société des sciences naturelles de l'Ouest de la France* **3**:151-153.
- Naulleau, G. 1983a. The effects of temperature on digestion in 5 species of european vipers of genus *Vipera*. *Bulletin De La Societe Zoologique De France-Evolution Et Zoologie* **108**:47-58.
- Naulleau, G. 1983b. The effects of temperature on digestion in *Vipera aspis*. *Journal of Herpetology* **17**:166-170.
- Naulleau, G. 1986. Effects of temperature on gestation in *Vipera aspis* and *Vipera berus* (Reptilia: Serpentes). *Studies in Herpetology*:489-494.
- Naulleau, G. 1997. La vipère aspic. *Eveil nature*.
- Naulleau, G., X. Bonnet, and S. Duret. 1996. Déplacements et domaines vitaux des femelles reproductrices de vipères aspic *Vipera aspis* (Reptilia, Viperidae) dans le centre ouest de la France. *Bulletin de la Société herpétologique de France*:5-18.
- Naulleau, G. and M. Marques. 1973. Preliminary biotelemetric study on body-temperature regulation in digestion in *Vipera aspis*. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Academie des sciences. Série D* **276**:3433-3436.
- Naulleau, G. and H. Saint Girons. 1981. Poids des nouveau-nés et reproduction de *Vipera aspis* (Reptilia: Viperidae), dans des conditions naturelles et artificielles. *Amphibia-Reptilia* **2**:51-62.
- Nilson, G. 1980. Male reproductive cycle of the european adder, *Vipera berus*, and its relation to annual activity periods. *Copeia* **1980**:729-737.
- Nilson, G. and C. Andren. 1997. Evolution, systematics and biogeography of Palaearctic vipers. Pages 31-42. London: The Society, 1960-1999.

- O'Connor, M. P., A. E. Sieg, and A. E. Dunham. 2006. Linking physiological effects on activity and resource use to population level phenomena. *Integrative and Comparative Biology* **46**:1093-1109.
- Ojanguren, A. F. and F. Brana. 2000. Thermal dependence of swimming endurance in juvenile brown trout. *Journal of Fish Biology* **56**:1342-1347.
- Ojanguren, A. F. and F. Brana. 2003. Thermal dependence of embryonic growth and development in brown trout. *Journal of Fish Biology* **62**:580-590.
- Olalla-Tarraga, M. A., M. A. Rodriguez, and B. A. Hawkins. 2006. Broad-scale patterns of body size in squamate reptiles of Europe and North America. *Journal of biogeography* **33**:781-793.
- Olsson, M. and R. Shine. 1997. The seasonal timing of oviposition in sand lizards (*Lacerta agilis*): Why early clutches are better. *Journal of Evolutionary Biology* **10**:369-381.
- Orsini, P. 1984. Sur l'existence de trois espèces de Vipères dans les Alpes-Maritimes. *Bulletin du Centre de Recherche Ornithologique de Provence* **6**:10-11.
- Parmesan, C. 2006. Ecological and evolutionary responses to recent climate change. Pages 637-669 *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*.
- Parmesan, C., T. L. Root, and M. R. Willig. 2000. Impacts of extreme weather and climate on terrestrial biota. *Bulletin of the American Meteorological Society* **81**:443-450.
- Parmesan, C., N. Ryrholm, C. Stefanescu, J. K. Hill, C. D. Thomas, H. Descimon, B. Huntley, L. Kaila, J. Kullberg, T. Tammaru, W. J. Tennent, J. A. Thomas, and M. Warren. 1999. Poleward shifts in geographical ranges of butterfly species associated with regional warming. *Nature* **399**:579-583.
- Parmesan, C. and G. Yohe. 2003. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature* **421**:37-42.
- Peakall, R. O. D. and P. E. Smouse. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* **6**:288-295.
- Pearson, R. G. and T. P. Dawson. 2003. Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: are bioclimate envelope models useful? *Global Ecology and Biogeography* **12**:361-371.
- Pianka, E. R. and H. D. Pianka. 1970. The Ecology of *Moloch horridus* (Lacertilia Agamidae) in western Australia. *Copeia* **1970**:90-103.

- Pinston, H., E. Craney, D. Pépin, M. Montadert, and M. Duquet. 2000. Amphibiens et Reptiles de Franche-Comté. Atlas commenté de répartition. Groupe naturaliste de Franche-Comté (ed.), Besançon.:116.
- Polo, V., P. Lopez, and J. Martin. 2005. Balancing the thermal costs and benefits of refuge use to cope with persistent attacks from predators: a model and an experiment with an alpine lizard. *Evolutionary Ecology Research* **7**:23-35.
- Porter, W. P. 1989. New animal models and experiments for calculating growth potential at different elevations. *Physiological Zoology* **62**:286-313.
- Porter, W. P. and M. Kearney. 2009. Size, shape, and the thermal niche of endotherms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **106**:19666-19672.
- Porter, W. P. and J. W. Mitchell. 2006. Method and system for calculating the spatial-temporal effects of climate and other environmental conditions on animals. Google Patents.
- Porter, W. P., J. C. Munger, W. E. Stewart, S. Budaraju, and J. Jaeger. 1994. Endotherm energetics - From a scalable individual-based model to ecological applications. *Australian Journal of Zoology* **42**:125-162.
- Pörtner, H. O. 2002. Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular and Integrative Physiology* **132**:739-761.
- Pörtner, H. O. and A. P. Farrell. 2008. Physiology and climate change. *Science* **322**:690-692.
- Pough, F. H. 1980. Advantages of ectothermy for tetrapods. *American Naturalist* **115**:92-112.
- Prange, H. D. and K. Schmidt-Nielsen. 1969. Evaporative water loss in snakes. *Comparative Biochemistry and Physiology* **28**:973-975.
- Prestt, I. 1971. Ecological study of viper *Vipera berus* in southern Britain. *Journal of Zoology* **164**:373-418.
- Provan, J. and K. D. Bennett. 2008. Phylogeographic insights into cryptic glacial refugia. *Trends in Ecology & Evolution* **23**:564-571.
- Qualls, C. P. and R. M. Andrews. 1999. Cold climates and the evolution of viviparity in reptiles: cold incubation temperatures produce poor-quality offspring in the lizard, *Sceloporus virgatus*. *Biological Journal of the Linnean Society* **67**:353-376.
- Reinert, H. K. 1984. Habitat separation between sympatric snake populations. *Ecology* **65**:478-486.

- Ricklefs, R. E. and M. Wikelski. 2002. The physiology/life-history nexus. *Trends in Ecology & Evolution* **17**:462-468.
- Ridgeway, G. 1999. The state of boosting. *Computing Science and Statistics*:172-181.
- Ripley, B. D. 1996. *Pattern recognition and neural networks*. Cambridge Uni. Press, Cambridge.
- Robert, K. A., M. B. Thompson, and F. Seebacher. 2006. Thermal biology of a viviparous lizard with temperature-dependant sex determination. *Journal of Thermal Biology* **31**:292-301.
- Rodriguez-Diaz, T., F. Gonzalez, X. Ji, and F. Brana. 2010. Effects of incubation temperature on hatchling phenotypes in an oviparous lizard with prolonged egg retention: are the two main hypotheses on the evolution of viviparity compatible? *Zoology* **113**:33-38.
- Rohling, E. J., M. Fenton, F. J. Jorissen, P. Bertrand, G. Ganssen, and J. P. Caulet. 1998. Magnitudes of sea-level lowstands of the past 500,000 years. *Nature* **394**:162-165.
- Root, T. 1988. Energy constraints on avian distributions and abundance. *Ecology* **69**:330-339.
- Root, T. L., J. T. Price, K. R. Hall, S. H. Schneider, C. Rosenzweig, and J. A. Pounds. 2003. Fingerprints of global warming on wild animals and plants. *Nature* **421**:57-60.
- Row, J. R. and G. Blouin-Demers. 2006. Thermal quality influences habitat selection at multiple spatial scales in milksnakes. *Ecoscience* **13**:443-450.
- Saint Girons, H. 1952. *Ecologie et éthologie des vipères de France*. Annales des sciences naturelles. Zoologie et biologie animale **14**:263-341.
- Saint Girons, H. 1957. Le cycle sexuel chez *Vipera aspis* (L) dans l'ouest de la France. *Bulletin Biologique de la France et de la Belgique* **91**:284-350.
- Saint Girons, H. 1975a. Coexistence de *Vipera aspis* et de *Vipera berus* en Loire-Atlantique: un probleme de competition interspecific. *La Terre et la Vie* **29**:590-613.
- Saint Girons, H. 1975b. Observations préliminaires sur la thermorégulation des vipères d'Europe. *Vie et Milieu* **25**:137-168.
- Saint Girons, H. 1978. Thermorégulation comparée des Vipères d'Europe. Etude biotéléométrique. *Terre et vie* **32**:417-440.
- Saint Girons, H. 1980a. Biogéographie et évolution des vipères européennes. *Comptes Rendus de la Société de Biogéographie* **496**:146-172.
- Saint Girons, H. 1980b. Modifications sélectives du régime des vipères (Reptilia: Viperidae) lors de la croissance. *Amphibia-Reptilia* **1**:127-136.
- Saint Girons, H. 1982. Reproductive cycles of male snakes and their relationships with climate and female reproductive cycles. *Herpetologica* **38**:5-16.

- Saint Girons, H. and E. Kramer. 1963. Le cycle sexuel chez *Vipera berus* (L.) en montagne. *Revue suisse de zoologie* **70**:191-221.
- Saint Girons, H. and G. Naulleau. 1981. Individual body-weight of the newborn and reproductive strategies among european vipers. *Terre Et La Vie-Revue D'Ecologie Appliquee* **35**:597-616.
- Saint Girons, H., G. Naulleau, and M. L. Celerier. 1985. Le métabolisme aéroble de *Vipera aspis* et de *Vipera berus* (Reptilia: Viperidae) acclimatées à des conditions naturelles. Influence de la température et comparaison des deux espèces. *Amphibia-Reptilia* **6**:71-81.
- Samways, M. J. 1994. *Insect conservation biology*. Springer.
- Scali, S., M. Mangiacotti, R. Sacchi, and A. Gentili. 2011. A tribute to Hubert Saint Girons: niche separation between *Vipera aspis* and *V. berus* on the basis of distribution models. *Amphibia-Reptilia* **32**:223-233.
- Schmitt, T. 2007. Molecular biogeography of Europe: Pleistocene cycles and postglacial trends. *Frontiers in Zoology* **4**:1-13.
- Seebacher, F. and G. C. Grigg. 2001. Changes in heart rate are important for thermoregulation in the varanid lizard *Varanus varius*. *Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology* **171**:395-400.
- Seebacher, F., H. Guderley, R. M. Elsey, and P. L. Trosclair. 2003. Seasonal acclimatisation of muscle metabolic enzymes in a reptile (*Alligator mississippiensis*). *Journal of Experimental Biology* **206**:1193-1200.
- Segurado, P. and M. B. Araujo. 2004. An evaluation of methods for modelling species distributions. *Journal of biogeography* **31**:1555-1568.
- Shapiro, A. M. 1992. 20 years of fluctuating parapatry and the question of competitive-exclusion in the butterflies *Pontia occidentalis* and *P. protodice* (lepidoptera, pieridae) *Journal of the New York Entomological Society* **100**:311-319.
- Shine, R. 1980. Costs of reproduction in reptiles. *Oecologia* **46**:92-100.
- Shine, R. 1985. The evolution of viviparity in reptiles: an ecological analysis. *Biology of the Reptilia* **15**:605-694.
- Shine, R. 1995. A new hypothesis for the evolution of viviparity in reptiles. *American Naturalist* **145**:809-823.
- Shine, R. 2004. Seasonal shifts in nest temperature can modify the phenotypes of hatchling lizards, regardless of overall mean incubation temperature. *Functional Ecology* **18**:43-49.

- Shine, R. 2006. Is increased maternal basking an adaptation or a pre-adaptation to viviparity in lizards? *Journal of Experimental Zoology Part a-Comparative Experimental Biology* **305A**:524-535.
- Shine, R. and J. J. Bull. 1979. Evolution of life-bearing in lizards and snakes. *American Naturalist* **113**:905-923.
- Shine, R. and M. J. Elphick. 2001. The effect of short-term weather fluctuations on temperatures inside lizard nests, and on the phenotypic traits of hatchling lizards. *Biological Journal of the Linnean Society* **72**:555-565.
- Shine, R. and P. Harlow. 1993. Maternal thermoregulation influences offspring viability in a viviparous lizard. *Oecologia* **96**:122-127.
- Shine, R. and T. Madsen. 1996. Is thermoregulation unimportant for most reptiles? An example using water pythons (*Liasis fuscus*) in tropical Australia. *Physiological Zoology* **69**:252-269.
- Sillero, N. and P. Tarroso. 2010. Free GIS for herpetologists: free data sources on Internet and comparison analysis of proprietary and free/open source software. *Acta Herpetologica* **5**:63-85.
- Simberloff, D. 2004. Community ecology: Is it time to move on? *American Naturalist* **163**:787-799.
- Sinervo, B., F. Méndez-de-la-Cruz, D. B. Miles, B. Heulin, E. Bastiaans, M. Villagrán-Santa Cruz, R. Lara-Resendiz, N. Martínez-Méndez, M. L. Calderón-Espinosa, and R. N. Meza-Lázaro. 2010. Erosion of lizard diversity by climate change and altered thermal niches. *Science* **328**:894-899.
- Somero, G. N. 2004. The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine "winners" and "losers". *Journal of Experimental Biology* **213**:912-920.
- Stahlschmidt, Z. R., J. Brashears, and D. F. DeNardo. 2011. The role of temperature and humidity in python nest site selection. *Animal Behaviour* **81**:1077-1081.
- Stevenson, R. D. 1985. The relative importance of behavioral and physiological adjustments controlling body-temperature in terrestrial ectotherms. *American Naturalist* **126**:362-386.
- Stevenson, R. D., C. R. Peterson, and J. S. Tsuji. 1985. The thermal dependence of locomotion, tongue flicking, digestion, and oxygen consumption in the wandering garter snake. *Physiological Zoology* **58**:46-57.

- Stewart, J. R. 2003. Comment on "Buffered tree population changes in a quaternary refugium: Evolutionary implications". *Science* **299**:825-825.
- Stewart, J. R. and A. M. Lister. 2001. Cryptic northern refugia and the origins of the modern biota. *Trends in Ecology & Evolution* **16**:608-613.
- Strasburg, J. L., M. Kearney, C. Moritz, and A. R. Templeton. 2007. Combining Phylogeography with Distribution Modeling: Multiple Pleistocene Range Expansions in a Parthenogenetic Gecko from the Australian Arid Zone. *Plos One* **2**:e760.
- Sulik, K. K., M. C. Johnston, and M. A. Webb. 1981. Fetal alcohol syndrome - Embryogenesis in a mouse model. *Science* **214**:936-938.
- Suri, M., T. A. Huld, E. D. Dunlop, and H. A. Ossenbrink. 2007. Potential of solar electricity generation in the European Union member states and candidate countries. *Solar energy* **81**:1295-1305.
- Sutherst, R. W., R. B. Floyd, and G. F. Maywald. 1996. The potential geographical distribution of the cane toad, *Bufo marinus* L in Australia. *Conservation Biology* **10**:294-299.
- Svenning, J. C., S. Normand, and M. Kageyama. 2008. Glacial refugia of temperate trees in Europe: insights from species distribution modelling. *Journal of Ecology* **96**:1117-1127.
- Swets, J. A. 1988. Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science* **240**:1285-1293.
- Taberlet, P., L. Fumagalli, A. G. Wust-Saucy, and J. F. Cosson. 1998. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology* **7**:453-464.
- Takezaki, N. and M. Nei. 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics* **144**:389-399.
- Tammaru, T. and E. Haukioja. 1996. Capital breeders and income breeders among Lepidoptera - Consequences to population dynamics. *Oikos* **77**:561-564.
- Thomas, C. D., A. M. A. Franco, and J. K. Hill. 2006. Range retractions and extinction in the face of climate warming. *Trends in Ecology & Evolution* **21**:415-416.
- Thuiller, W., M. B. Araujo, and S. Lavorel. 2004. Do we need land-cover data to model species distributions in Europe? *Journal of biogeography* **31**:353-361.
- Thuiller, W., B. Lafourcade, R. Engler, and M. B. Araujo. 2009. BIOMOD - a platform for ensemble forecasting of species distributions. *Ecography* **32**:369-373.
- Tinkle, D. W. and J. W. Gibbons. 1977. The distribution and evolution of viviparity in reptiles. Museum of Zoology, University of Michigan.

- Tsoar, A., O. Allouche, O. Steinitz, D. Rotem, and R. Kadmon. 2007. A comparative evaluation of presence-only methods for modelling species distribution. *Diversity and Distributions* **13**:397-405.
- Ursenbacher, S. 2005. Phylogéographie des vipères européennes (*Vipera ammodytes*, *V. aspis* et *V. berus*), structuration génétique et multipaternité chez *Vipera berus*. Thèse de doctorat en science de la vie. Université de Lausanne.
- Ursenbacher, S., M. Carlsson, V. Helfer, H. Tegelstrom, and L. Fumagalli. 2006. Phylogeography and Pleistocene refugia of the adder (*Vipera berus*) as inferred from mitochondrial DNA sequence data. *Molecular Ecology* **15**:3425-3437.
- Ursenbacher, S., J. C. Monney, and L. Fumagalli. 2009. Limited genetic diversity and high differentiation among the remnant adder (*Vipera berus*) populations in the Swiss and French Jura Mountains. *Conservation Genetics* **10**:303-315.
- Van Oosterhout, C., W. F. Hutchinson, D. P. M. Wills, and P. Shipley. 2004. Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* **4**:535-538.
- VanBerkum, F. H. 1988. Latitudinal patterns of the thermal sensitivity of sprint speed in lizards. *American Naturalist* **132**:327-343.
- VanDamme, R., D. Bauwens, and R. F. Verheyen. 1991. The thermal dependence of feeding behavior, food consumption and gut passage time in the lizard *Lacerta vivipara* Jacquin. *Functional Ecology* **5**:507-517.
- Varga, Z. S. and T. Schmitt. 2008. Types of orcal and orcal disjunctions in the western Palearctic. *Biological Journal of the Linnean Society* **93**:415-430.
- Viitanen, P. 1967. Hibernation and seasonal movements of the viper, *Vipera berus berus* (L), in southern Finland. *Annales Zoologici Fennici* **4**:472-546.
- Voituron, Y., B. Verdier, and C. Grenot. 2002. The respiratory metabolism of a lizard (*Lacerta vivipara*) in supercooled and frozen states. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology* **283**:R181-R186.
- Waldschmidt, S. R., S. M. Jones, and W. P. Porter. 1986. The effect of body temperature and feeding regime on activity, passage time, and digestive coefficient in the lizard *Uta stansburiana*. *Physiological Zoology* **59**:376-383.
- Waller, M. P. and A. J. Long. 2003. Holocene coastal evolution and sea-level change on the southern coast of England: a review. *Journal of Quaternary Science* **18**:351-359.

- Walther, G. R., E. Post, P. Convey, A. Menzel, C. Parmesan, T. J. C. Beebee, J. M. Fromentin, O. Hoegh-Guldberg, and F. Bairlein. 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature* **416**:389-395.
- Wapstra, E. 2000. Maternal basking opportunity affects juvenile phenotype in a viviparous lizard. *Functional Ecology* **14**:345-352.
- Webb, J. K., R. Shine, and K. A. Christian. 2006. The adaptive significance of reptilian viviparity in the tropics: Testing the maternal manipulation hypothesis. *Evolution* **60**:115-122.
- Webb, J. K. and M. J. Whiting. 2005. Why don't small snakes bask? Juvenile broad-headed snakes trade thermal benefits for safety. *Oikos* **110**:515-522.
- Weinstein, R. B. 1998. Effects of temperature and water loss on terrestrial locomotor performance in land crabs: Integrating laboratory and field studies. *American Zoologist* **38**:518-527.
- Wheeler, D. 1996. The role of nourishment in oogenesis. *Annual Review of Entomology* **41**:407-431.
- Wilson, E. O. 1992. *The diversity of life*. Harvard University Press, New York.
- Wuster, W., L. Peppin, C. E. Pook, and D. E. Walker. 2008. A nesting of vipers: Phylogeny and historical biogeography of the Viperidae (Squamata: Serpentes). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **49**:445-459.
- Zaidan, F. 2003. Variation in cottonmouth (*Agkistrodon piscivorus leucostoma*) resting metabolic rates. *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology* **134**:511-523.
- Zaniewski, A. E., A. Lehmann, and J. M. C. Overton. 2002. Predicting species spatial distributions using presence-only data: a case study of native New Zealand ferns. *Ecological Modelling* **157**:261-280.
- Zbikowska, E. 2004. Does behavioural fever occur in snails parasitised with trematode larvae? *Journal of Thermal Biology* **29**:675-679.
- Zuffi, M. A. L., A. Gentili, E. Cecchinelli, F. Pupin, X. Bonnet, E. Filippi, L. M. Luiselli, F. Barbanera, F. Dini, and M. Fasola. 2009. Geographic variation of body size and reproductive patterns in Continental versus Mediterranean asp vipers, *Vipera aspis*. *Biological Journal of the Linnean Society* **96**:383-391.

ANNEXE

From the embryo's perspective: stage-dependent sensitivity reveals complex maternal thermal effects in a viviparous snake

LORIOUX Sophie^{1,4}, VAUGOYEAU Marie¹, DENARDO Dale F.², CLOBERT Jean³,
GUILLON Michaël^{1,4}, and LOURDAIS Olivier^{1,2}

¹ Centre d'Etudes Biologiques de Chizé, CNRS UPR 1934, 79360 Villiers en Bois, France

² School of Life Sciences, Arizona State University, Tempe, AZ 85287-4501, USA

³ Station d'Ecologie Expérimentale du CNRS USR 2936, Moulis, 09200 Saint-Girons, France

⁴ Université de Poitiers, 40 avenue du recteur Pinaud 86022 Poitiers, France

Correspondance:

Sophie Lorioux, CEBC-CNRS UPR 1934

79360 Villiers en Bois, FRANCE

Phone: +33 (0) 5 49 09 35 52

Fax: + 33 (0) 5 49 09 65 26

E-mail: sophie.lorioux@gmail.com

Tables: 3

Figures: 5

For consideration in: American Naturalist

Summary

The importance of appropriate thermal conditions during embryonic development is a universal feature among invertebrates and vertebrates. In fact, enhanced thermal conditions have been credited as a key driving force for the evolution of viviparity, particularly in squamate reptiles where it has independently evolved approximately 100 times. Multiple hypotheses have been developed regarding the evolution of viviparity (e.g., pre-adaptation hypothesis, cold climate hypothesis, maternal manipulation hypothesis), and each of these theories incorporate benefits associated with enhanced thermal conditions during embryonic development. To further develop these hypotheses, it is critical that we understand the degree to which thermal sensitivity varies across developmental stages. Thus, we studied stage-dependent embryonic sensitivity in a viviparous snake, the asp viper (*Vipera aspis*). We manipulated female temperature at different stages of pregnancy (first, middle, and last thirds). We imposed two contrasted daily cycles mimicking reproductive (warm) or non-reproductive (cool) female temperature profile. Developmental rate was slowed by exposure to the cooler cycle independent of the timing of the exposure. However, offspring phenotype and behavior were more negatively affected when exposure occurred in the first third of development. Exposure at later stages was less detrimental and led to offspring compensatory responses.

Key-words: maternal effects, viviparity, thermoregulation, embryo retention, development

INTRODUCTION

Organisms are especially sensitive to environmental fluctuations during development (O’Loan et al. 2007; Sarkar et al. 2007; Henry and Ulijaszek 2009; Williams and Casanova 2010; Mihaila et al. 2011). Alterations in developmental conditions can translate into detrimental effects with possible long-term and irreversible consequences (Lummaa and Clutton-Brock 2002; Lummaa 2003; Gorman and Nager 2004; Meylan and Clobert 2005; Auperin and Geslin 2008; Henry and Ulijaszek 2009). Alternately, adaptive developmental plasticity can occur in response to environmental cues (Meyer and Bull 2002; Bateson et al. 2004) that are indicative of the postnatal environment (West-Eberhardt 2004; Monaghan 2008). These contrasted responses may depend on the nature, intensity, and timing of the environmental signals, as well as the ability of a care-providing parent to buffer its offspring from environmental conditions (McDiarmid 1978; Clutton-Brock 1991; Badyaev and Ghalambor 2001; Reynolds et al. 2002; Gross 2005).

Mothers can influence the developmental conditions of their progeny in many ways by serving as an interface with the external environment. For instance, a female can influence its developing progeny via non-genetic mechanisms including hormonal, immune, and nutrient transfers (Müller et al. 2007; Tschirren et al. 2007; Curno et al. 2009). While maternal influences on development can be substantial, they should be addressed in the frame of embryonic sensitivity, which is dynamic. Embryonic development involves complex integrated steps (Andrews 2004). General organization, including neurulation and organogenesis, occurs in earlier stages whereas somatic growth is more pronounced during middle and late development. Embryonic development is known to be particularly sensitive during early stages (Sulik et al. 1981; Birchard and Reiber 1995; Shine and Elphick 2001; Andrews 2004), with perturbations at that time often resulting in developmental disruption or even death (Vercken et al. 2006, Braña and Ji 2007, Auperin and Geslin 2008; Barker 2009; Wootton and Jackson 2009).

Embryonic thermal sensitivity is a universal feature among vertebrates (Deeming and Fergusson 1991; Farmer 2000; Gillooly and Dodson 2000; Ojanguren and Braña 2003) and invertebrates (Johnston and Bennett 1996; Byrne et al. 2009). Unsurprisingly, one of the most taxonomically widespread targets of maternal influence is developmental temperature (Bernardo 1996). Viviparity has emerged repeatedly in squamates (>108) (Shine and Bull 1979; de Fraipont et al. 2000; Shine 1995; Blackburn 2006). Squamates are predominantly lecithotrophic (Stewart and Thompson 2000; Blackburn 2005), so maternal effort during

pregnancy requires little to no energy transfer to the offspring and instead is focused on thermal influences, which are particularly pronounced (Tinkle and Gibbons 1979; Shine and Harlow 1993; Shine 1995; Bernardo 1996). Gravid females typically display intense basking behaviors and shifts in their thermal preference and precision (Robert et al. 2006; Shine 2006; Webb et al. 2006). Selective factors involved in the evolution of viviparity among squamates have been intensely studied (Tinkle and Gibbons 1979; Shine 1995; Andrews 2002; Lynch 2009). Current theories posit that maternal thermoregulation is beneficial by accelerating developmental rate and thus influencing date of birth (“cold climate model”, Tinkle and Gibbons 1979; Shine and Bull 1979; Shine 1985; Lynch 2009). Maternal thermoregulation of the developmental environment can also improve offspring quality by buffering offspring from environmental conditions (“maternal manipulation hypothesis”, Shine 1995, 2006). To date, these evolutionary hypotheses have usually been considered independently (Shine 2003; Ji et al. 2007; Li et al. 2009). However, multiple selective pressures may have been responsible for a transition to viviparity (Rodríguez-Díaz et al. 2010).

In addition to understanding the benefits provided by viviparity, it is also valuable to understand the transitional process between oviparity and viviparity. For example, the “pre-adaptation hypothesis” suggests that embryonic thermoregulatory benefits observed in viviparous species are an extension of a pre-existing behavior in oviparous species (Shine 2006). Such a transition presumes that benefits provided by viviparity are additive across developmental stages and, perhaps, are distinct among stages. Therefore a better understanding of embryonic thermosensitivity and its stage-dependent nature is critical to understanding both the transition to and benefits derived from enhanced thermal conditions associated with viviparity.

Since embryonic tolerance varies over the course of development, our general hypothesis is that the significance of maternal thermal regulation will not be constant over time. For instance, active thermoregulation should be critical at early stages to avoid phenotypic alterations. In turn, dynamic embryonic responses to maternal temperature are more likely during fetal life. Maternally derived information at the end of gestation should be more reliable than early developmental cues for establishing a phenotypic match with the postnatal environment (“anticipatory effects”: Fox et al. 1997; Agrawal et al. 1999; Meyer and Bull 2002; Leimar et al. 2006; Marshall and Uller 2007). Finally, previous studies suggest that thermal sensitivity of development is relative to the different stages (Andrews 2004, Lourdais et al. 2004). Hence, maternal thermal influence on developmental duration should also be stage-dependent.

We experimentally altered the timing of thermal constraints on the developing embryos in a temperate viviparous snake, the aspic viper (*Vipera aspis*). A previous study suggests that severe weather conditions can limit maternal thermoregulation in this species (Lourdais et al. 2004). Since the timing of such events is variable, our manipulations provided an ecologically relevant assessment of embryonic thermal sensitivity. We imposed constraining (cooler) daily temperature cycles on pregnant females during either the first, middle, or last thirds of gestation and addressed the following predictions:

- 1- Offspring phenotype is more thermally sensitive early in development, and deviations from maternally selected temperatures at early developmental stages should induce irreversible developmental disruption.
- 2- Developmental rate is more thermally sensitive during early and mid gestation, which are critical steps of somatic growth. Thermal alterations during these stages will slow down developmental rate and delay date of birth.
- 3- Compensatory embryonic responses to maternal thermal constraints are more likely expected during late gestation (fetal life), once major organizational processes are completed.

MATERIAL AND METHODS

Study species

The aspic viper, *Vipera aspis*, is a small, venomous, viviparous snake of the western-Palaearctic region. It is a typical capital breeder in that females accumulate energy over an extended period of time before engaging in reproduction (Bonnet et al. 2002; Lourdais et al. 2002). In the northern part of its range, this species faces significant weather fluctuations that greatly impact reproduction (Lourdais et al. 2004). Ovulation typically occurs during the first two weeks of June (Saint Girons 1957, Naulleau 1981). During gestation, females undergo major behavioral changes. First, they display high thermal preference and a substantial increase in basking time when compared to non-reproductive females (Saint Girons 1952; Naulleau 1979; Ladyman et al. 2003; Lourdais et al. 2004). Thermoregulatory changes are coupled with a decrease in both movement and food intake. Ecological and energy costs of reproduction are high in this species with a substantial mortality of reproductive females notably at the northern limit of the distribution (Bonnet et al. 1999, 2002).

Capture and maintenance

Sixty reproductive female aspik vipers were collected in west-central France from neighboring populations (District of Vendée, Loire Atlantique, and Maine et Loire) between May 25 and June 17, 2009. The habitat was mainly remote farmland and vineyards. Reproductive activity was evaluated in the field by manually palpating for ovarian follicles and later confirmed in the lab using ultrasonography (Sonosite MicroMaxx, Inc., Bothell, WA, USA).

In the lab, each female was measured ($\pm 0.5\text{cm}$), weighed ($\pm 0.1\text{g}$), individually marked, and then placed in an opaque plastic box (10.5 x 30 x 16.5 cm) to minimize disturbance. Each box contained a shelter, and water was supplied *ad libitum* in bowls. Each female was then placed in a temperature-controlled climatic chamber (Vötsch Industrietechnik, VP 600, Balingen, Germany) set to one of the five experimental treatments described below. In nature, females typically do not eat during gestation (Lourdais et al. 2002), so captive females were not fed until parturition. Among the 60 females, only 38 females subsequently ovulated. For each ovulated female, litter size was determined using ultrasonography. Females were checked every day to ensure their well-being and to accurately determine the date of birth.

Experimental design

In order to address stage-dependent embryonic thermal sensitivity we divided development into three broad but relevant periods according to available information (Hubert and Dufaure 1968, Andrews 2004; Lourdais et al. 2004):

- 1) First third: “early development”. Major embryonic events occurring including blastulation, gastrulation, neurulation, and somite development.
- 2) Middle third: “embryonic growth”. Development of the optic vesicles and olfactory bulb, appearance of the jaws, cloacal slit, genitalia, and trunk/tail scales; rapid growth of the embryo and development of spiral-coiling.
- 3) Last third: “late embryonic growth”: fetal life. Further embryonic growth and completion of development, including development of pigmentation and differentiation of head scales.

Daily temperature cycles

Reproduction in this species has been extensively studied (Bonnet et al. 1999, 2001; Lourdais et al. 2002). Pregnant females display high thermal preference (T_{set} : 33°C), but environmental constraints impose substantial daily thermal variation with a pronounced decrease in body temperature at night. We manipulated thermal conditions during gestation by applying

ecologically relevant daily temperature cycles. Two thermal cycles (Fig. 1a) were designed with Simpati software (version 2.06) and applied using the climatic chambers.

- “Reproductive” (R) cycle: Chamber temperature was 33°C (pregnant female T_{set}) for 9 hours, then, over the next hour, steadily declined to 18°C where it was maintained for 13 hours before returning to 33°C over an hour. This cycle mimicked a typical daily thermal profile of free-ranging reproductive females.

- “Non-reproductive” (NR or cold cycle): This cycle was similar to that of the R cycle except that the upper plateau temperature was set at 27°C rather than 33°C. This cycle reflects a typical daily thermal profile of a free-ranging non-reproductive, post-absorptive female.

Relative humidity was held constant at 85% throughout the experiment.

Temporal application of temperature cycles

We designed five experimental treatment groups that differed in the timing of thermal perturbations during gestation (Fig. 1b). In the optimal treatment (O), females (n = 6) were exposed to the R daily cycle during the entire gestation period. In the C1 (n = 8), C2 (n = 10), and C3 (n = 9) treatments, females were exposed to the NR daily cycle only during the first, middle, or last third of gestation, respectively. In the last experimental group, C females (n = 5) were exposed to the NR cycle for the entire gestation period. This treatment represents a negative control where females are unable to access their preferred body temperature throughout gestation. Females were allocated into each treatment after accounting for snout-vent-length and litter size.

Identification of embryonic stages and female transfer

Since this experiment relies on specific thermal cycles applied at three different periods of development, the identification of embryonic stages was crucial for determining the boundaries of each period. Importantly, in aspic vipers, a pre-ovulation ecdysis occurs and provides a reliable index for the onset of gestation (O. L. pers. obs.). Females were regularly checked using ultrasonography (Micromaxx, SonoSite, Inc., Bothell, WA, USA) to monitor embryonic development. Embryos of each female were measured (longest diagonal from the top of the skull), and we evaluated the remaining vitellus. We used embryonic traits available in developmental tables (Hubert and Dufaure 1968) to estimate embryonic stages. Using these data, we determined the average stage of embryonic development when the C1, C2, and C3 treatments were transferred to the NR temperature cycle (Table 1). Exposure duration to the NR treatment regime lasted 31, 28, and 54 days for the C1, C2, and C3 treatment groups,

respectively. While durations were unequal among treatments, our main objective was to target relevant developmental periods. Developmental tables provide detailed embryo descriptions, but no link has been made between embryonic stages, time, and temperature, which strongly influence developmental process. Hence, we did not intend to divide gestation into exactly three equivalent periods. Instead, we focused on the identification of the contrasted steps in embryonic life described above.

Variables collected

1) Gestation length and litter composition

The influence of treatment on development time is an important component of this work. We considered the day of skin shedding as a proxy of ovulation and the onset of gestation. Gestation length was then calculated for each female (from ovulation to parturition). The components of the litter were characterized (undeveloped ova, dead embryo, fully-developed but stillborn, healthy offspring), counted, and weighed (± 0.1 g). Offspring were measured (± 0.1 cm) and sexed. Stillborns were measured, weighed, and sexed when possible. Because we could not distinguish unfertilized ova from ova that had been fertilized but had died early in embryogenesis, these were grouped in the same category (undeveloped ova). Using this method, we gathered data from 37 clutches composed of 108 healthy offspring, 28 stillborns, 17 dead embryos, and 29 undeveloped ova.

2) Offspring quality

We used an integrative assessment of offspring quality by considering morphology, physiology, and behavior. Shortly after birth, neonates were removed from their mother's cage and housed individually in small plastic containers (10.5 x 30 x 16.5 cm). A polyvinyl chloride (PVC) shelter was placed in each box, and water was supplied *ad libitum*.

Size and growth: At birth, we collected snout-vent length (SVL), total length, jaw length, and body mass (BM). Body condition was derived from the residuals of BM against SVL. These data were also collected one month after birth to assess growth patterns. During the first month of life, neonates were not fed, and growth solely relied on energy stores at birth. Indeed, snakes hatch with residual yolk and fat stores that are used for early hatching growth and maintenance (Ar et al. 2004).

Abnormalities: The ventral surface of each individual was scanned (Canon, CanoScan 8800F) to determine the number of ventral scales and the prevalence of split ventral scales (a developmental abnormality). Skin patterns are ecologically significant in vipers, since they provide multiple ecological signals (Wüster et al. 2004), so we analyzed the total number of abnormalities in the dorsal zigzag and lateral patterns. Abnormalities were defined as irregularities and breaks in the general pattern. Additionally, a synthetic score of pattern irregularity was attributed to each individual from 1 (0 to 2 slight irregularities), 2 (3 to 6 irregularities), to 3 (>6 irregularities).

Defensive behavior: Newborn snakes are particularly vulnerable and anti-predator behaviors are fitness relevant (Burger 1998). We measured defensive responses just after birth. Without prior manipulation, the neonate was manually restrained allowing only the first third of the snake's body to be free. The snake's body was then gently contacted with a predator mimic (a modified plastic bottle with two big eyes drawn on it, Burger 1998). For the duration of the 30-second trial, we moved the predator mimic in front of the neonate using regular movements and exerting regular contact with the snake's body. We categorized behaviors expressed by the individual as "protective" (i.e., tried to hide, tried to escape), "no response" (no obvious behavior expressed) and "defensive response" (i.e., strike behavior). We recorded the time to elicit the first strike, the number of strikes, and the number of tongue flick.

Exploratory behavior: Neonate vipers are autonomous at birth and individual exploratory behavior is particularly relevant as it should be a good indicator of the individual's ability to find suitable microhabitats in a new environment. Only a few studies are available on exploratory behavior at birth in snakes (Burghardt 1977; Holtzman et al. 1999; Almlil and Burghardt 2006), and we developed a standard method to assess neonate exploratory behavior. The experimental design consisted of a 70 x 70 cm square PVC arena divided into four compartments partially separated with 40 cm high removable partitions. Two opposite compartments were fitted with a supplemental light and heat source (60 Watt bulb) 10 cm above the enclosure floor. The two other compartments had no supplemental light bulb. Two shelters were placed in each compartment. The light sources created a thermal gradient within the system (ranging from $37.7 \pm 0.1^\circ\text{C}$ under the heat source to $21.8 \pm 0.1^\circ\text{C}$ in the middle of the arena). During trials, room temperature was $18.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$. Prior to beginning a trial, the snake was acclimated in the middle of the arena under an opaque cover for 5 minutes. At the onset of the trial, the cover was removed and snake behavior was video recorded for 15

minutes (Sony, HDR XR100). Exploratory behavior was assessed within 2 days of birth. We assessed time spent before initial movement, total time spent in “active exploration” (movement or positioned erect on the wall), “passive exploration” (motionless but tongue flicking and/or head moving), “passive” (motionless without tongue flicking or head moving), “thermoregulation” (motionless under the heat source), and “hidden” (under a shelter). We also documented the number of visited compartments and the number of visited shelters. Tongue flicks were also counted. Between trials, the entire system was cleaned with 70% alcohol to remove residual odors.

Traction strength: Traction force was measured at one month of age in standard conditions (25°C, corresponding to the mean temperature of captivity conditions). Three consecutive 30 seconds trials were conducted. We used a force transducer (UFI, Morro Bay, California) to assess offspring traction force (for methodology, see Stahlschmidt and DeNardo 2009). Traction force was recorded every 0.1 second. Between each trial the snake was released for 10 seconds, and then stretched again. For each trial, we collected maximum force, average force, total effort (i.e., sum of all recorded values), and number of contractions.

Standard metabolic rate: We used closed system respirometry in a temperature-controlled environmental chamber (LMS LDT, Sevenoaks, Kent, United Kingdom; 25°C ± 1°C) to measure standard metabolic rate (SMR) of neonates one month after birth. Trials were conducted between 1800 hr and 0800 hr. in opaque test chambers (internal volume 2 l). The methodology is described in detail in Lelièvre et al. (2010). Each individual was placed into the test chamber 2h prior to testing, and trial duration (840 min) ensured sufficient O₂ suppression (>0.1%).

3) Long-term effects

Winter survival: In the asp viper, neonates often start hibernation without any food intake. We mimicked this situation by wintering individuals after the completion of all tests at one month of age. Snakes were cooled to 8.0 ± 0.1°C (relative humidity 88.5%) in the climatic chambers for 3 month, and we assessed the influence of treatment on survival.

First prey acceptance: After overwintering, snakes were housed singly at 25°C. One month after the end of the wintering period (i.e., at 5 months of age), snakes were offered their first

prey, a fresh-killed neonate mouse (mean mass = 1.6 ± 0.2 g, ~30% of the snake body mass). The prey was offered in the evening, and consumption was assessed the following morning.

Statistical analyses

All statistical comparisons were performed with R software (version 2.12.1, Development Core Team 2010) using linear models (lm models, stats package), mixed models (lme models, nlme package), and generalized linear mixed models for binomial distribution (glmer models, lme4 package). Significance was determined at $\alpha < 0.05$ for all tests. We analyzed the effect of thermal treatment on gestation length using a one-factor analysis of variance (ANOVA) with log-transformed data (to assess normality assumption). Due to a very low survival rate in C neonates ($n = 2$), all following analyses were conducted excluding the C treatment. Since siblings are not independent statistical units (Massot et al. 2004), we used linear mixed models analyses, with mother identity as a random factor, in all other statistical tests. Body condition was calculated using residual values from the regression of body mass on snout-vent length (Jayne and Bennett 1990; Madsen and Shine 1999; Lourdais et al. 2002). glmer models were used for the analyses of binary variables (propensity to strike during anti-predator behavior tests and feeding success). In considering exploratory behavior, the proportion of time spent in each behavior category was analyzed using linear mixed models after a logit transformation of the data (Warton and Hui 2011). All pairwise comparisons were realized using Tukey's *post hoc* tests (package multcomp).

RESULTS

1) Gestation duration and litter composition

Thermal treatment significantly influenced gestation duration ($F_{4,32} = 22.174$, $p < 0.001$; Fig. 2). Gestation was shortest in the O treatment (82.2 ± 1.1 days, Tukey's *post hoc* test, O vs. all, $p < 0.01$) and longest for the C treatment (123.0 ± 2.8 days, Tukey's *post hoc* test, C vs. all, $p < 0.01$). Gestation durations in the partially constrained groups were intermediate with no statistical difference among them: C1 (94.8 ± 2.8 days), C2 (96.8 ± 2.4 days), and C3 treatments (98.4 ± 2.9 days), (Tukey's *post hoc* tests, $p > 0.05$). We obtained the same results considering absolute date of birth ($F_{4,32} = 13.019$, $p < 0.001$; Tukey's *post hoc* test: O vs. all: $p < 0.01$; C vs. all: $p < 0.01$; all other pairwise comparisons: $p > 0.05$). Mean ordinal date of birth was 298 (October 25), 269 (September 26), 271 (September 28), 273 (September 30), and 254 (September 11) for C, C1, C2, C3, and O neonates, respectively.

Proportion of living offspring in a litter was different among thermal treatments (glmer, $p < 0.05$). It was lowest for females from the C treatment ($12.5 \% \pm 8.5$; Tukey's *post hoc* test, C vs. all, $p < 0.05$), but there was no difference among the C1 ($75.0\% \pm 7.8$), C2 ($61.1 \% \pm 8.2$), C3 ($78.1\% \pm 7.4$), and O ($94.6\% \pm 3.8$) treatments. Number of live neonates per treatment was 36 (O), 25 (C3), 27 (C2), 24 (C1), and 2 (C).

2) Offspring quality

Morphology and growth

SVL at birth was profoundly influenced by thermal treatment ($F_{3,28} = 3.510$, $p = 0.028$, Fig. 3a), with neonates from the C1 treatment being significantly smaller than the other neonates (Tukey's *post hoc* tests: O vs. C1, $z = 3.229$, $p = 0.007$; all other pairwise comparisons: $p > 0.05$). Body mass at birth and body condition did not differ among treatments (Table 2). Relative jaw length was affected by thermal treatment ($F_{3,28} = 4.230$, $p = 0.014$; Fig. 3b), with neonates from the C1 treatment having a shorter jaw length compared to neonates from the C3 and O treatments (Tukey's *post hoc* tests: O vs. C1, $z = 3.095$, $p = 0.011$; C3 vs. C1, $z = 3.051$, $p = 0.012$; all other pairwise comparisons: $p > 0.05$).

Growth during the initial month of life was influenced by body condition at birth ($F_{1,70} = 8.152$, $p = 0.006$) and was faster for neonates in the O treatment and slower for C1 neonates (Table 2). Loss in body mass during the first month of life did not differ among treatments (Table 2). Jaw length growth was significantly influenced by thermal treatment, but also by initial jaw length ($F_{1,72} = 14.878$, $p < 0.001$) and body condition at birth ($F_{1,72} = 10.061$, $p = 0.002$). Neonates from the O treatment had greater jaw growth compared to C3 treatment neonates (Table 2).

Developmental abnormalities

We found a significant effect of thermal treatment on the proportion of neonates exhibiting split ventral scales ($p < 0.05$): split ventral scales were present in nearly all neonates from the C1 and C2 treatments, whereas hatchlings from the O treatment had the fewest proportion of split ventral scales (Tukey's *post hoc* tests: O vs. C1, $z = -2.885$, $p = 0.019$; O vs. C2, $z = -3.324$, $p = 0.006$; all other pairwise comparisons: $p > 0.05$). No differences were found among groups in ventral scale number (Table 2).

Dorsal and lateral patterns were also affected by thermal treatment (Table 2). The number of pattern abnormalities was highest in neonates from the C1 treatment and lowest for neonates from the C3 and O treatments. We obtained the equivalent results when considering pattern score (Table 2).

Behavior

Anti-predator behavior at birth was modified by thermal treatment. Neonates differed in total strike number and time before eliciting the first strike (Table 3): neonates from the C2 and O treatments were more prone to strike than neonates from the C1 treatment. Moreover, neonates from the C1 treatment were slower to elicit the first strike than were neonates from the other treatments (Table 3).

Exploratory behavior at birth was profoundly influenced by thermal treatment ($F_{3,25} = 3.051$, $p = 0.047$; Fig. 4). The proportion of time spent in active exploration was less for neonates in the C1 treatment, and greater for C3 neonates (Tukey's *post hoc* tests: C3 vs. C1: $z = 3.024$, $p = 0.013$; all other pairwise comparisons: $p > 0.05$; Fig 4a). Additionally, neonates from the C1 treatment spent more time motionless than neonates from the other treatments ($F_{3,26} = 5.003$, $p = 0.007$; Tukey's *post hoc* test: C1 vs. all: $p < 0.05$; Fig. 4b). Neonates from the O and C3 treatments visited more shelters than neonates from the C1 treatment ($F_{3,25} = 3.608$, $p = 0.027$; Tukey's *post hoc* tests: O vs. C1: $z = 2.945$, $p = 0.017$; C3 vs. C1, $z = 2.575$, $p = 0.049$; all other pairwise comparisons, $p > 0.05$; Fig.4c). Tongue flick number was highest for neonates from the C2 and O treatments ($F_{3,25} = 3.220$, $p = 0.039$) and lowest for C1 neonates, which had a tongue flick number approximately 50% of that for the C2 neonates (Tukey's *post hoc* tests: O vs. C1, $z = 2.739$, $p = 0.032$; C2 vs. C1, $z = 2.639$, $p = 0.042$; all other pairwise comparisons: $p > 0.05$; Fig. 4d).

Physiology and performance

Oxygen consumption was influenced by thermal treatment (Table 2), but also body mass ($F_{1,65} = 6.180$, $p = 0.016$). Standard metabolic rate of neonates from the C3 treatment was the highest whereas O neonates had the lowest metabolic rate (Table 2).

Maximal traction force was highest for C3 neonates and lowest for O and C1 neonates (Table 3). We also found an effect of body mass ($F_{1,71} = 91.071$, $p < 0.001$) on maximal traction force. For all treatments, maximal traction force decreased over trials ($F_{1,201} = 9.008$, $p = 0.003$). Total effort was different among thermal treatments (Table 3): neonates from the C3 thermal treatment deployed a greater total force compared to the C1 and O neonates (Table 3). Total force was also dependent on body mass ($F_{1,71} = 53.398$, $p < 0.001$) and decreased over trials ($F_{1,201} = 41.156$, $p < 0.001$). Total contraction number was not influenced by thermal treatment, but by body mass ($F_{1,71} = 9.059$, $p = 0.004$), and it decreased over trials ($F_{1,201} = 84.404$, $p < 0.001$).

3) Long term impact

Overwintering survival

Thermal treatment significantly influenced winter survival rate. Survival was lowest for C1 neonates (60.9%) with no difference among the remaining treatments (100% for the C2 and O treatments, 96.0% for the C3 treatment).

Prey consumption

Consumption of the first prey item offered differed significantly among groups (glmer, $p < 0.05$). Only 13.3% of the C1 juveniles accepted their first meal, while 69.4% of O juveniles ate. Food intake was intermediate in the C2 (54.5 %) and C3 (50.0%) juveniles: Tukey's *post hoc* tests: O vs. C1, $z = 3.157$, $p = 0.008$, all other comparisons, $p > 0.05$.

DISCUSSION

Embryonic life is a complex, multiphase process (Andrews 2004; Henry and Ulijaszek 2009), and sensitivity to perturbations may vary dramatically over developmental time. Current theories posit embryonic sensitivity as a major driving force that may explain evolutionary transitions (Farmer 2000). While temporal variation in embryo thermal sensitivity is critical, most studies on viviparity have not considered such information (Rodríguez-Díaz et al. 2010). We demonstrate that functional benefits associated with the two hypotheses regarding the evolution of viviparity (maternal manipulation and cold climate) are compatible in a viviparous system. Our work underlines the importance of embryonic sensitivity and its complex dynamics over time. Maternal thermoregulation provides additive benefits by (i) decreasing development time (continuous effect) and (ii) avoiding developmental disruption (stage-dependent effect). Maternal thermal constraints may also translate reliable environmental cues and induce adaptive phenotypic responses in late-stage developing offspring. Our results are discussed in details below.

Maternal control of developmental duration

First, maternal thermoregulation significantly enhances developmental rate as proposed in the “cold climate hypothesis” (Tinkle and Gibbons 1979; Shine 1983). This phenological maternal effect is likely adaptive in that it increases the post-natal activity period (Oufiero and Angilletta 2006). Date of birth is a relevant fitness parameter notably under climates where activity time is constrained by an early wintering period (Olsson and Shine 1998; Altwegg et

al. 2005). Early date of birth is known to influence hatching success and post-birth survival (Olsson and Shine 1998; Warner and Shine 2007). Our results clearly support the functional importance of maternal regulation on developmental time as proposed in the cold climate hypothesis. Contrary to our initial prediction, benefits of maternal regulation over development were continuous rather than stage-dependent.

Maternal influence on offspring phenotype

Thermal influences on offspring quality were extremely dependent on the timing of exposure. Offspring exposed to the cold temperature cycle in early or mid development exhibit pronounced phenotypic alterations, suggesting an impact on coordinated expression of developmental genes and thus support our second prediction. For example, the high prevalence (>90%) of split ventral scales in these two groups advocates for disrupted embryogenesis and such abnormalities are often associated with fitness disadvantages (Forsman et al. 1994; Shine et al. 2005; Löwenborg et al. 2011). Thus, deviation from maternal thermal preference in the first third of gestation modified neonate morphology and body proportions more so than thermal deviations later in development. Overall, our results clearly support the concept of high thermal sensitivity at early developmental stages, since a moderate deviation from maternal thermal preference translated into a substantial set of morphological, physiological, and behavioral alterations.

Conversely, no such alterations were detected when treatment occurred during fetal life (C3). In turn, we even detected evidences for compensatory responses to maternal temperature. For instance, highest SMR values were reported in this group while it was lowest within the optimal group. Metabolic rate was recorded over one month after birth, and these differences were not the result of short-term reversible embryonic acclimation (Du and Shine 2010). Similarly, neonates impacted late in development were more vigorous and had higher stamina. These effects may constitute compensatory responses to future adverse environmental conditions as found in other reptiles (O'Steen and Janzen 1999; de Fraipont et al. 2000; Angilletta 2009) and mammals (Canals et al. 2009). Indeed, low maternal temperatures reflect thermoregulatory constraints associated with severe weather conditions. Such environmental constraints delay date of birth (Lourdais et al. 2004, and above results) and will expose neonates to a more thermally constraining environment (i.e., cold temperature associated with fall season) (Angilletta et al. 2005; Oufiero and Angilletta 2006). Finally, intermediate stages of embryonic development (C2) appear sensitive to deviations from optimal temperatures notably in terms of general organization (morphological features).

However, we did not observe significant physiological or behavioral alterations. Surprisingly, C2 neonates appear similar to O neonates when considering some specific behavioral traits (tongue flick number in a new environment and strike number). These developmental stages might represent a transition in embryonic sensitivity combining significant developmental constraints with the ability to integrate maternal cues and produce compensatory responses.

Hence, maternal access to T_{set} seems essential early in embryonic life to optimize major embryonic processes (Richardson et al. 1998). In turn, the end of gestation was less sensitive and neonates appeared better adapted to constraining (cold) conditions. Fetal life could be a critical time window for the integration of environmental cues and developing phenotypic expression (West-Eberhardt 2004; Piersma and Van Gils 2011). Maternal thermoregulatory constraints (limited access to T_{set}) may transfer relevant information to the fetus and favor a better phenotypic match to the post-natal environment (stage-dependent effect). The “cold” signal transferred in late development may have shaped fetal physiology, allowing the individual to be more efficient in an expected cooler environment. Such stage-dependent variation in embryonic response may be critical to understanding the nature of prenatal influences (Mousseau et al. 2008) and tease apart active maternal regulation (access to T_{set} to guarantee coordinated development) from the embryo dynamic perspective (compensatory responses to environmental constraints).

Evolutionary implications

Our results point out the critical importance of regulating early but also intermediate developmental stages to avoid phenotypic alteration. High sensitivity at early stages is likely a pre-existing developmental constraint that favored the evolution of egg retention (Qualls and Andrews 1999; Shine 2004; Braña and Ji 2007) and modified maternal thermoregulation as observed in many oviparous species (Lourdais et al. 2008). Evolutionary transition to viviparity possibly involved the extension of pre-existing behaviors as outlined in the “pre-adaptation” hypothesis (Shine 2006). Narrow embryonic thermal tolerance may also partially be a secondary derived trait in viviparous systems, since maternal regulation provides more reliable access to optimal temperature (Robert et al. 2006; Shine 2006; Webb et al. 2006). We demonstrate that morphological and performance measures are most influenced early in development, so extension of embryo retention time by the female would provide progressively less additional benefits to the offspring as retention time increased. However, phenological maternal effects were not stage-dependent. Maternal control on date of birth provides significant additive benefits and may explain complete embryonic retention notably

under constraining climatic conditions (Wapstra et al. 2010). Such control may also be important in tropical environment where climate (precipitation) or trophic resources can fluctuate. Thereby, we provide an original contribution in understanding the transition to viviparity; the transition may have involved additive selective forces that result in substantial benefits by *i*) decreasing development time (continuous effect) and *ii*) improving offspring quality (time dependent effect). Additional studies are critically needed to address these ideas in other species and contexts.

Ecological relevance

Time-dependent embryonic sensitivity is also relevant to better understand the demographic impact of environmental variations (Gaillard et al. 1997; Lindström 1999; Reid et al. 2003; Descamps et al. 2008; Le Galliard et al. 2010). For instance, several correlative studies report significant cohort effects in relation to weather fluctuations (Lourdais et al. 2004; Le Galliard et al. 2010) and variation in offspring phenotype or date of birth (Olsson and Shine 1997). Thus, the timing of constraining weather may have contrasting impacts on phenotypic variation and may be a relevant facet in the understanding of environmentally induced cohort variations.

Acknowledgments

We thank Patrice Quistinic and Gaëtan Guiller who helped in snake capture. We also thank all students who helped with animal maintenance. Financial support was provided by the Agence Nationale de la Recherche (ECTOCLIM project) and the Fyssen Foundation.

References

- Angilletta, M. J., C. E. Oufiero, and M. W. Sears. 2005. Thermal adaptation of maternal and embryonic phenotypes in a geographically widespread lizard. Pages 258-266 in S. Morris and A. Vosloo, eds. *Animals and Environments*. Elsevier Press.
- Agrawal, A. A., C. Laforsch, and R. Tollrian. 1999. Transgenerational induction of defences in animals and plants. *Nature* 401:60-63.
- Almli, L., and G. M. Burghardt. 2006. Environmental enrichment alters the behavioral profile of ratsnakes (*Elaphe*). *Journal of Applied Animal Welfare Science* 9:85-109.
- Altwegg, R., S. Dummermuth, B.R. Anholt, and T. Flatt. 2005. Winter weather affects asp viper *Vipera aspis* population dynamics through susceptible juveniles. *Oikos* 110:55-66.
- Andrews, R. M. 2004. Embryonic development. In: Deeming DC, ed. *Reptilian incubation: environment, evolution, and behaviour*. Nottingham University Press, 75-102.
- Angilletta, M. J. 2009. *Thermal adaptation. A theoretical and empirical synthesis*. Oxford University Press Inc., New York.
- Ar, A., A. Belinsky, R. Dmi'el, and R. A. Ackerman. 2004. Energy provision and utilisation. Pages 143-185 in Deeming DC, ed. *Reptilian incubation: environment, evolution, and behaviour*. Nottingham University Press.
- Auperin, B., and M. Geslin. 2008. Plasma cortisol response to stress in juvenile rainbow trout is influenced by their life history during early development and by egg cortisol content. *General and Comparative Endocrinology* 158:234-239.
- Badyaev, A.V., and C.K. Ghalambor. 2001. Evolution of life histories along elevational gradients: trade-off between parental care and fecundity. *Ecology* 82:2948-1960.
- Barker, D. J. P. 2009. The origins of coronary heart disease in early life. In C. J. K. Henry, and S. J. Ulijaszek. 2009. *Long-term consequences of early environment. Growth, development and the lifespan developmental perspective*. Society for the study of human biology, Symposium series: 37. Cambridge University Press, New York.
- Bateson, P., D. Barker, T. Clutton-Brock, D. Deb, B. D'Udine, R. A. Foley, P. Gluckman, K. Godfrey, T. Kirkwood, M. M. Lahr, J. McNamara, N. B. Metcalfe, P. Monaghan, H. G. Spencer, and S. E. Sultan. 2004. Developmental plasticity and human health. *Nature* 430:419-421.
- Bernardo, J. 1996. Maternal effects in animal ecology. *American Zoologist* 36, 83-105.
- Birchard, G. F., and C. L. Reiber 1995. Growth, metabolism and chorioallantoic vascular density of developing snapping turtles (*Chelydra serpentina*): Influence of temperature. *Physiological Zoology* 68:799-811.

- Blackburn, D. G. 2005. Amniote perspectives on the evolutionary origins of viviparity and placentation. Pages 301-322 in H. Grier, and M. C. Uribe, Viviparous fishes. New Life Publications, Homestead, Florida.
- Blackburn, D. G. 2006. Squamate reptiles as model organisms for the evolution of viviparity. *Herpetological Monographs* 20:131-146.
- Bonnet, X., G. Naulleau, R. Shine, and O. Lourdaï. 1999. What is the appropriate timescale for measuring costs of reproduction in a 'capital breeder' such as the asp viper? *Evolutionary Ecology* 13:485-497.
- Bonnet, X., O. Lourdaï, R. Shine, and G. Naulleau. 2002. Reproduction in a typical breeder: costs, currencies and complications in the asp viper. *Ecology* 83:2124-2135.
- Braña, F., and X. Ji, 2007. The selective basis for increased egg retention: early incubation temperature determines hatchling phenotype in wall lizards (*Podarcis muralis*). *Biological Journal of the Linnean Society* 92:441-447.
- Brown, G. P., and R. Shine. 2004. Maternal nest-site selection and its consequences for offspring fitness in a tropical snake (*Tropidonophis mairii*, Colubridae). *Ecology* 85:1627-1634.
- Burger, J. 1998. Effects of incubation temperature on hatchling pine snakes: implications for survival. *Behavioural Ecology and Sociobiology* 43:11-18.
- Byrne, M., M. Ho, P. Selvakumaraswamy, H. D. Nguyen, S.A. Dworjanyn, and A. R. Davis 2009. Temperature, but not pH, compromises sea urchin fertilization and early development under near-future climate change scenarios. *Proceedings of the Royal Society B* 276:1883-1888.
- Burghardt, G. M. 1977. Learning processes in reptiles. In C.Gans and D.W Tinkle (Eds), *The biology of the Reptilia* (Vol. 7, pp 555-681). London: Academic.
- Canals, M., D. P. Figueroa, J. P. Miranda, and P. Sabat. 2009. Effect of gestational and postnatal environmental temperature on metabolic rate in the altricial rodent, *Phyllotis darwini*. *Journal of Thermal Biology* 34:310-314.
- Clobert, J., E. Danchin, A. A. Dhondt, and J. D. Nichols. 2001. *Dispersal*. Oxford University Press.
- Clutton-Brock, T. H. 1991. *The evolution of parental care*. Princeton, New Jersey: Princeton University Press.
- Crespi, E.J., and R.J. Denver 2005. Ancient origins of human developmental plasticity. *American Journal of Human Biology* 17:44-54.

- Curno, O., J. M. Behnke, A.G. McElligott, T. Reader, and C. J. Barnard. 2009. Mothers produce less aggressive sons with altered immunity when there is a threat of disease during pregnancy. *Proceeding of the Royal Society B* 276:1047-1054.
- De Fraipont, M., J. Clobert, H. John-Alder, and S. Meylan. 2000. Increased pre-natal maternal corticosterone promotes philopatry of offspring in common lizards *Lacerta vivipara*. *Journal of Animal Ecology* 69:404-413.
- Descamps, S., S. Boutin, D. Berteaux, A.G. McAdam, and J. M. Gaillard. 2008. Cohort effects in red squirrels: the influence of density, food abundance and temperature on future survival and reproductive success. *Journal of Animal Ecology* 77:305-314.
- Deeming, D.C., and M. W. J. Ferguson. 1991. Physiological effects of incubation temperature on embryonic development in reptiles and birds. Pages 147-171 *in* Egg incubation: its effects on embryonic development in birds and reptiles, Cambridge University Press.
- Du, W. G., and R. Shine. 2010. Why do the eggs of lizards (*Bassinia duperreyi*: Scincidae) hatch sooner if incubated at fluctuating rather than constant temperatures? *Biological Journal of the Linnean Society* 101:642-650.
- Du, W.G., B. Zhao, and Shine R. 2010. Embryos in the fast-lane: High-temperature heart rates of turtles decline after hatching. *Plos One* 5:e9557.
- Farmer, C. G. 2000. Parental care: The key to understanding endothermy and other convergent features in birds and mammals. *American Naturalist* 55:326-334.
- Farmer, C. G. 2003. Reproduction: The adaptive significance of endothermy. *American Naturalist* 162:826-840.
- Forsman, A., and L.E. Lindell. 1993. The advantage of a big head: swallowing performance in adders, *Vipera berus*. *Functional Ecology* 7:183-189.
- Forsman A., J. Merila, and L. E. Lindell. 1994. Do scale anomalies cause differential survival in *Vipera berus*? *Journal of Herpetology* 28:435-440.
- Fox, C.W., M. S. Thakar, and T. A. Mousseau. 1997. Egg size plasticity in a seed beetle: an adaptive maternal effect. *American Naturalist* 149:149-163.
- Gaillard, J. F., J. M. Boutin, D. Delorme, G. Van Laere, P. Duncan, and J.D. Lebreton. 1997. Early survival in roe deer: causes and consequences of cohort variation in two contrasted populations. *Oecologia* 112:502-513.
- Gagliano, M., and M. I. McCormick. 2009. Hormonally mediated maternal effects shape offspring survival potential in stressful environments. *Oecologia* 160:657-665.

- Garamszegi, L. Z., C., Biard, M. Eens, A.P. Moller, and N. Saino. 2007. Interspecific variation in egg testosterone levels: implications for the evolution of bird song. *Journal of Evolutionary Biology* 20:950-964.
- Gillooly, J. F., E. L. Charnov, G. B. West, Van M. Savage, and J. H. Brown. 2002. Effects of size and temperature on developmental time. *Nature* 417:70-73.
- Gillooly, J. F., and S. I. Dodson. 2000. The relationship of neonate mass and incubation temperature to embryonic development time in a range of animal taxa. *Journal of Zoology, London* 251:369-375.
- Gorman, H. E., and R. G. Nager. 2004. Prenatal developmental conditions have long-term effects on offspring fecundity. *Proceedings of the Royal Society B* 271:1923-1928.
- Gross, M. R. 2005. The evolution of parental care. *The Quarterly Review of Biology* 80:37-46.
- Hales, C.N., and D. J. P. Barker. 2001. The thrifty phenotype hypothesis. *British Medical Bulletin* 60:5-20.
- Hasselquist, D., and J.A. Nilsson. 2009. Maternal transfer of antibodies in vertebrates: trans-generational effects on offspring immunity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 364:51-60.
- Henry, C. J. K., and S. J. Ulijaszek. 2009. Long-term consequences of early environment. Growth, development and the lifespan developmental perspective. Society for the study of human biology, Symposium series: 37. Cambridge University Press, New York.
- Holtzman, D.A., T.W. Harris, G. Aranguren, and E. Bostock. 1999. Spatial learning of an escape task by young corn snakes, *Elaphe guttata guttata*. *Animal Behaviour* 57:51-60.
- Hubert, J., and J. P. Dufaure. 1968. Table de développement de la vipère aspic: *Vipera aspis* L. *Bulletin de la Société Zoologique de France* 93:135-148.
- Jayne, B. C., and A. F. Bennett. 1990. Selection on locomotor performance capacity in a natural population of garter snakes. *Evolution* 44:1204-1229.
- Johnston, I. A., and A.F. Bennett. 1996. *Animals and Temperature. Phenotypic and evolutionary adaptations.* Cambridge University Press, UK.
- Kohman, R. A., A. J. Tarr, C. E. Day, K. A. McLinden, and G. W. Boehm. 2008. Influence of prenatal stress on behavioral, endocrine and cytokine responses to adulthood bacterial endotoxin exposure. *Behavioural Brain Research* 193:257-268.
- Ladyman, M., X. Bonnet, O. Lourdais, D. Bradshaw, and G. Naulleau. 2003. Gestation, thermoregulation and metabolism in a viviparous snake, *Vipera aspis*: evidence for fecundity-independent costs. *Physiological and Biochemical Zoology* 76:497-510.

- Lecomte, J., J. Clobert, and M. Massot. 1993. Shift in behaviour related to pregnancy in *Lacerta vivipara*. *Revue d'Ecologie (Terre et vie)* 48:99-107.
- Le Galliard, J. F., R. Ferrière, and J. Clobert. 2005. Juvenile growth and survival under dietary restriction: are males and females equal? *Oikos* 111 :368-376.
- Le Galliard, J. F., O. Marquis, and M. Massot. 2010. Cohort variation, climate effects and population dynamics in a short-lived lizard. *Journal of Animal Ecology* 79:1296-1307.
- Leimar, O., P. Hammerstein, and T. J. M. van Dooren. 2006. A new perspective on developmental plasticity and the principles of adaptive morph determination. *American Naturalist* 167:367-376.
- Lelièvre, H., M. Lehenanff, G. Blouin-Demers, G. Naulleau, and O. Lourdais. 2010. Thermal strategies and energetics in two sympatric colubrid snakes with contrasted exposure. *Journal of Comparative Physiology, Part B* 180:415-425.
- Lepetz, V., M. Massot, A. Chaine, and J. Clobert. 2009. Climate warming and evolution of morphotypes in a reptile. *Global Change Biology* 15:454-466.
- Lindström, J. 1999. Early development and fitness in birds and mammals. *Trends in Ecology and Evolution* 14:343-348.
- Lorenzon, P., J. Clobert, and M. Massot. 2001. The contribution of phenotypic plasticity to adaptation in *Lacerta vivipara*. *Evolution* 55:392-404.
- Lourdais, O., B. Heulin, and D. DeNardo. 2008. Thermoregulation during gravidity in the Children's python (*Antaresia childreni*): a test of the pre-adaptation hypothesis for maternal thermophily in snakes. *Biological Journal of the Linnaean Society* 93:499-508.
- Lourdais, O., X. Bonnet, R. Shine, D. DeNardo, G. Naulleau, and M. Guillon. 2002. Capital-breeding and reproductive effort in a variable environment: a longitudinal study of viviparous snake. *Journal of Animal Ecology* 71:470-479.
- Lourdais, O., R. Shine, X. Bonnet, M. Guillon, and G. Naulleau. 2004. Climate affects embryonic development in a viviparous snake, *Vipera aspis*. *Oikos* 104:551-560.
- Löwenborg, K., R. Shine, and M. Hagman. 2011. Fitness disadvantages to disrupted embryogenesis impose selection against suboptimal nest-choice by female grass snakes, *Natrix natrix* (Colubridae). *Journal of Evolutionary Biology* 24:177-183.
- Lugo, J. N., M. D. Marini, K. Cronise, and S. J. Kelly. 2003. Effects of alcohol exposure during development on social behavior in rats. *Physiology and Behavior* 78:185-194.
- Lummaa, V., and T. Clutton-Brock. 2002. Early development, survival and reproduction in humans. *Trends in Ecology and Evolution* 17:141-147.

- Lummaa, V. 2003. Early developmental conditions and reproductive success in humans: downstream effects of prenatal famine, birthweight and timing of birth. *American Journal of Human Biology* 15:370-379.
- Lynch, V. J. 2009. Live-birth in vipers (Viperidae) is a key innovation and adaptation to global cooling during the cenozoic. *Evolution* 63:2457-2465.
- Mac Diamird, R. W. 1978. Evolution of parental care in frogs. Pages 127-147 *in* Burghardt and Bekoff eds, *The development of behavior: comparative and evolutionary aspects*. Garland STPM Press, New York.
- Madsen, T., and R. Shine 1999. Life history consequences of nest-site variation in tropical pythons (*Liasis fuscus*). *Ecology* 80:89-997.
- Marshall, D. J., and T. Uller. 2007. When is a maternal effect adaptive? *Oikos* 116:1957-1963.
- Massot, M., J. Clobert, A. Chambon, and Y. Michalakis. 1994. Vertebrate natal dispersal: the problem of non-independence of siblings. *Oikos* 70:172-176.
- Meyers, L. A., and J. J. Bull. 2002. Fighting change with change: adaptive variation in uncertain world. *Trends in Ecology and Evolution* 17:551-557.
- Meylan, S., and J. Clobert. 2005. Is corticosterone-mediated phenotype development adaptive? Maternal corticosterone treatment enhances survival in male lizards. *Hormones and Behavior* 48:44-52.
- Meylan, S., J. Clobert, and B. Sinervo. 2007. Adaptive significance of maternal induction of density-dependent phenotypes. *Oikos* 116:650-661.
- Mihaila, C., J. Schramm, F. G. Strathmann, D. L. Lee, R. M. Gelein, A. E. Luebke, and M. Mayer-Pröschel. 2011. Identifying a window of vulnerability during fetal development in a maternal iron restriction model. *Plos One* 6, e17483. doi:10.1371/journal.pone.0017483.
- Monaghan, P. 2008. Early growth conditions, phenotypic development and environmental change. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 363:1635-1645.
- Mousseau, T. A., and C. W. Fox. 1998. The adaptive significance of maternal effects. *Trends in Ecology and Evolution* 13:403-407.
- Mugabo, M., O. Marquis, S. Perret, and J. F. Le Galliard. 2010. Immediate and delayed effects caused by food deprivation early in life in a short-lived lizard. *Journal of Evolutionary Biology* 23:1886-1898.
- Müller, W., K. M. Lessels, P. Korsten, and N. Von Engelhardt. 2007. Manipulative signals in family conflict? On the function of maternal yolk hormones in birds. *American Naturalist* 169:E84-E96.

- Naulleau, G. 1979. Etude biotéléométrique de la thermorégulation chez *Vipera aspis* (L.) élevée en conditions artificielles. *Journal of Herpetology* 13:203-208.
- Naulleau, G. 1981. Détermination des périodes d'ovulation chez *Vipera aspis* et *Vipera berus* dans l'ouest de la France, étudiée par radiographie. *Bulletin de la Société des Sciences Naturelles de l'Ouest de la France*, 3:151-153.
- O'loan, J., D. W. Eyles, J. Kesby, P. Ko, J. McGrath, and T. H. J. Burne. 2007. Vitamine D deficiency during various stages of pregnancy in the rat; its impact on development and behaviour in adult offspring. *Psychoneuroendocrinology* 32:227-234.
- Ojanguren, A. F., and F. Braña. 2003. Thermal dependence of embryonic growth and development in brown trout. *Journal of Fish Biology* 62:580-590.
- Olsson, M., and R. Shine. 1997. The seasonal timing of oviposition in sand lizards (*Lacerta agilis*): why early clutches are better. *Journal of Evolutionary Biology* 10:369-381.
- Olsson, M., and R. Shine. 1998. Timing of parturition as a maternal care tactic in an alpine lizard species. *Evolution* 52:1861-1864.
- O'Steen, S., and F.J. Janzen. 1999. Embryonic temperature affects metabolic compensation and thyroid hormones in hatchling snapping turtles. *Physiological and Biochemical Zoology* 72:520-533.
- Oufiero, C. E., and M. J. Angilletta. 2006. Convergent evolution of growth and development in lizard embryos. *Evolution* 60:1066-1075.
- Piersma, T., and J. A. van Gils, 2011. *The flexible phenotype*. Oxford University Press Inc., New York. Pp 238.
- Qualls, C. P., and R. M. Andrews. 1999. Cold climates and the evolution of viviparity in reptiles: cold incubation temperatures produce poor-quality offspring in the lizard, *Sceloporus virgatus*. *Biological Journal of the Linnean Society* 67:353-376.
- Reid, J. M., E. M. Bignal, S. Bignal, D. I. McCracken, and P. Monaghan. 2003. Environmental variability, life-history covariation and cohort effects in the red-billed chough *Pyrrhocorax pyrrhocorax*. *Journal of Animal Ecology* 72:36-46.
- Reynols, J. D., N. B. Goodwin, and R. P. Freckleton. 2002. Evolutionary transitions in parental care and live bearing in vertebrates. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 357:269-281.
- Richardson, M. K, S. P. Allen, G. M Wright, A. Raynaud, and J. Hanken. 1998. Somite number and vertebrate evolution. *Development* 125:151-160.

- Robert, K. A., M. B. Thompson, and F. Seebacher. 2006. Thermal biology of a viviparous lizard with temperature-dependant sex determination. *Journal of Thermal Biology* 31:292-301.
- Rodríguez-Díaz, T., F. Gonzáles, X. Ji, and F. Braña. 2010. Effects of incubation temperature on hatchling phenotypes in an oviparous lizard with prolonged egg retention: are the two main hypotheses on the evolution of viviparity compatible? *Zoology* 113 :33-38.
- Saint Girons, H. 1952. Ecologie et éthologie des vipères de France. *Annales des Sciences Naturelles Zool.* 14:263-343.
- Saint Girons, H. 1957. Le cycle sexuel chez *Vipera aspis* (L) dans l'ouest de la France. *Bulletin Biologique de France et de Belgique* 91:284-350.
- Sarkar, P., K. Bergman, N. M. Fisk, T. G. O'Connor, and V. Glover. 2007. Ontogeny of foetal exposure to maternal cortisol using midtrimester amniotic fluid as a biomarker. *Clinical Endocrinology* 66:636-640.
- Sulik, K. K., M. C. Johnston, and M. A. Webb. 1981. Fetal Alcohol syndrome: Embryogenesis in a mouse model. *Science* 214:936-938.
- Shine, R. 1983. Reptilian viviparity in cold climates: testing the assumptions of an evolutionary hypothesis. *Oecologia* 57:397-405.
- Shine, R. 1985. The evolution of viviparity in reptiles: an ecological analysis. Pages 605–694 in C. Gans and F. Billett, eds. *Biology of the Reptilia*. Vol. 15. Wiley, New York.
- Shine, R. 1995. A new hypothesis for the evolution of viviparity in reptiles. *American Naturalist* 145:809-823.
- Shine, R. 2003. Locomotor speeds of gravid lizards: placing “costs of reproduction” within an ecological context. *Functional Ecology* 17:526-533.
- Shine, R. 2004. Adaptive consequences of developmental plasticity. Pages 187-210 in D. C. Deeming, ed. *Reptilian incubation: environment, evolution, and behaviour*. Nottingham University Press.
- Shine, R. 2006. Is increased maternal basking an adaptation or a pre-adaptation to viviparity in lizards? *Journal of Experimental zoology Part A- Comparative Experimental Zoology* 305A:524-535.
- Shine, R., and J. J. Bull. 1979. The evolution of live-bearing in lizards and snakes. *American Naturalist* 113:905-923.
- Shine, R., and M. Elphick. 2001. The effect of short-term weather fluctuations on temperatures inside lizards nest, and on the phenotypic traits of hatchling lizards. *Biological Journal of the Linnean Society* 72:555-565.

- Shine, R., and P. Harlow. 1993. Maternal thermoregulation influences offspring viability in a viviparous lizard. *Oecologia* 96:122-127.
- Shine, R., T. Langkilde, M. Wall, and R. T. Mason. 2005. The fitness correlates of scalation asymmetry in garter snakes, *Thamnophis sirtalis parietalis*. *Functional Ecology* 19:306-314.
- Sinervo, B., P. Doughy, R. B. Huey, and K. Zmudio. 1992. Allometric engineering: a causal analysis of natural selection on offspring size. *Science* 258:1927-1930.
- Sorci, G., and J. Clobert. 1999. Natural selection on hatchling body size and mass in two environments in the common lizard (*Lacerta vivipara*). *Evolutionary Ecology Research* 1:303-316.
- Stahlschmidt, Z. R., and D. F. DeNardo. 2009. Obligate costs of parental care to offspring: egg brooding-induced hypoxia creates smaller, slower and weaker python offspring. *Biological Journal of the Linnean Society* 98:414-421.
- Stewart, J. R., and M. B. Thompson. 2000. Evolution of placentation among squamate reptiles: recent research and future directions. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 127:411-431.
- Sulik, K. K., Johnston M.C. and Webb M.A. 1981. Fetal Alcohol syndrome: Embryogenesis in a mouse model. *Science* 214:936-938.
- Tinkle, D. W., and J.W. Gibbons. 1979. The distribution and evolution of viviparity in reptiles. *Miscellaneous Publications, Museum of zoology, University of Michigan*.
- Tschirren, B., P. S. Fitze, and H. Richner. 2007. Maternal modulation of natal dispersal in a passerine bird: An adaptive strategy to cope with parasitism. *American Naturalist* 169:87-93.
- Uller, T. 2008. Developmental plasticity and the evolution of parental effects. *Trends in Ecology and Evolution* 23:432-438.
- Uller, T., J. Hollander, L. Astheimer, and M. Olsson. 2009. Sex-specific developmental plasticity in response to yolk corticosterone in an oviparous lizard. *Journal of Experimental Biology* 212:1087-1091.
- Uller, T., and M. Olsson. 2010. Offspring size and timing of hatching determine survival and reproductive output in a lizard. *Oecologia* 162:663-671.
- Vercken, E., M. De Fraipont, A. M. Dufty, and J. Clobert. 2006. Mother's timing and duration of corticosterone exposure modulate offspring size and natal dispersal in the common lizard (*Lacerta vivipara*). *Hormones and Behaviour* 51:379-386.
- Warner, D. A., and R. Shine. 2007. Fitness of juvenile lizards depends on seasonal timing of hatching, not offspring body size. *Oecologia* 154:65-73.

- Warner, D. A., and R. Shine. 2008. Determinants of dispersal distance in free-ranging juvenile lizards. *Ethology* 114:361-368.
- Warton, D. I., and F. K. C. Hui. 2011. The arcsine is asinine: the analysis of proportions in ecology. *Ecology* 92:3-10.
- Webb, J. K., R. Shine, and K. A. Christian. 2006. The adaptive significance of reptilian viviparity in the tropics: Testing the maternal manipulation hypothesis. *Evolution* 60:115-122.
- West-Eberhard, M. J. 2004. *Developmental plasticity*. Oxford University Press.
- Williams, E. L., and M. F. Casanova. 2010. Potential teratogenic effects of ultrasound on corticogenesis: Implications for autism. *Medical Hypotheses* 75:53-58.
- Wootton, S. A., and A. A. Jackson. 2009. Influence of under-nutrition in early life on growth, body composition and metabolic competence. *In* C. J. K. Henry and S. J. Ulijaszek. *Long-term consequences of early environment. Growth, development and the lifespan developmental perspective*. Society for the study of human biology, Symposium series: 37. Cambridge University Press, New York.
- Wüster, W., C. S. E. Allum, B. I. Bjargardóttir, K. L. Bailey, K. J. Dawson, J. Guenioui, J. Lewis, J. McGurk, A. G. Moore, M. Niskanen, and C. P. Pollard. 2004. Do aposematism and Batesian mimicry require bright colours? A test, using European viper markings. *Proceedings of the Royal Society of London* 271:2495-2499.
- Zuffi, M., A. Gentili, E. Cecchinelli, F. Pupin, X. Bonnet, E. Filippi, L. Luisilli, F. Barbaneras, F. Dini, and M. Fasola. 2009. Geographic variation of body size and reproductive patterns in Continental versus Mediterranean asp vipers, *Vipera aspis*. *Biological Journal of the Linnean Society* 96:383–391.

Table 1. Characterization of embryonic stages during exposure to the Non-reproductive” thermal cycle in “C1”, “C2” and “C3” treatments using *Vipera aspis* developmental tables (Hubert and Dufaure, 1968) and estimations from ultrasonography.

Treatment	Developmental stages during cold exposure	Embryo mean size (cm)	Estimated remaining vitellus	Cold exposure (days)
C1	0 to 35-36	0 -1.02	> 60-70%	31
C2	35-36 to 39-40	1.02 to 2.36	60% to 30%	28
C3	39-40 to 43	up to 2.36	< 30%	54

Table 2. Effects of the timing of thermal perturbations during gestation on morphological traits at birth, growth patterns, and metabolic rate of offspring in the viviparous snake *Vipera aspis*. Table shows mean values \pm SE.

Trait	GESTATION				Statistical Test: Effects of thermal treatment	Tukey's <i>post hoc</i> test			
	C1	C2	TREATMENT C3	O		C1	C2	C3	O
BM (g)	4.88 \pm 0.30	4.88 \pm 0.30	5.34 \pm 0.19	5.28 \pm 0.13	n.s.				
BC	0.026 \pm 0.023	-0.013 \pm 0.015	0.029 \pm 0.010	-0.027 \pm 0.009	n.s.				
VSN	145.8 \pm 1.3	147.4 \pm 0.7	145.5 \pm 0.8	147.4 \pm 0.8	n.s.				
SVS number	23.9 \pm 8.2	26.0 \pm 8.2	7.3 \pm 4.3	2.9 \pm 1.4	n.s.				
Number of dorsal pattern abnormalities	6.8 \pm 0.5	5.0 \pm 0.6	3.3 \pm 0.5	3.5 \pm 0.4	$F_{3,24} = 7.531, p = 0.001$	A	AB	B	B
Dorsal pattern score	2.9 \pm 0.2	2.3 \pm 0.2	1.9 \pm 0.2	1.7 \pm 0.2	$F_{3,24} = 4.816, p = 0.009$	A	AB	B	B
SVL growth (mm)	0.70 \pm 0.12	1.09 \pm 0.08	1.14 \pm 0.11	1.16 \pm 0.06	$F_{3,25} = 2.810, p = 0.060$	A	AB	AB	B
BM loss (g)	-0.63 \pm 0.10	-0.49 \pm 0.04	-0.51 \pm 0.05	-0.40 \pm 0.03	n.s.				
adjusted jaw growth (mm)	0.40 \pm 0.06	0.52 \pm 0.05	0.34 \pm 0.05	0.62 \pm 0.05	$F_{3,25} = 4.191, p = 0.016$	AB	AB	B	A
O₂ consumption (ml.h⁻¹)	0.51 \pm 0.05	0.51 \pm 0.05	0.61 \pm 0.06	0.38 \pm 0.02	$F_{3,24} = 2.846, p = 0.05$	AB	AB	B	A

Note: Abbreviations. BC: body condition, BM: body mass, JL: jaw length, SVL: snout-vent length, SVS: split ventral scales, VSN: ventral scale number.

1 **Table 3.** Effects of the timing of thermal perturbations during gestation on behavioral traits at birth in the viviparous snake *Vipera aspis*. Table
 2 shows mean values \pm SE.

3

Trait	GESTATION TREATMENT				Statistical Test: Effects of thermal treatment	Tukey's <i>Post hoc</i> Test			
	C1	C2	C3	O		C1	C2	C3	O
Anti-predator behaviour at birth									
Proportion of strikers	0.54 \pm 0.10	0.73 \pm 0.10	0.80 \pm 0.08	0.94 \pm 0.04	n.s				
Strike number	2.9 \pm 0.6	7.3 \pm 0.9	5.4 \pm 0.7	5.9 \pm 0.7	F _{3,24} =3.754, p=0.024	A	B	AB	B
Time before first strike	12.65 \pm 2.4	4.13 \pm 0.64	7.07 \pm 1.62	6.20 \pm 0.97	F _{3,24} =4.958, p=0.008	A	B	B	B
Proportion of protective response	0.46 \pm 0.10	0.32 \pm 0.10	0.32 \pm 0.10	0.40 \pm 0.08	n.s				
Tongue flick number	9.9 \pm 1.5	9.0 \pm 1.0	11.5 \pm 0.8	12.1 \pm 0.9	n.s				
Exploratory behaviour at birth									
Time to initiate the first movement	117.5 \pm 55.9	36.7 \pm 22.6	11.8 \pm 2.5	11.3 \pm 2.5	n.s.				
% Time scanning	21.4 \pm 4.1	16.6 \pm 4.1	7.9 \pm 1.3	18.6 \pm 2.2	n.s.				
% Time under shelter	17.3 \pm 4.9	22.2 \pm 6.0	20.3 \pm 3.3	20.2 \pm 3.8	n.s.				
Number of different visited shelters	0.9 \pm 0.1	2.1 \pm 0.4	1.9 \pm 0.2	2.2 \pm 0.3	F _{3,25} = 3.075, p = 0.045	A	AB	AB	B
Contraction force									
Maximal contraction force (g)	65.8 \pm 5.8	82.0 \pm 5.8	91.9 \pm 5.5	70.7 \pm 2.9	F _{3,25} = 3.835, p = 0.022	A	AB	B	A
Total contraction force (g)	5557.1 \pm 617.4	7448.9 \pm 695.4	8836 \pm 644.5	6039.0 \pm 361.0	F _{3,25} = 3.819, p = 0.022	A	AB	B	A
Total contraction number	11.3 \pm 0.6	14.7 \pm 0.6	15.2 \pm 0.5	13.9 \pm 0.3	n.s				

Figures captions

Figure 1. Experimental design used during gestation. Thermal treatments were based on two different daily temperature cycles applied at different times during gestation. (a) In the optimal (“Reproductive”) daily cycle females reached their preferred body temperature ($T_{\text{set}} = 33.0^{\circ}\text{C}$) for 9 hours, while the “Non-reproductive” cycle (open circles) mimicked the thermal regime maintained by non-reproductive females, which had a lower T_{set} (27.0°C). (b) The five thermal treatments varied in relative frequency and timing of the two daily thermal cycles during gestation. White and black bars represent exposure to Non-reproductive and Reproductive daily temperature cycles, respectively.

Figure 2. Impact of thermal treatment on gestation duration in *Vipera aspis*. Error bars represent SE. Symbols not connected by the same letter are significantly different.

Figure 3. Impact of thermal treatment on (a) SVL and (b) SVL-adjusted jaw length at birth in neonate *Vipera aspis*. Error bars represent SE. Different letters above the symbols represent significantly different values.

Figure 4. Impact of thermal treatment on exploratory behaviors in neonate *Vipera aspis*: (a) time spent in active exploration, (b) time spent motionless, (c) number of visited compartments, and (d) number of tongue flicks. Error bars represent SE. Different letters above the bars and symbols represent significantly different values.

Figure 1

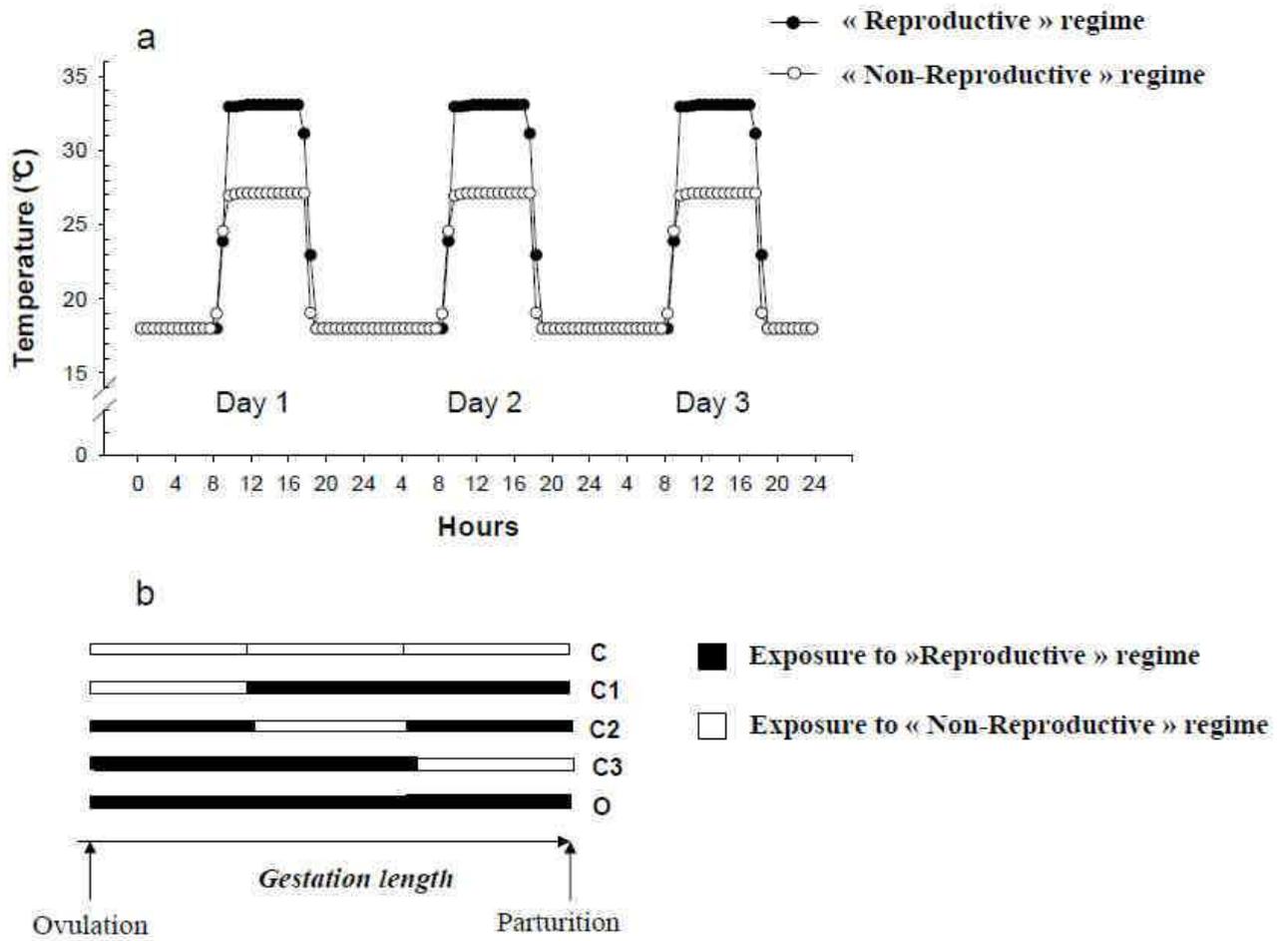


Figure 2

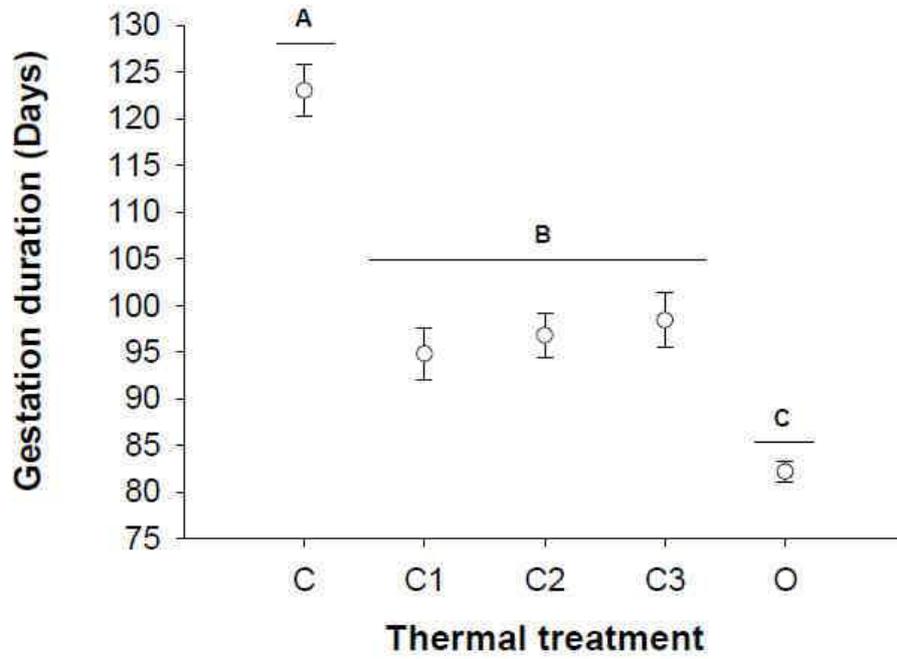


Figure 3

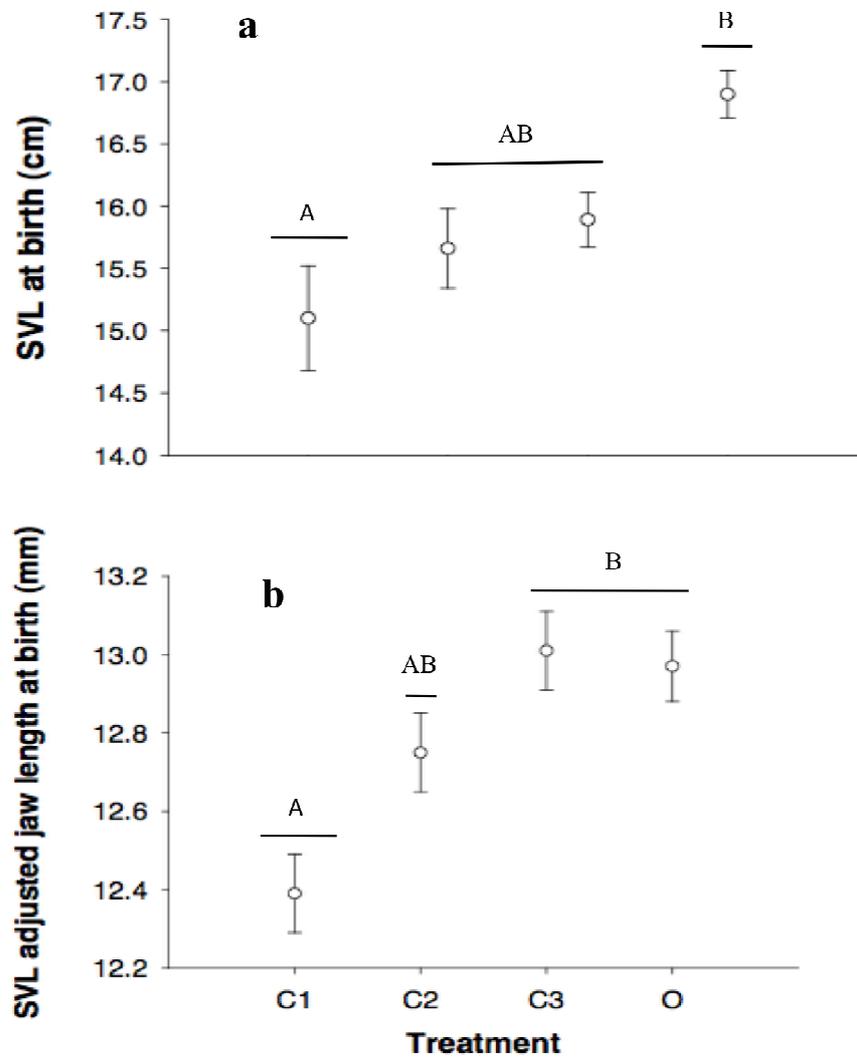


Figure 4

