



**HAL**  
open science

# Variabilités phénotypique et génétique chez la grive à pieds jaunes, *Turdus lherminieri*, à différentes échelles

Emilie Arnoux

► **To cite this version:**

Emilie Arnoux. Variabilités phénotypique et génétique chez la grive à pieds jaunes, *Turdus lherminieri*, à différentes échelles. Sciences agricoles. Université de Bourgogne, 2012. Français. NNT : 2012DIJOS076 . tel-01002901

**HAL Id: tel-01002901**

**<https://theses.hal.science/tel-01002901v1>**

Submitted on 26 Jun 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.

Université de Bourgogne  
UMR CNRS 6282 – Biogéosciences

**THÈSE**

Pour obtenir le grade de  
Docteur de l'Université de Bourgogne  
Discipline : Sciences de la Vie  
Spécialité : Ecologie Evolutive

Présentée par

**Emilie ARNOUX**

Soutenance le 6 décembre 2012

**Variabilités phénotypique et génétique chez la Grive à  
pieds jaunes, *Turdus lherminieri*, à différentes échelles.**

**Directeur de thèse  
Professeur Bruno Faivre**

**Co-directeurs  
Dr. Stéphane Garnier  
Dr. Cyril Eraud**

**Jury**

<b>Bruno Faivre</b>	CNRS - Université de Bourgogne	Directeur de thèse
<b>Stéphane Garnier</b>	CNRS - Université de Bourgogne	Co-directeur de thèse
<b>Cyril Eraud</b>	ONCFS - Villiers en Bois	Co-directeur de thèse
<b>Patrick Berrebi</b>	CNRS - ISEM Montpellier	Rapporteur
<b>Pierre-André Crochet</b>	CEFE - Université de Montpellier	Rapporteur
<b>Jacques Blondel</b>	CEFE - Université de Montpellier	Examineur
<b>Luca Fumagalli</b>	DEE - Université de Lausanne	Examineur
<b>Emmanuel Fara</b>	CNRS - Université de Bourgogne	Examineur



Université de Bourgogne  
UMR CNRS 6282 – Biogéosciences

**THÈSE**

Pour obtenir le grade de  
Docteur de l'Université de Bourgogne  
Discipline : Sciences de la Vie  
Spécialité : Ecologie Evolutive

Présentée par

**Emilie ARNOUX**

Soutenance le 6 décembre 2012

**Variabilités phénotypique et génétique chez la Grive à  
pieds jaunes, *Turdus lherminieri*, à différentes échelles.**

**Directeur de thèse  
Professeur Bruno Faivre**

**Co-directeurs  
Dr. Stéphane Garnier  
Dr. Cyril Eraud**

**Jury**

<b>Bruno Faivre</b>	CNRS - Université de Bourgogne	Directeur de thèse
<b>Stéphane Garnier</b>	CNRS - Université de Bourgogne	Co-directeur de thèse
<b>Cyril Eraud</b>	ONCFS - Villiers en Bois	Co-directeur de thèse
<b>Patrick Berrebi</b>	CNRS - ISEM Montpellier	Rapporteur
<b>Pierre-André Crochet</b>	CEFE - Université de Montpellier	Rapporteur
<b>Jacques Blondel</b>	CEFE - Université de Montpellier	Examineur
<b>Luca Fumagalli</b>	DEE - Université de Lausanne	Examineur
<b>Emmanuel Fara</b>	CNRS - Université de Bourgogne	Examineur





## Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier mes encadrants Bruno, Stéphane et Cyril de m'avoir fait confiance pour la réalisation de cette thèse. Motivée mais rétissante par certaines disciplines abordées dans cette thèse, vous m'avez fait progresser dans plusieurs domaines notamment la génétique, ma bête noire au même titre que l'anglais. Cette thèse a été l'occasion pour moi de compléter mes connaissances et surtout de m'apporter une nouvelle expérience. Ces trois années m'ont été très enrichissantes à la fois sur le plan scientifique mais aussi touristique si je puis dire. J'ai eu cette chance de pouvoir découvrir des milieux tropicaux plus beaux les uns que les autres, dans des zones non accessibles au public ce qui permet d'apprécier encore plus la chance d'être ici. Merci encore de m'avoir offert cette opportunité.

Merci à ce cher petit oiseau, la Grive à pieds jaunes dont on ne connaissait pas grand chose mais qui s'est montrée assez docile à la capture. Rien était gagné mais avec des efforts et de la persévérance de mes acolytes de terrain, Alban, Julien, François, Nathanael, mes encadrants et moi-même, nous sommes parvenus à obtenir des échantillons considérables. Je remercie très chaleureusement mes quatre acolytes qui ont été très courageux avec des réveils très matinaux (3h du matin), des journées à ne plus compter nos heures, de nombreux kilos perdus (n'est-ce pas Alban) et le tout dans une bonne ambiance assurée. Sans votre aide, je ne serais pas arrivée à ce tel résultat.

Restons dans les tropiques car la moitié de ma thèse s'est déroulée au soleil. Je tiens à remercier tous les acteurs locaux qui m'ont conseillé, emmené sur des sites et fait découvrir leurs îles. J'espère que je ne vais oublier personne car ils étaient nombreux : pour la Guadeloupe : Bénito-Espinal, Anthony, Gilles, Frantz, Guy, Monsieur Coco et son cousin, Monsieur et Madame Chaulet (Parc de la Valombreuse), les agents du Parc National de la Guadeloupe, la famille Iscaye, Monsieur Billy, l'ONF, le Conservatoire du Littoral, Luc Legendre, Didier Lopez ; pour la Dominique Bertrand dit le Docteur Birdy, Stephen, Mr Arlington James ; pour Montserrat Scriber, Stephen, Mr Gray et pour Sainte-Lucie : Alwin, Adams, Tony, Georges et Apachie.

De retour à Dijon, je tiens à remercier Evelyne et Nathalie, les lèves tôt du laboratoire avec lesquels je prends mon petit café tous les matins et une bonne dose de rigolade. Merci aux filles, Nathalie et Aurélie qui m'ont épaulé dans les moments cahotiques et qui avec leur bonne humeur étaient les petits rayons de soleil du laboratoire. Un grand merci à tous les thésards du laboratoire que ce soit écologistes ou géologues: Juliette, David, Caroline, Matthias, Lucile, Romain, Coraline, Adrien, Aurélie, Paco, Christophe, Sylvain, Julien, Benjamin avec lesquels les soirées de détente se révélèrent agréables. Un merci particulier à Juliette qui m'a accompagnée sur l'île de la Dominique et avec laquelle on a passé des bons moments et des bonnes galères. Je pense qu'elle se souviendra toujours de la grimpette à Middleham Falls à 4h du mat avec le matériel sur le dos et les chefs loin devant qui gravissait cette côte sans difficultés alors que nous.... ainsi que de ces nuits bercées par un fort

ronnement...)). Merci également pour sa relecture. Merci aussi aux anciens et aux nouveaux post-docs : Mark, Cécile, Aurore, Virginia, Carolina.

Un merci particulier aux deux as de l'informatique, Alex et Denis qui m'ont à la fois formée au logiciel de dessin mais aussi à la mise en page Word. Merci pour l'aide fournie pour la conception des cartes et la mise en page. Sans vous, j'aurais mis des mois...

Merci à tous les membres du laboratoire avec lesquels je partage les pauses café, les rigolades, les bons moments comme les mauvais. Je n'énumérerai pas les noms car je risque d'en oublier vu que bavarde comme je suis, je parle avec tout le monde. Par contre, maintenant que j'ai terminé, ils vont tous être contents car je pourrai me remettre à la cuisine et leur apporter des petites douceurs pour leur café. Ca évitera qu'on me dise : "Ben ils sont où les petits gâteaux". Vous ne trouvez pas qu'ils exagèrent ? Merci également aux secrétaires : Cindy, Annie, Isabelle.

Merci également à Christelle Tougard et Patrick Berrebi qui m'ont accueilli sur la plate-forme d'ADN dégradé à Montpellier et donnés des conseils. Merci particulièrement à Christelle qui m'a formée et encadrée tout au long de ce mois passé dans le sud.

Merci à toutes les personnes de mon comité de thèse, Luca, Paul et Claire qui ont suivi ces trois années de labeur et qui m'ont conseillé et encouragé.

Merci aux rapporteurs, Pierre-André Crochet et Patrick Berrebi qui me font l'honneur d'évaluer ma thèse ainsi que les autres membres du Jury, Emmanuel Fara, Jacques Blondel, Luca Fumagalli et mes trois encadrants.

Merci à tous les financeurs et collaborateurs de ce projet : Les Fonds Européens de Développement Régional, la DEAL de Guadeloupe, l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, l'Université de Bourgogne, la région Bourgogne, le laboratoire Biogéosciences, Christelle Tougard et le Rotary Club de Dijon.

Merci à mes amis de l'extérieur: Marion, Jasmine, Bertrand, François, Stéphane et Christelle que je ne vois pas souvent mais qui sont quand même toujours là.

Pour finir, je tiens à remercier tout particulièrement mes parents qui m'ont suivi pendant toute la durée de mes études de même que mes soeurs et beaux frères à ne pas oublier non plus et mes neveux et nièces. Beaucoup de travail, un mauvais caractère mais bon ils m'ont supporté avec mes excès d'humeur du début à la fin. Merci pour votre soutien et pour votre aide pour ses trois années qui n'ont pas été de tout repos.





## Résumé

La compréhension de l'apparition d'espèces nouvelles est depuis longtemps un problème majeur en biologie évolutive. Dans le cadre de la spéciation, une attention particulière est portée sur l'étude de la structure des populations c'est-à-dire l'agencement spatio-temporel de la diversité biologique permettant de mesurer et d'identifier la nature de la divergence. Cette divergence est dépendante de quatre forces: la dérive génétique, le flux de gène, la mutation et la sélection et a largement été étudié au sein des milieux insulaires. En effet, ces milieux ont toujours occupé une place de choix dans l'étude de la diversification du vivant car i) ils fournissent un cadre idéal pour étudier les mécanismes impliqués dans la diversification et ii) ils renferment une faune et une flore originales composées de nombreuses espèces endémiques. Ces espèces endémiques montrent une fragilité singulière de part leur faible effectif et leur aire de distribution restreinte. La Grive à Pieds Jaunes, *Turdus lherminieri*, est un oiseau forestier et endémique de quatre îles des Petites Antilles : Montserrat, la Guadeloupe, la Dominique et Sainte-Lucie. Quatre-sous espèces ont été décrites sur chacune des îles sur des critères de coloration du plumage mais aucune étude n'a réellement quantifié la divergence entre ces sous-espèces. De plus, cet oiseau voit ses effectifs déclinés depuis une quinzaine d'années ce qui lui vaut d'être protégé sur trois îles alors qu'il est encore chassé en Guadeloupe. Les objectifs dégagés dans cette étude sont: i) d'étudier la structure spatiale des grives et d'en inférer les causes, ii) de retracer l'évolution temporelle récente de la diversité génétique ces populations, iii) de déterminer si les parasites peuvent exercer des pressions de sélection contrastées entre ces populations. Notre étude a permis d'identifier trois clades et quatre îles très différenciées sur le plan génétique et morphologique à confronter aux quatre sous-espèces définies auparavant sur des critères de coloration du plumage. A une échelle spatiale plus fine, la Guadeloupe seule, nous avons constaté des niveaux de différenciation peu commun chez des oiseaux. Enfin, le contexte parasitaire semble lui aussi structuré spatialement et présente des éléments de congruence avec les structurations morphologiques et génétiques. A la suite de cette étude, trois unités de gestion peuvent être définies afin de préserver les populations de Grives à pieds jaunes: une première incluant Sainte-Lucie, une seconde incluant la Dominique et une troisième incluant l'ensemble Guadeloupe et Montserrat.

*Mots clés* : spéciation, insularité, endémisme, Grives à pieds jaunes, conservation



## Abstract

Understanding the mechanisms underlying population structure is a crucial issue in evolutionary biology and ecology. Identifying the processes driving biodiversity is also of prime interest to draw up guidelines for population management and conservation planning. Level of differentiation depends on a subtle balance between gene flow, genetic drift and natural selection and insight into the relative contribution of these factors can be provided by spatial and temporal patterns of intra-specific phenotypic and genetic variations. Differentiation has mainly been studied in insular systems because i) islands give ideal framework to study divergence in species ii) islands enclosed endemic fauna and flora. These endemic species are characterised by small population sizes and small distribution areas. They are consequently more fragilized by strong environmental changes. The Forest thrush *Turdus lherminieri* is an endemic and understorey bird present in four islands of Lesser Antilles: Montserrat, Guadeloupe, Dominica and Saint-Lucia. Four subspecies have been described on each island on the basis of feathers coloration but no study has really quantified the divergence between these subspecies. In addition, bird numbers have decline since 15 years and now Forest thrushes are protected on three islands but are always hunted in Guadeloupe. Aims proposed in this study are i) to study the spatial structure in Forest thrush in order to deduce potential causes of this structure ii) to describe the temporal evolution of genetic diversity, iii) to determine if parasites can exert contrasted selection pressures which follow genetic and morphological pattern in Forest thrushes populations. In this study, we have identified three clades and subspecies on each island which are differentiated morphologically and genetically. At fine scale *i.e* Guadeloupe only, we have revealed an uncommon level of differentiation. In last, the parasites' structure seems to follow the morphological and genetic structure observed in Forest thrushes. To conclude, three management units can be defined: a first in Saint- Lucia, a second in Dominica and a third including Montserrat and Guadeloupe.

*Mots clés* : speciation, insularity, endemism, Forest thrush, conservation





# Table des matières

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Chapitre I : Méthodologie, Du modèle biologique au laboratoire</b> .....	13
I. La Grive à Pieds Jaunes : un turdidé méconnu.....	15
I.1. Bref historique de sa découverte .....	15
I.2. Description .....	17
I.3. Distribution géographique et habitat.....	20
I.4. Biologie de l'espèce.....	22
I.5. Le statut de cette espèce .....	24
I.6. Les menaces .....	25
II. Récolte des données .....	26
II.1. Les îles échantillonnées.....	26
II.2. Collecte des données.....	34
II.3. Détermination du sexe .....	41
II.4. Choix des marqueurs moléculaires .....	41
Eléments complémentaires 1: Modélisation de la niche écologique, ENFA (Ecological Niche Factor Analysis), Hutchinson 1957 .....	44
Manuscrit 1.....	47
<b>Chapitre II Variations phénotypiques et génétiques à deux échelles : l'archipel des Petites Antilles versus l'île.</b> .....	61
Eléments complémentaires 2: Surface du domaine vital chez la Grive à Pieds Jaunes en Guadeloupe. ....	70
Manuscrit 2.....	73
Manuscrit 3.....	97
<b>Chapitre III Evolution temporelle de la diversité génétique</b> .....	141
Manuscrit 4.....	149
<b>Chapitre IV Etude spatiale des ectoparasites et des endoparasites</b> .....	183
<b>Discussion et Perspectives</b> .....	205
<b>Références</b> .....	219



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Effectifs des Grives à Pieds Jaunes capturées en 2010-2011 sur chacune des îles (Montserrat, Guadeloupe, Dominique) par sites et en fonction des sexes (Mâle vs. Femelle).....	39
<b>Tableau 2.</b> Description des variables environnementales pour chacun de nos sites d'échantillonnage de Grives à pieds jaunes en Guadeloupe. ....	66
<b>Tableau 3.</b> Relations entre les variables biométriques, phénotypiques et les variables environnementales. ....	66
<b>Tableau 4.</b> Descripteurs environnementaux des sites de captures sur Montserrat, la Guadeloupe (Grande-Terre et Basse-Terre) et la Dominique.....	188

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Dessin d'une tête de Grive à Pieds Jaunes de la Dominique. ....	15
<b>Figure 2.</b> Photographie des quatre sous-espèces de Grives à Pieds Jaunes du Nord au Sud des Petites Antilles.....	16
<b>Figure 3.</b> Photographies représentant des critères morphologiques permettant la différenciation des sous-espèces entre les îles. ....	18
<b>Figure 4.</b> Photographie de deux Grives à Pieds jaunes juvéniles sur Montserrat à Woodlands.. ....	19
<b>Figure 5.</b> Détermination de l'âge des osieaux.....	20
<b>Figure 6</b> Carte représentant l'Arc des Petites Antilles. ....	21
<b>Figure 7.</b> Photos du Père Pinchon, (1913-1980). ....	21
<b>Figure 8.</b> Grives à Pieds Jaunes de Guadeloupe.....	22
<b>Figure 9.</b> Différentes étapes de la reproduction chez la Grive à Pieds Jaunes en Guadeloupe.....	23
<b>Figure 10.</b> Statut IUCN des différentes sous-espèces de Grives à Pieds Jaunes .....	24
<b>Figure 11.</b> Carte de Montserrat vu par satellite.....	27
<b>Figure 12.</b> Photo satellite de la Guadeloupe.....	28
<b>Figure 13.</b> Cartographie des unités écologiques/paysagères définies à partir de la classification établie par Rousteau (1996).....	29
<b>Figure 14.</b> Photographies de certains types forestiers en Guadeloupe.....	31
<b>Figure 15.</b> Photographie satellite de la Dominique.....	32
<b>Figure 16.</b> Photographie satellite de Sainte-Lucie. ....	33
<b>Figure 17.</b> Carte de répartition des 991 stations échantillons inventoriées sur la période 2009-2011. ....	34
<b>Figure 18</b> Abondance de la grive à Pieds Jaunes par station échantillon.....	35
<b>Figure 19.</b> Résultats de la modélisation de la niche écologique de la Grive à Pieds Jaunes .....	35
<b>Figure 20.</b> Description des sites d'échantillonnages sur chacune des îles au cours des saisons 2010-2011.....	38
<b>Figure 21.</b> Illustration des différentes mesures et prélèvements opérés sur les Grive à pieds jaunes.	40
<b>Figure 22.</b> Photographie sous UV d'un gel d'agarose après migration par électrophorèse mettant en évidence la distinction entre mâles et femelles.....	41

<b>Figure 23.</b> Représentation de la structure morphologique A. et génétique B. chez la Grive à Pieds Jaunes en fonction des îles.....	64
<b>Figure 24.</b> Relations observées entre la masse et les variables environnementales .....	67
<b>Figure 25.</b> Relations entre la coloration du bec des Grives à Pieds Jaunes avec l'altitude.....	68
<b>Figure 26.</b> Les ectoparasites identifiés chez les Grives à pieds.....	189
<b>Figure 27.</b> Vecteurs et parasites sanguins.....	190
<b>Figure 28.</b> Nombre moyen de rémiges parasitées.....	193
<b>Figure 29.</b> Prévalence pour <b>A. Plasmodium</b> et <b>B. Haemoproteus</b> chez la Grive à pieds jaunes entre les différents sites de capture. ....	194
<b>Figure 30.</b> Proportion des différentes lignées de parasites sanguins présents chez les grives infectées par <i>Haemoproteus</i> , <i>Plasmodium</i> ou des parasites indéterminé.....	195
<b>Figure 31.</b> Relation entre la prévalence en parasites sanguins exprimée en pourcentage et le nombre de lignées identifiées par site d'échantillonnage.....	195
<b>Figure 32.</b> Relation entre certains descripteurs environnementaux et la prévalence des Hémosporeidés chez la Grive à Pieds Jaunes en Guadeloupe .....	197
<b>Figure 33.</b> Relation entre certains descripteurs environnementaux et l'abondance (nombre de rémiges parasitées) des ectoparasites (acariens + mallophages) chez la Grive à Pieds Jaunes en Guadeloupe.....	19797



# **Introduction**

---





## **Introduction**

La compréhension de l'apparition d'espèces nouvelles est depuis longtemps un problème majeur en biologie évolutive. De très nombreux travaux se sont attachés à définir la notion d'espèce, à établir les modalités de mise en place de la différenciation des populations, ou encore à déterminer les facteurs sous-jacents à cette différenciation et leurs rôles relatifs (Barton 2001, Mallet 2001, Coyne & Orr 2004). Si cette problématique suscite encore aujourd'hui autant d'intérêts et de travaux, c'est sans doute parce qu'il n'est pas possible de décrire la diversification du vivant avec un modèle de spéciation unique. En effet, plusieurs mécanismes peuvent conduire à l'isolement reproductif : sélection divergente, dérive génétique, hybridation et polyploïdie (Schluter 2001). Selon le(s) mécanisme(s) impliqué(s), on distingue alors plusieurs modèles de spéciation. Par exemple, la spéciation écologique correspond à l'évolution d'une barrière aux flux de gènes, autrement dit d'un isolement reproductif résultant de l'action de la sélection naturelle entraînant au départ une divergence écologique (Rundel & Price 2009). Par ailleurs, le contexte géographique dans lequel la divergence évolue permet également de distinguer les modèles de spéciations allopatrique, sympatrique, et parapatric. Cependant, tous les modèles de spéciation ont en commun l'apparition d'une divergence sur un ou plusieurs caractères. L'origine des espèces est donc en partie à rechercher dans l'apparition de cette différenciation, même si cette étape, bien que nécessaire, n'est pas suffisante pour conduire à l'apparition de nouvelles espèces (Magurran 1998).

En effet, d'après le concept biologique de l'espèce, deux nouvelles espèces sont créées à partir du moment où un isolement reproductif total est mis en place entre ces deux entités. Cet isolement reproductif n'est généralement pas le fruit d'une incompatibilité globale et diffuse, mais est souvent lié à des changements touchant quelques traits d'histoire de vie ou

caractères particuliers. Il est cependant difficile de distinguer les caractères ayant divergés avant la mise en place de l'isolement reproductif (et donc potentiellement impliqués dans son évolution) de ceux dont la divergence est apparue après que le processus de spéciation proprement dit soit terminé (Turelli et al. 2001). L'étude de la différenciation intra-spécifique permet donc de s'affranchir de ce problème. Barton (2001) souligne d'ailleurs que le concept de spéciation s'étend à la diversification de tous les aspects du phénotype. Par ailleurs, si la diversité du vivant a depuis longtemps été appréhendée au niveau spécifique, l'écologie et la biologie évolutive s'attachent à décrire et comprendre l'origine de la diversité à des niveaux d'organisation très variés, de la molécule à l'écosystème, en passant par les organismes, les populations, et bien sûr les espèces (Gaston 1996, Ridley 2004, Stearns & Hoekstra 2005). La diversité biologique peut ainsi être définie comme «une variété et une variabilité parmi les organismes vivants et les complexes écologiques dans lesquels ils évoluent» (OTA 1987). Au niveau spécifique, cette diversité se traduit par l'existence de 8.7 millions d'espèces recensées à ce jour sur notre planète (Mora et al. 2011). Au niveau intra-spécifique, cette diversité se reflète à travers l'importante variation associée aux phénotypes individuels, tant au niveau des caractères morphologiques, physiologiques, comportementaux ou encore du patrimoine génétique.

Dans le cadre de la spéciation, une attention particulière est généralement portée à l'étude de la structure des populations, c'est-à-dire de l'agencement spatio-temporel de la diversité biologique appréhendée à ce niveau d'organisation. En effet, cette première étape permet de mesurer et d'identifier la nature de la divergence entre les entités considérées. L'étape suivante consiste alors à déterminer les conséquences de cette divergence en termes d'isolement reproductif. De plus, la description des patrons spatio-temporels de variabilité permet d'inférer le rôle relatif des facteurs à l'origine de cette divergence (Templeton 1981). Pour un caractère dont le déterminisme est (au moins partiellement) génétique, la mutation, la

dérive génétique et la sélection naturelle divergente sont autant de forces génératrices de divergence entre populations. A l'inverse, les flux de gènes entre populations tendent à les homogénéiser. L'étendue de la divergence entre populations résulte donc de l'intensité relative de ces quatre processus (Slatkin 1987).

L'équilibre entre ces quatre forces pouvant varier dans l'espace et dans le temps, les échelles spatio-temporelles considérées ont une importance primordiale. En effet, la répartition géographique actuelle de la diversité au sein d'une espèce est liée à la structure du paysage dans laquelle elle évolue mais aussi à son histoire phylogéographique. De nombreuses espèces montrent encore aujourd'hui les traces d'anciens mouvements de leur aire de distribution en raison d'oscillations climatiques vieilles de quelques milliers d'années (Hewitt 2000, Castric & Bernatchez 2003, Avise 2004). Par ailleurs, la structure du paysage est définie par la taille des compartiments d'habitats favorables ainsi que par la nature de la matrice qui les relie (Graviton et al. 2001, Prugh et al. 2008, Alcaide et al. 2009, Mendez et al. 2011, Watson 2011). Elle conditionne donc en partie la taille des populations et leur connectivité. Ainsi, la structure du paysage détermine l'importance relative des processus évolutifs. La dérive génétique, d'autant plus forte que la taille des populations est petite, entraîne ainsi une augmentation de la divergence entre populations et une baisse de la diversité génétique au sein des populations, cette diversité étant une composante majeure du potentiel évolutif des populations (Frankham 2005). La dérive peut aussi être liée à d'autres facteurs que la taille des habitats favorables. Son effet peut par exemple être exacerbé dans le cas de goulets d'étranglement qui résulte d'une mortalité massive à la suite d'événements climatiques ou géologiques majeurs (e.g. éruption volcanique, tornades...), d'une surexploitation par l'homme ou encore d'une épizootie (Beheregay et al. 2003, Fernando et al. 2006, Fong et al. 2007). Par ailleurs, à travers la structure du paysage les flux de gènes entre populations dépendent de leur connectivité, elle-même fonction de leur distance géographique

(Rousset 1997), de la composition et de l'agencement de la matrice paysagère (Graviton et al. 2001, Prugh et al. 2008, Alcaide et al. 2009, Mendez et al. 2011, Watson 2011), ou encore de la présence de barrières environnementales (e.g. montagnes, rivières ; Gushanski et al. 2007). L'importance des flux de gènes est également intimement liée aux capacités de dispersion intrinsèques des individus (Harris & Reed 2002, Irwin 2002, Neaves et al. 2009).

Si le paysage dans lequel évolue une espèce influence la démographie des populations, il impose aussi parfois des pressions de sélection divergente pouvant entraîner une différenciation à plus ou moins large échelle spatiale. De nombreuses études ont montré que la sélection naturelle était un puissant moteur de diversification y compris à petite échelle (Grant et Grant 1989, Blondel et al. 1999, Moritz et al. 2000, Kocher 2004, Luo et al. 2007, Ryan et al. 2007, Rundell & Price 2009, Mila et al. 2010). Le rapport entre l'intensité de la sélection naturelle divergente entre habitats contrastés et l'intensité des échanges de gènes entre ces habitats détermine le niveau de différenciation atteint. Il n'est ainsi pas nécessaire que deux populations soient isolées pour que la sélection naturelle génère de la différenciation et conduise à l'adaptation locale des populations (Rice & Hostert 1993, Pinho & Hey 2010). La sélection naturelle peut aussi entraîner la différenciation entre deux populations dans la mesure où elle impose elle-même une barrière aux flux de gènes en empêchant ou en limitant la reproduction des immigrants lorsque ces derniers sont adaptés à un habitat différent de celui dans lequel ils arrivent (Nosil et al. 2005).

Notons cependant que l'hétérogénéité de l'habitat n'entraîne pas nécessairement une adaptation locale, autrement dit une différenciation génétique. En effet, certains génotypes ont la capacité d'exprimer différents phénotypes selon les conditions environnementales dans lesquelles l'organisme se développe. On parle alors de plasticité phénotypique (Pigliucci 2001, 2005, Miner et al. 2005, Postma & Van Noordwijk 2005). Chez le Jardinier satiné (*Ptilonorhynchus violaceus*, Nicholls et al. 2006), une étude sur 16 populations

échantillonnées sur les côtes australiennes a révélé que la divergence vocale observée entre les sites est déconnectée de la divergence génétique. Chez cet oiseau, le mâle construit un nid en forme de berceau au sol et pour signaler sa présence et attirer les femelles, il pousse un cri d'appel. La structure de ce cri varie avec le type d'habitats et la densité forestière dans lequel vit l'oiseau. Les oiseaux vivant dans des localités avec une végétation très dense comme dans les forêts tropicales utilisent des fréquences plus graves avec une forte énergie dans l'appel contrairement aux oiseaux vivant dans des forêts d'eucalyptus, habitats plus ouverts (Nicholls & Goldizen 2006).

Les milieux insulaires ont toujours occupé une place de choix dans l'étude de la diversification du vivant, probablement pour deux raisons principales. La première est que ces milieux fournissent un cadre idéal pour étudier les mécanismes impliqués dans la différenciation en raison de leurs caractéristiques. Les îles sont des territoires bien délimités et relativement isolés de sources potentielles de colonisation. Les milieux insulaires présentent aussi une large étendue de contextes environnementaux de part la diversité de leur forme, taille, degré d'isolation ou encore de leur contexte climatique. Il est donc a priori plus facile d'étudier l'interaction des différentes forces évolutives dans ces laboratoires naturels (Pianka 1966, Rohde 1992, Hutson 1994, Whittaker 1998, Ritchie & Olf 1999, Colwell & Lees 2000, Ricklefs 2004). Ces milieux sont à l'origine de la théorie de la biogéographie insulaire de Mac Arthur & Wilson (1963, 1967) qui a fourni une base conceptuelle bien au-delà de ces milieux puisqu'elle a influencé de nombreux travaux liés à l'étude de la structure du paysage en milieu continental (les compartiments d'habitats favorables constituant des îles dans une mer d'habitats non favorables).

La seconde raison tient à la particularité de leurs faunes et de leurs flores. A surface équivalente, les régions insulaires renferment généralement moins d'espèces que les régions

continentales. Cependant, cette richesse spécifique inférieure contraste avec la richesse locale d'espèces endémiques, c'est-à-dire le nombre d'espèces présentes uniquement sur certaines îles ou archipels (Whittaker & Fernandez-Palacios 2007). Compte tenu de leur surface, les milieux insulaires contribuent ainsi de manière disproportionnée à la diversité globale (*i.e.* à l'échelle terrestre). Par exemple Madagascar possède plus de 8 000 espèces endémiques, soit le plus grand nombre d'espèces endémiques de l'Afrique sub-saharienne (Myers 1988). Sur les 34 points chauds de biodiversité (*i.e.* hotspots) identifiés à travers le monde, plus de la moitié est constituée par des îles distribuées en archipels (Myers et al. 2000). Par exemple et pour ne citer que cette région du globe, les îles de l'arc caribéen accueilleraient environ 7000 espèces de plantes et 1518 espèces de vertébrés, avec un taux d'endémisme estimé à respectivement 2.3 et 2.9% (Gargomigny 2003).

Ce niveau d'endémisme généralement élevé en milieu insulaire souligne l'originalité des faunes et des flores locales, mais confère également aux pays et territoires respectifs une importante responsabilité vis-à-vis de la préservation de cette biodiversité. Les espèces endémiques montrent une fragilité singulière (*i.e.* un risque d'extinction élevé) en raison de leur abondance généralement faible et de leur distribution géographique restreinte (Pimm 1991, Gaston 1994). Lié en premier lieu à la stochasticité de certains facteurs d'origine naturelle (démographiques, environnementaux, génétiques), le risque d'extinction de ces espèces se combine actuellement à d'autres facteurs ayant une origine anthropique comme la fragmentation des habitats (Beissinger 2000), le changement climatique (Forester & Machlis 1996) ou encore l'introduction d'espèces exotiques (Fritts & Rodda 1998), l'ensemble de ces facteurs ayant potentiellement un impact plus marqué sur les îles en raison d'une pression démographique humaine parfois plus importante (Cincotta et al. 2000).

Dans ce cadre, le Grive à pieds jaunes, *Turdus lherminieri*, semble être un bon modèle aviaire d'étude de la différenciation des populations. En effet, cette espèce est endémique de quatre îles des Petites Antilles : Montserrat, Guadeloupe, Dominique et Sainte-Lucie. Une sous-espèce a été décrite sur chacune de ces îles (Clement & Hathway 2000). Toutefois, il ne semble exister aucune étude ayant réellement quantifié la divergence de ces entités. Par ailleurs, la complexité de certaines îles comme la Guadeloupe pourrait faciliter la mise en place d'une différenciation à l'intérieur même de l'île. Si le sujet de cette thèse revêt un intérêt fondamental pour la compréhension des mécanismes impliqués dans l'origine et la dynamique de la biodiversité, il a également été motivé par des considérations plus appliquées. En effet, les territoires d'Outre-Mer renferment une biodiversité remarquable. On y trouve par exemple 26 fois plus de plantes, 3.5 fois plus de mollusques, 100 fois plus de poissons et 60 fois plus d'oiseaux sur l'ensemble des territoires d'Outre-Mer qu'en métropole (Gargominy 2003). Si ces territoires abritent une richesse spécifique unique, ils sont en même temps caractérisés par de fort taux d'extinction (Whittaker & Fernandez-Palacios 2007). Par exemple, la Guadeloupe hébergerait 74 espèces d'oiseaux nicheurs dont le Pic de la Guadeloupe, endémique de cette île (Villard 1999). Toutefois, trois espèces de Psittacidés se sont éteintes depuis le 18<sup>e</sup> siècle et quatre autres espèces d'oiseaux ont disparu en tant qu'espèces nicheuses (Levesque & Mathurin 2008). En ce qui concerne la Grive à pieds jaunes, un déclin des effectifs a été décrit ces dernières années (Birdlife International), ce qui a conduit à protéger cette espèce dans trois îles sur les quatre occupées. Fait remarquable, cet oiseau est toujours chassé en Guadeloupe malgré son inscription sur les listes de l'UICN en tant qu'espèce vulnérable. Par ailleurs, ce turdidé très forestier voit son habitat être de plus en plus fragmenté en raison d'une urbanisation croissante, notamment en Guadeloupe et à Sainte-Lucie (INSEE 2001, Birdlife International 2010).



Plusieurs objectifs ont donc été dégagés au cours de cette thèse.

*Objectif 1 : Décrire la structure spatiale des populations de Grive à pieds jaunes et en inférer les causes*

Il s'agit de décrire les niveaux de divergence entre populations et de diversité à l'intérieur des populations. Ce travail a été entrepris à deux échelles spatiales : entre les îles et au sein des îles, en fournissant un effort particulier sur l'île de la Guadeloupe en raison de sa complexité (géographique et écologique). Les organismes étant une mosaïque de caractères évoluant de manière plus ou moins indépendante, il est indispensable d'utiliser simultanément plusieurs caractères. Mis à part l'obtention d'une estimation plus globale de la divergence, la description et surtout la comparaison des patrons de variabilité associées à différents caractères permet d'identifier les processus sous-jacents à la divergence mesurée (*e.g.* Bonin et al. 1996, Crnokrak et Merilä 2001). Deux types de caractères ont donc été choisis : les génotypes des individus pour des locus microsatellites, et plusieurs caractères morphologiques. L'utilisation de ces marqueurs génétiques neutres permet d'inférer les processus démographiques à l'origine de la structure des populations. En revanche, les caractères morphologiques utilisés sont non seulement soumis aux mêmes processus démographiques que les marqueurs neutres, mais ils sont aussi potentiellement affectés par la sélection naturelle.

*Objectif 2 : Retracer l'évolution temporelle récente de la diversité génétique des populations de Grive à pieds jaunes*

Si la structure génétique actuelle des populations est influencée par la structure du paysage dans lequel évolue une espèce, elle renferme souvent les signes de l'histoire de ces populations (Paxinos 2002, Beheregay et al. 2003, Chan et al. 2005, Brace et al. 2012). Il

n'est généralement pas possible de collecter des échantillons à des temps relativement éloignés pour inférer cette histoire. Grâce aux avancées techniques récentes (Handt et al. 1994, Hauswirth et al. 1994, Horvath et al. 2005, Haig et al. 2011), les collections présentes dans les musées d'histoire naturelle offrent des potentialités uniques pour essayer de reconstruire cette histoire. Le recours aux spécimens issus de collections est également un moyen de compléter un échantillonnage actuel dans les cas où certaines populations ne peuvent être échantillonnées (Austin & Melville 2006, Fernando et al. 2006). Le second objectif de la thèse était d'appréhender la variation temporelle de la diversité génétique des populations de Grive à pieds jaunes à partir de spécimens vieux d'environ un siècle. Cette variation est à mettre en relation avec la description d'un déclin récent de ces populations.

*Objectif 3 : Déterminer si les parasites peuvent exercer des pressions de sélection contrastées entre les populations de Grive à pieds jaunes*

L'influence de l'environnement sur un organisme ou une population se traduit non seulement par l'effet des facteurs abiotiques mais aussi par les interactions intra- et interspécifiques auxquelles les organismes sont exposés. Il est aujourd'hui clairement établi que les pathogènes influencent l'évolution de leurs hôtes en exerçant sur ces derniers d'importantes pressions de sélection (Poulin 1998, Poulin & Morand 2000, Thomas et al. 2005, Thomas et al. 2007). Ces dernières peuvent modeler la dynamique des populations d'hôtes et leur distribution (Ricklefs 2010) ainsi que leur variabilité génétique (Sorci et al. 1997, Ortega et al. 2007). Plusieurs travaux ont par ailleurs mis en évidence, chez les oiseaux, d'importantes variations spatiales des cortèges parasitaires dans les Petites Antilles (Merilä et al. 1995, Freeman-Gallant et al. 2001, Fallon et al. 2003, Loiseau et al. 2010, Ricklefs et al. 2011). Une attention particulière a été portée sur les parasites responsables de la malaria aviaire (*Plasmodium spp* et *Haemoproteus spp*) car de nombreux travaux ont montré que ces

parasites pouvaient avoir un impact fort sur les populations d'oiseaux (Atkinson et al. 1995, 2000, 2001, Merino et al. 2000).

Après une présentation détaillée du modèle biologique et de la méthodologie générale adoptée au cours de cette thèse (sur le terrain et au laboratoire), chacun des objectifs précédant est développé dans un chapitre distinct. La forme de ces chapitres peut être variable puisqu'ils contiennent des manuscrits dont la rédaction est plus ou moins avancée.

## **Chapitre I**

---

Méthodologie : Du modèle biologique au laboratoire



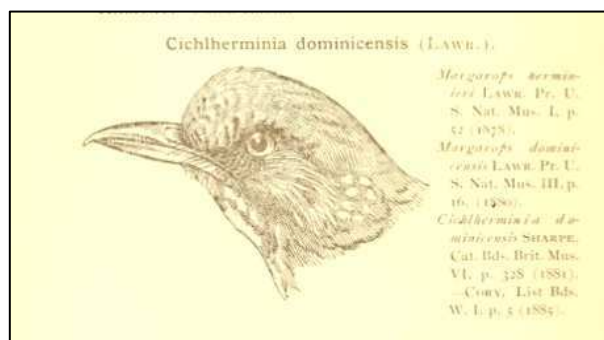
## Chapitre I Méthodologie : Du modèle biologique au laboratoire

### I. La Grive à Pieds Jaunes : un turdidé méconnu

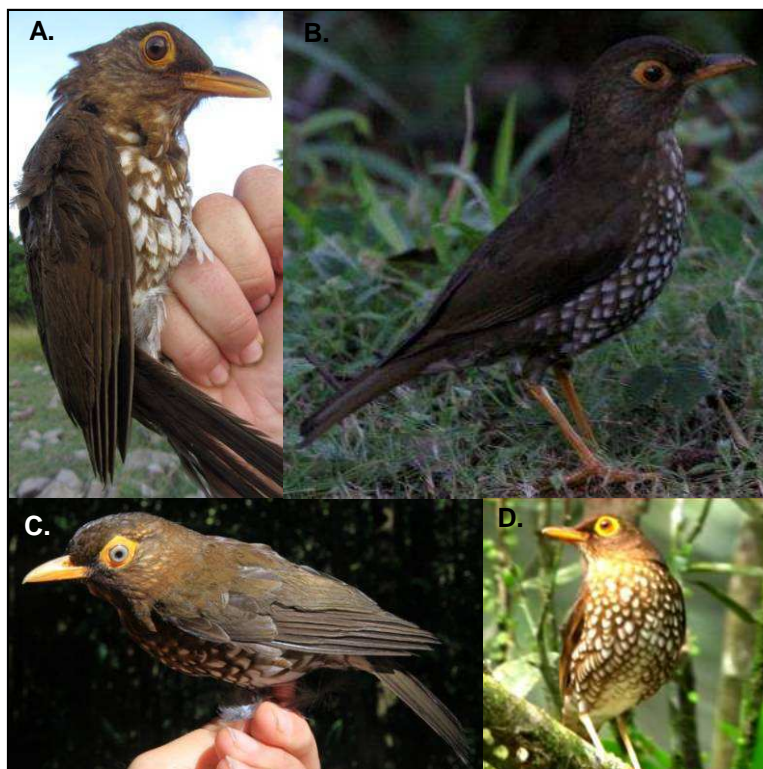
#### I.1. Bref historique de sa découverte

La Grive à pieds jaunes communément appelée la "Grive à pattes jaunes" ou la "Patte Jaune" en Guadeloupe et " Forest thrush" dans les îles anglo-saxonnes est un turdidé endémique des Petites Antilles. Elle a été décrite pour la première fois par F. L'Herminier, entre 1827 et 1844 dans son catalogue des oiseaux observés en Guadeloupe, et nommée *Turdus L'Herminieri* (Lawrence 1879). Sa classification au sein des grands turdidés a été modifiée de multiples fois puisqu'on lui a donné successivement les noms de *Cichlherminia herminieri* (Bonaparte 1854), *Margarops herminieri* (Lawrence 1879), *Cichlherminia lherminieri* (Lafresnaye, 1844), puis de nouveau *Turdus lherminieri* (Voelker et al. 2007). Cet oiseau, abondant sur l'île de la Guadeloupe, aurait aussi été identifié en Martinique dans les années 70, bien qu'il soit non référencé de nos jours sur cette île. Dans les années 1870, F.A. Ober, naturaliste américain, poursuit la collecte des oiseaux amorcés par F. L'herminieri pendant un périple de deux ans dans les Petites Antilles. Il découvre

alors sur l'île de la Dominique un oiseau ressemblant à celui décrit en Guadeloupe. Après la description de cet oiseau collecté sur l'île de la Dominique (Fig. 1), il met en avant des différences de coloration du plumage



**Figure 1.** Dessin d'une tête de Grive à Pieds Jaunes de la Dominique, *Cichlherminia dominicensis* fait par Lawrence en 1879. Extrait de *The Auk* 1886.



**Figure 2.** Photographie des quatre sous-espèces de Grives à Pieds Jaunes du Nord au Sud des Petites Antilles. **A.** *Turdus Iherminieri lawrencii* sur Montserrat **B.** *Turdus Iherminieri Iherminieri* sur la Guadeloupe (Photo Anthony Lévesques), **C.** *Turdus Iherminieri dominicensis* sur l'île de la Dominique, **D.** *Turdus Iherminieri sanctae luciae* sur Sainte-Lucie (Photo extraite de l'IAS mag).

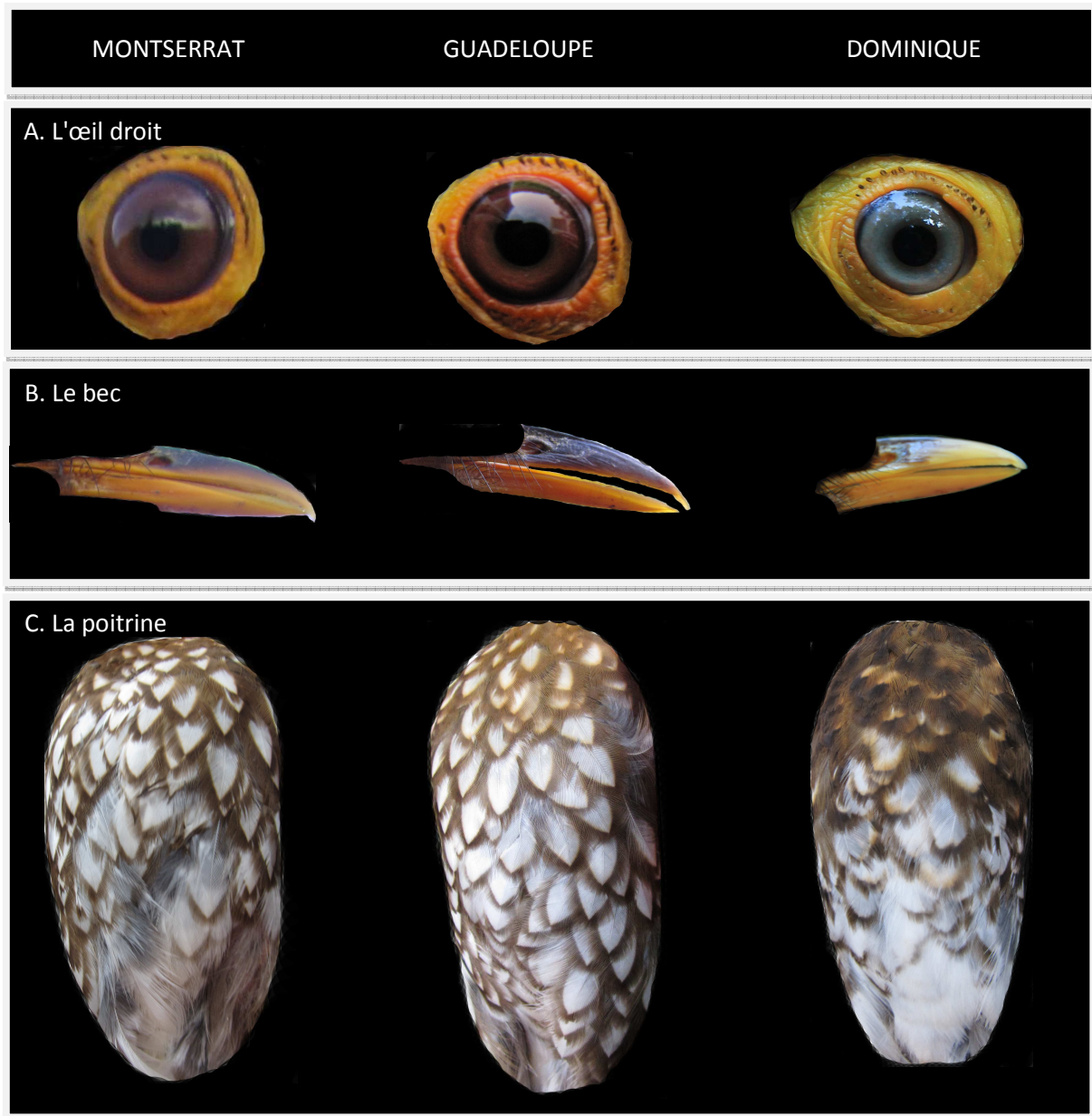
(Lawrence 1879, Sclater 1880) et considère qu'il s'agit d'une autre espèce nommée *Cichlherminia dominicensis*, puis *Margarops dominicensis* (Lawrence 1879). P.L. Sclater et le révérend J. Semper décrivent les oiseaux de l'île de Sainte-Lucie en 1871 grâce à quelques spécimens donnés au Museum d'Histoire Naturelle à Paris par Bonnencourt et à des planches de dessins réalisées par le Lieutenant Tyler. Sclater (1880) décrit alors la Grive à Pieds Jaunes de Sainte-Lucie, *Margarops Sanctae Luciae* comme légèrement différente de celle de la Guadeloupe. Enfin, Cory (1891) décrit à Montserrat un oiseau semblable à celui de Guadeloupe, bien que plus coloré. Après discussion avec L'Herminier, une nouvelle sous-espèce a été décrite sous le nom de *Cichlherminia lawrencii*. A ce jour, la Grive à pieds jaunes, *Turdus Iherminieri* est une espèce endémique de quatre îles des Petites Antilles : Guadeloupe, Montserrat, Sainte-Lucie et la Dominique. Une sous-espèce a été définie sur chacune des îles selon des critères morphologiques ainsi que de coloration du plumage

(Clement & Hathway 2000, Fig.2) : *Turdus lherminieri lherminieri* en Guadeloupe, *Turdus lherminieri lawrencii* à Montserrat, *Turdus lherminieri dominicensis* à la Dominique et *Turdus lherminieri sanctaeluciae* à Sainte-Lucie.

## I.2. Description

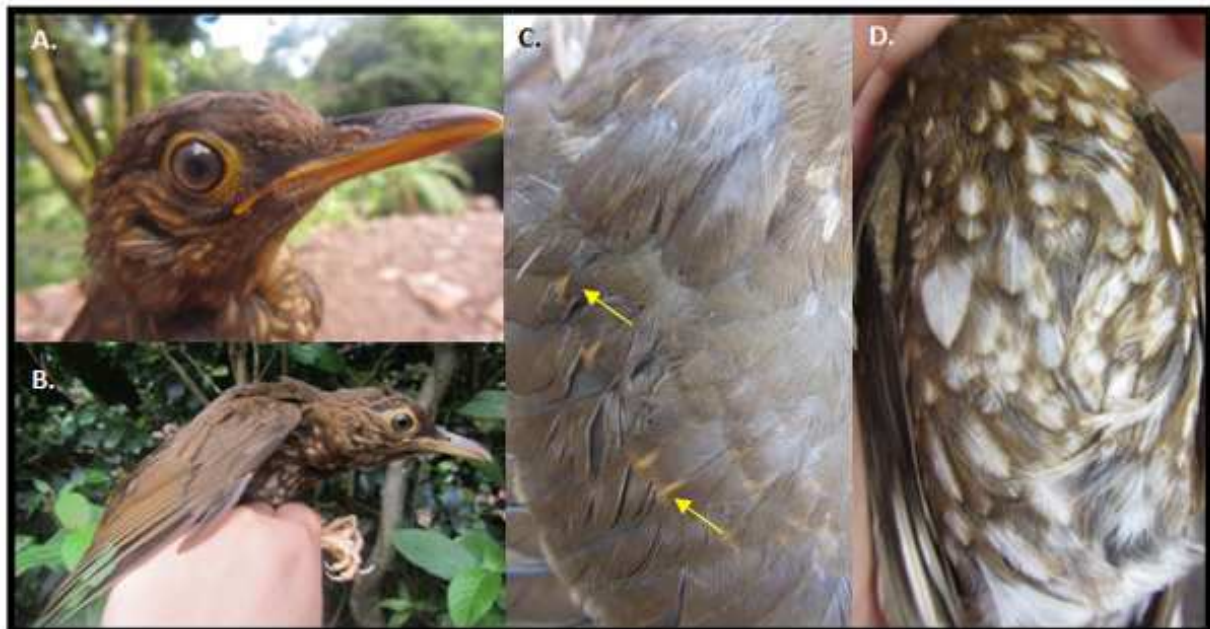
La description des caractères morphologiques de cet oiseau est issue des études naturalistes des 200 dernières années (Gray 1844, Lafresnaye 1844, Sharpe 1854, Gray 1869, Semper 1872, Lawrence 1879, Allen 1880, Sclater 1880, Sharpe 1881, Cory 1891, Clement & Hathway 2000, Bénito-Espinal & Hautcastel 2003a). La Grive à pieds jaunes est un oiseau d'environ 24 à 27 cm de long qui ne présente pas de dimorphisme sexuel. La taille des oiseaux est variable entre les îles (Montserrat 25 cm, Guadeloupe 24 cm, Dominique 22 cm, Ste Lucie 22.5 cm) et les morphes sont également plus ou moins colorés. Le dos est marron olivâtre, la poitrine est un mélange de coloration blanche, beige et brune d'apparence écailleuse et l'abdomen est plus ou moins blanc selon les îles (Fig. 3). Sur l'île de la Dominique, l'oiseau est cependant plus foncé avec un large patch blanc au niveau de l'abdomen, et des écailles plus petites et moins contrastées qu'en Guadeloupe et à Montserrat (Fig. 3C). Les ailes et la queue sont brunes, et les pattes et le pourtour de l'œil sont jaunes. Le bec présente une mandibule supérieure brune et une mandibule inférieure jaune sauf à la Dominique où il est entièrement jaune (Fig. 3B). L'iris des oiseaux est marron clair en Guadeloupe et à Montserrat, de gris à gris bleuté à la Dominique et vert sombre à Sainte-Lucie (Fig. 3A).



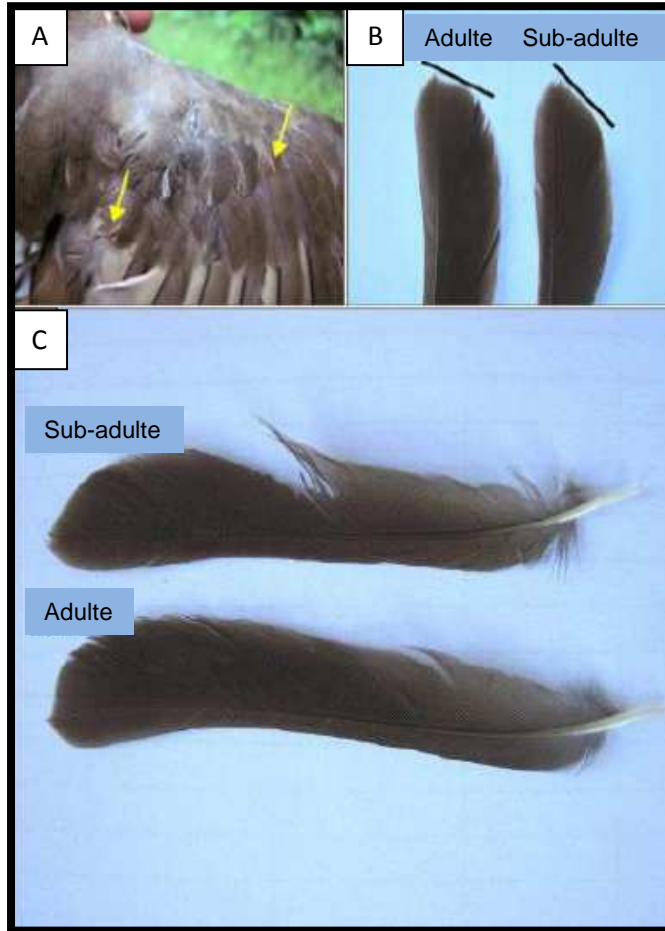


**Figure 3.** Photographies représentant des critères morphologiques permettant la différenciation des sous-espèces entre les îles. De gauche à droite: Montserrat, la Guadeloupe et la Dominique. **A.** L'oeil droit. Les individus de la Dominique ont les yeux gris-bleuté alors que ceux de la Guadeloupe et de Montserrat ont les yeux marrons plus ou moins clairs. **B.** La coloration du bec. Les oiseaux de la Dominique ont les deux mandibules du bec jaunes alors que les oiseaux de la Guadeloupe et de Montserrat ont la mandibule supérieure brune et le bout jaune et la mandibule inférieure jaune. La couleur jaune peut être plus ou moins intense. **C.** La forme et la couleur des écailles sur la poitrine. Les individus de la Dominique ont la zone basse de la poitrine très blanche. Les écailles marron sont très sombres et pas très bien démarquées. Les individus de la Guadeloupe ont la poitrine couverte de motifs à écailles homogènes avec des plumes blanches en leur centre et marron sur le pourtour. La gorge est légèrement plus rousse. Les oiseaux de Montserrat ont le même patron écaillé que ceux de la Guadeloupe à la différence près que le bas du ventre est blanc.

Comme chez les autres turdidés, les juvéniles présentent des taches rousses sur le plumage au niveau de la tête et des plumes de couverture, et les écailles sur la poitrine sont déjà bien délimitées (Fig 4.). Par ailleurs, un examen attentif du plumage des oiseaux capturés et en se référant à des clichés du plumage d'oiseaux d'âge certain (*i.e.* individu en plumage juvénile *versus* individu adulte arborant une plaque incubatrice), nous avons identifié deux critères de distinction entre oiseaux adultes (>1 an) et oiseaux sub-adultes (<1an). Ces critères sont (i) la présence d'une tache apicale de couleur chamois sur certaines couvertures des ailes (Fig. 5A), (ii) la forme des rectrices externes (Fig. 5B).



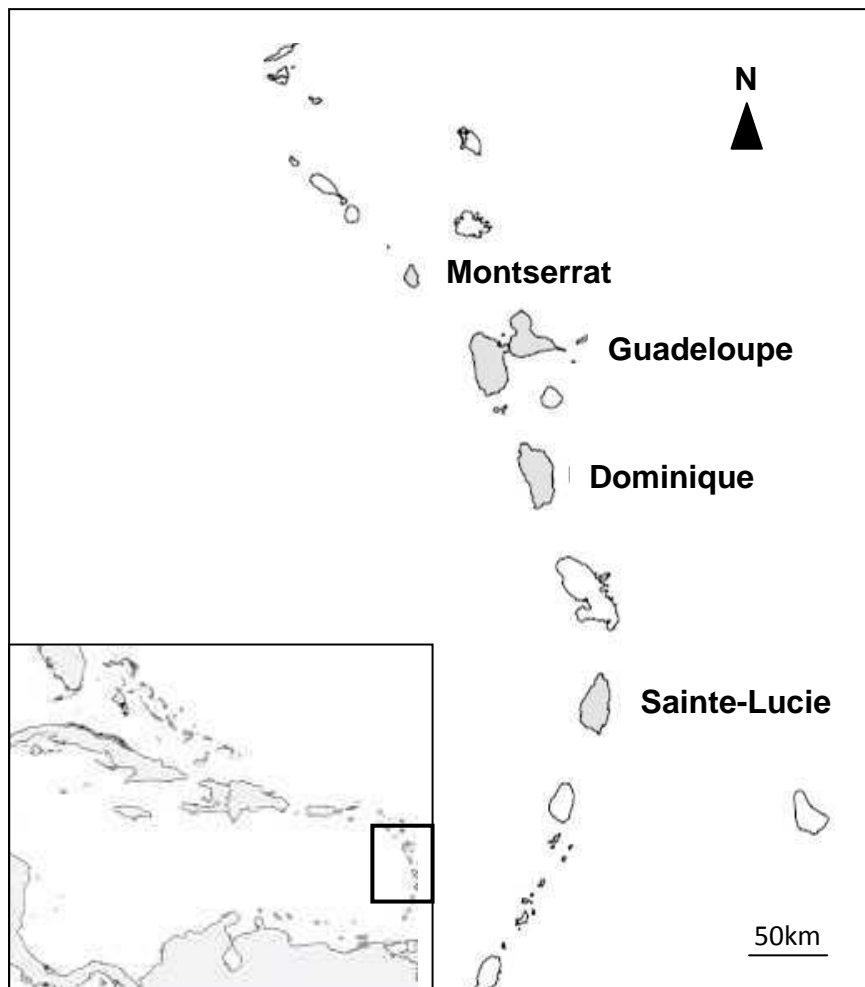
**Figure 4.** Photographie de deux Grives à Pieds jaunes juvéniles sur Montserrat à Woodlands. **C.** Pointillés roux présents sur les couvertures représentés par les flèches jaunes. **D.** Structure des écailles sur la poitrine.



**Figure 5.** A. Présence de taches apicales de couleur chamois sur les couvertures de l'aile d'un oiseau sub-adulte. ces taches correspondent à un reliquat de plumage de type juvénile. B., C. La forme des rectrices externes permettraient de distinguer les oiseaux adultes des oiseaux sub-adultes, à l'image des critères utilisés sur d'autres représentants de la famille des Turdidae en Europe. En particulier, l'angle formé entre le bord de la plume et l'axe du rachis serait plus prononcé chez les oiseaux sub-adultes (B).

### I.3. Distribution géographique et habitat

La Grive à pieds jaunes est un oiseau endémique des Petites Antilles présent sur Montserrat, la Guadeloupe, la Dominique et Sainte-Lucie (Fig. 6). Sa présence en Martinique est assez controversée avec des observations de l'oiseau dans les années 1840 par L'herminier, un spécimen potentiellement collecté par Ridgway au 19<sup>ème</sup> siècle mais dont l'origine est incertaine, et enfin des écrits du Père Pinchon qui affirment l'absence de l'oiseau sur la Martinique (Fig. 7, Pinchon 1976).



**Figure 6.**

Carte représentant l'arc des Petites Antilles. La Grive à pieds jaunes, *Turdus Iherminieri* est distribuée sur Montserrat, la Guadeloupe, la Dominique et Sainte-Lucie représentée en gris sur la carte. L'encadré représente la position des Petites Antilles par rapport à l'Amérique du Sud.



**Figure 7.** Photos du Père Pinchon, (1913-1980), professeur de sciences naturelles et membre de la communauté des Pères du Saint-Esprit. Il a été fervent naturaliste et a permis d'identifier 219 espèces d'oiseaux en Martinique et Guadeloupe.



En Guadeloupe, elle est largement représentée sur la Basse-Terre, zone naturelle dont une partie renferme le Parc National de la Guadeloupe. Elle se trouve également sur la frange littorale nord-ouest de Grande-Terre et également dans le secteur des Grands Fonds, zone composée de mornes forestiers au sud-ouest de Grande Terre. A Montserrat, sa distribution est restreinte aux zones forestières du nord depuis l'éruption volcanique qui a détruit les deux tiers sud de l'île. Un îlot de forêts résiduelles au sud de l'île renferme peut-être encore cet oiseau. A la Dominique, l'oiseau est présent dans l'intégralité de la forêt centrale de l'île avec des densités variables. Le cas de Sainte-Lucie est plus discuté avec une potentielle présence sur une zone de l'île, mais l'oiseau n'a plus été détecté depuis 2009.

La Grive à pieds jaunes vit principalement en forêts ombrophiles et sempervirentes sur une large gamme d'altitudes allant de 120 m à 900 m. Elle peut également se rencontrer dans des plantations, parfois en forêts sèches, ainsi que dans la mangrove et les forêts marécageuses.

#### I.4. Biologie de l'espèce

##### a. Généralités et comportement

La grive fréquente les sous-bois où elle se nourrit d'invertébrés (Fig. 8). Elle utilise cette strate principalement le matin au lever du soleil et en fin de journée. Elle se nourrit également de baies présentes dans les arbres à toutes heures de la journée. Même dans des zones à forte densité, elle reste discrète et difficile à observer, hormis en tout début de journée dans les secteurs plus ouverts. Son



**Figure 8.** Grives à Pieds Jaunes de Guadeloupe, *Turdus lherminieri lherminieri* à la recherche de nourriture. Photo d'Anthony Levesque.

chant caractéristique et très sonore, fluté et mélodieux la distingue des autres oiseaux forestiers et permet de la repérer.

### b. Reproduction

La période de reproduction semble débuter en février et se terminer en août (Bénito-Espinal & Hautcastel 2003a, 2003b, 2007, Raffaele et al. 2006). Le nid est composé de feuilles sèches, de brindilles et de mousse. Il est placé de 3 à 10 mètres de hauteur, au sommet des fougères arborescentes, à l'enfourchure de grands arbres, ou encore sur des épiphytes. Le nid est assez massif ; il peut atteindre 21 cm de hauteur. La ponte est composée de 2 à 3 œufs d'une couleur vert-bleuté (Fig. 9A). L'incubation d'une durée approximative de deux semaines serait assurée

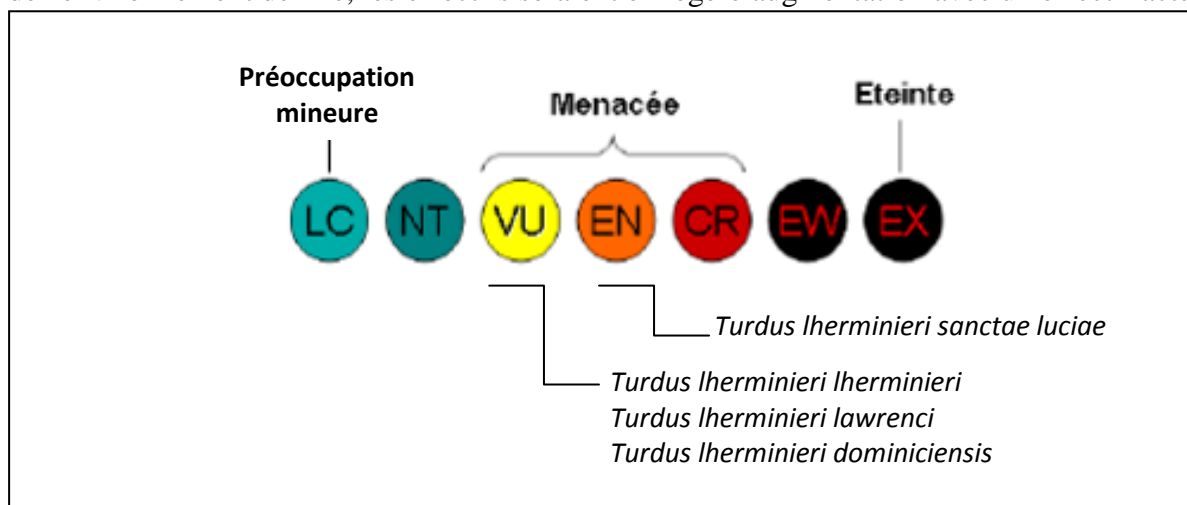


**Figure 9.** Différentes étapes de la reproduction chez la Grive à Pieds Jaunes en Guadeloupe. **A.** Nid avec deux œufs de couleur vert-bleuté. **B.** Femelle en train de couvrir **C.** Nid avec un œuf et un poussin d'un jour. **D.** Nid avec 3 poussins de quelques jours et dans l'encadré, 2 poussins âgés d'environ 13 jours. Photos B et C prises par Anthony Levesque ; Photos A et D extraites du livre de E. Bénito-Espinal & P. Hautcastel.

par le mâle et la femelle du fait de la présence d'une plaque incubatrice chez les deux sexes (Fig. 9B). Les poussins séjournent 16-17 jours au nid (Fig. 9C&D). L'émancipation intervient quelques jours après l'envol. Il est fréquent de voir chez cette espèce une deuxième ponte dans l'année. Elle ne construit pas un nouveau nid mais réaménage celui qu'elle a utilisé pour sa première nichée (Bénito-Espinal & Hautcastel, 2003b).

### 1.5 Le statut de cette espèce

La Grive à pieds jaunes est inscrite comme espèce "vulnérable" sur la liste rouge établie par l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN, Fig. 10). Depuis 2010, la sous-espèce de Sainte-Lucie est classée comme "menacée". En effet, il semble que la grive ait été abondante au 19<sup>ème</sup> siècle sur l'île de Sainte-Lucie (Semper 1872 cité dans Keith 1997, p105, John 2007 in Birdlife International). Les effectifs de la population actuelle sont inconnus mais l'observation de cet oiseau devient exceptionnelle. Cinq observations seulement ont été reportées ces dernières années avant 2009 (John 2009, Dornelly 2007 in Birdlife International). Montserrat était supposé renfermer la plus grande population de Grives à pieds jaunes avant l'éruption de la Soufrière en 1995 qui décima 60% des populations animales. D'après des points d'écoute réalisés de 1997 à 1999 par le département de l'environnement de l'île, les effectifs seraient en légère augmentation avec un effectif actuel



**Figure 10.** Statut UICN des différentes sous-espèces de Grives à Pieds Jaunes. Source: Birdlife International (2012)

estimé à 3000 oiseaux (Arendt et al. 1999, Hilton 2000, Hilton 2007, Gray 2011 in Birdlife International). En 2011, la grive est facilement observable et abondante dans l'intégralité de la forêt humide restante (observations personnelles). En ce qui concerne la Dominique, elle semble globalement présente à de faibles effectifs (Arlington 2007 in Birdlife International), même si les densités peuvent être localement élevées. Pour finir, la Guadeloupe renferme la majeure partie de la population de grives principalement sur la Basse-Terre où les effectifs sont mentionnés comme stables (Villard 2007). La Grande-Terre héberge une petite partie de la sous-espèce guadeloupéenne et les effectifs semblent fléchir ces dernières années (Feldmann 1998, Levesque & Ibene 2007 in Birdlife International). La Grive à pieds jaunes devrait recevoir une attention particulière ces prochaines années pour suivre l'évolution de ses effectifs sur chacune des îles.

### **I.6. Les menaces**

Bien qu'elle ait aujourd'hui un statut vulnérable et protégé sur trois îles, la Grive à pieds jaunes reste encore chassée en Guadeloupe. Elle était auparavant chassée sur les autres territoires également, victime de ses qualités gustatives (Ober, 1895, parlait de "la chair la plus tendre et la plus délicate"). Elle fut la cible de nombreux chasseurs et braconniers qui la commercialisaient (Ober 1878). Cette forte pression sur les populations n'a pas amélioré les effectifs. La chasse a été interdite en 1980 à Sainte-Lucie (Federal Register, 2010). En Guadeloupe, la réglementation autorise aujourd'hui le prélèvement de 2 grives par jour par chasseur, avec 3 jours de chasse par semaine, sur une période de trois mois. La chasse est autorisée uniquement en Basse-Terre hors des limites du Parc National (Arrêté préfectoral n°2012-746). La deuxième menace est la destruction et la modification de son habitat originel. Sur ces îles de nombreuses campagnes de déforestation ont eu lieu afin de transformer les forêts en zones cultivables plus rentables notamment avec la plantation de



bananiers (Worldbank, 2005 in Federal Register 2010), ou en espaces bâtis (Dornelly 2007, John 2009 in Federal Register 2010). L'importance de la propriété forestière privée contrarie la mise en place de mesures de conservation des forêts sur de nombreux secteurs. Comme beaucoup d'espèces endémiques la Grive à pieds jaunes semble particulièrement sensible aux modifications de son habitat (Pimm 1991). D'ailleurs, les densités les plus élevées de grives sont principalement observées dans les secteurs forestiers les plus préservés.

Enfin, la Grive à pieds jaunes serait aussi touchée par la prédation avec la mangouste, et la compétition inter-spécifique avec le vacher luisant et plus récemment le merle à lunettes. La mangouste, animal introduit sur les îles pour exterminer les rats, s'est établie et a proliféré rapidement. Elle s'attaquerait aux oiseaux lors de leurs excursions au sol et il semblerait qu'elle soit responsable d'un déclin des populations même si son réel impact est difficile à estimer (Raffaele et al. 1998). La Grive à pieds jaunes serait aussi sujette au parasitisme de ponte par le vacher luisant, *Molothrus bonariensis* à Sainte-Lucie (Raffaele et al. 1998) ce qui réduirait le succès reproducteur. Enfin, le merle à lunettes, *Turdus nudigenis*, oiseau venu d'Amérique du Sud colonise progressivement les Petites Antilles depuis la première moitié du 20<sup>ème</sup> siècle, et est considéré comme un compétiteur vis-à-vis de la Grive à pieds jaunes. Il est mentionné comme une cause potentielle de régression de la grive à Sainte-Lucie (Raffaele et al. 1998). Comme pour les autres interactions interspécifiques, l'influence du Merle à lunettes mérite de plus amples investigations pour tirer des conclusions plus définitives.

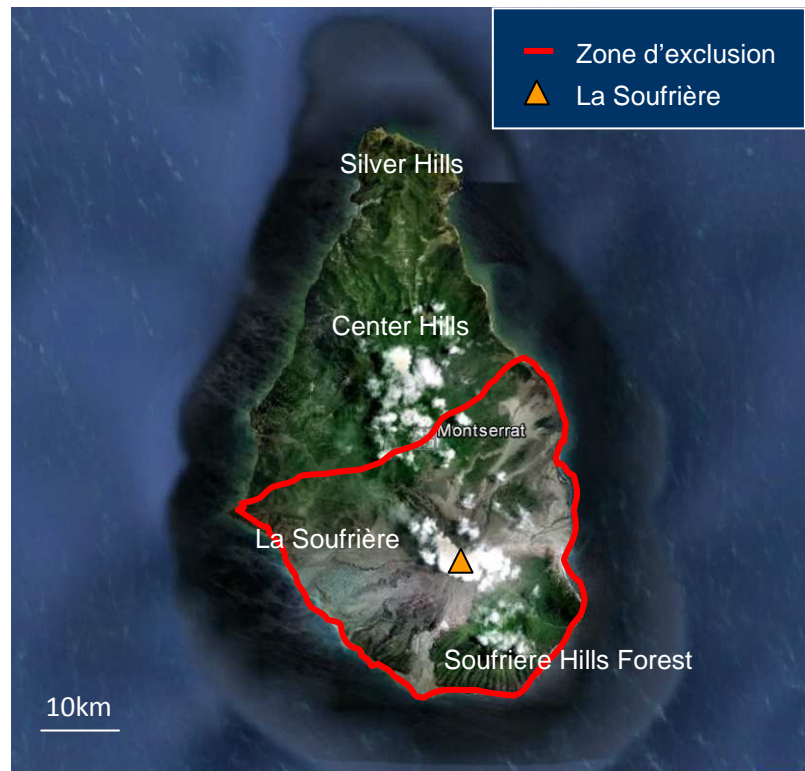
## **II. Récolte des données**

### **II.1. Les îles échantillonnées**

#### **a. Montserrat**

Montserrat (M) est une île volcanique de 102 km<sup>2</sup> au nord des Petites Antilles dépendante du Royaume-Uni (Holiday 2009, Fig.11). Son relief est le reflet d'une forte activité volcanique.

L'île possède trois points culminants importants avec au nord deux sommets de 403 et 741 Soufrière, culminant actuellement à 1127 m. Le climat est de type tropical humide avec des variations saisonnières dans les précipitations. Elles abondent entre juillet et décembre avec des cumuls annuels allant de 1075 mm sur la côte jusqu'à 2000mm dans les zones montagneuses. La température fluctue peu dans l'année avec une moyenne



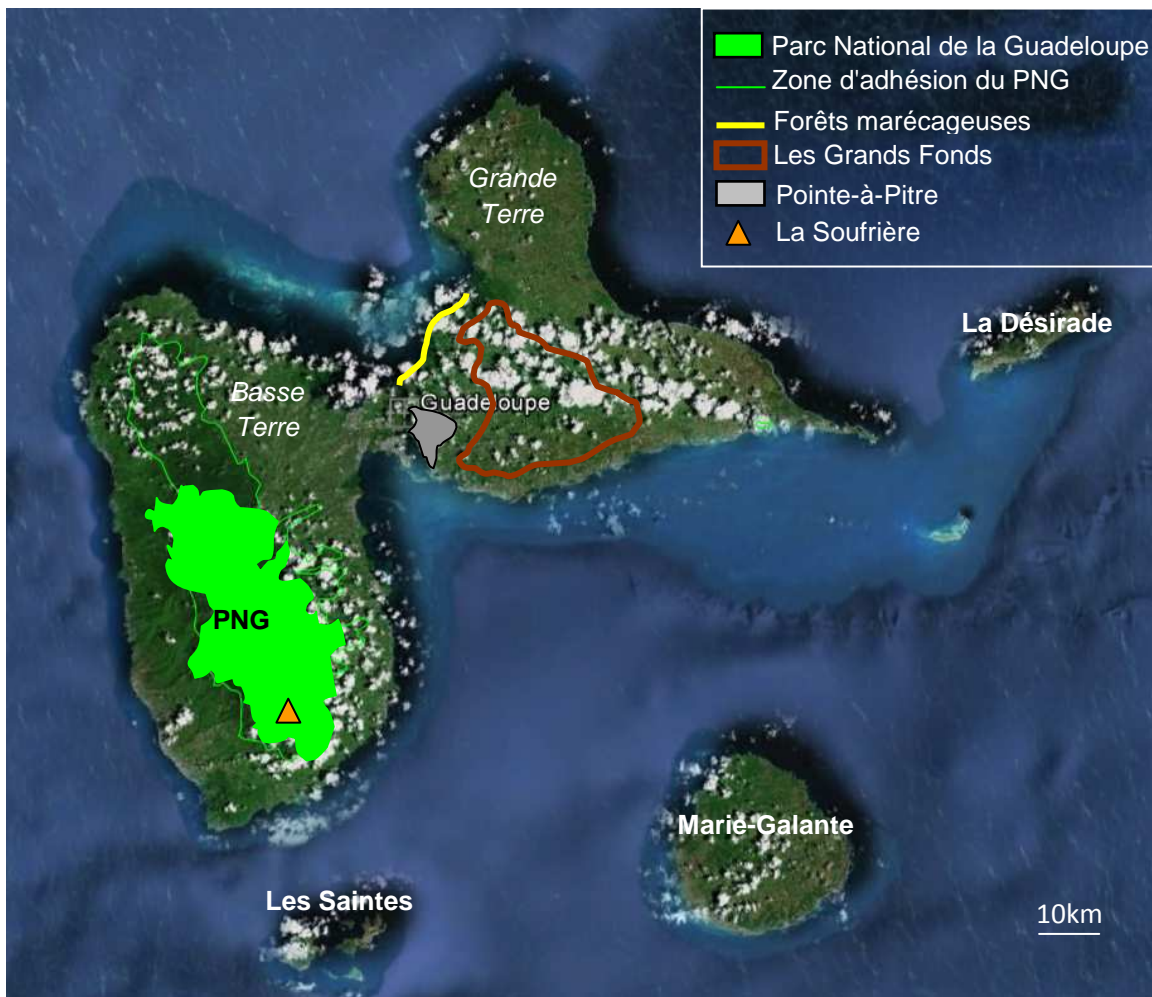
**Figure 11.** Carte de Montserrat vue par satellite extraite de Google Earth. Les 3 majeures zones forestières de l'île sont Silver Hills, Center Hills et Soufrière Hills. Le volcan de la Soufrière se trouve au sud de l'île dans la zone d'exclusion mentionnée par un contour rouge.

mensuelle variant de 23 à 28°C. L'histoire récente de l'île est dominée par les éruptions volcaniques de la Soufrière de 1995 à 2008 qui ont dévasté les deux tiers sud de l'île, par des dépôts de cendre et des coulées de boue. Une petite aire au sud-est de l'île a été épargnée et la forêt humide de la montagne de la Soufrière (Soufrière Hill's rainforest) reste intacte. Après cet événement, le secteur de Center Hills, au nord, reste à présent la plus grande zone de forêt préservée de l'île.

D'autres espèces que la Grive à pieds jaune impliquent des enjeux en termes de conservation. Il s'agit d'abord de l'oriole de Montserrat (*Icterus oberi*) pour les oiseaux, de trois espèces de reptiles (*Ameiva pluvianotata*, *Anolis lividus*, *Diploglossus montisserrati*), et d'une espèce d'amphibien, le Crapaud de la Dominique (*Leptodactylus fallax*). Chez les plantes on peut noter une Rubiaceae, *Rondeletia buxifolia* en situation critique actuellement.

### b. La Guadeloupe

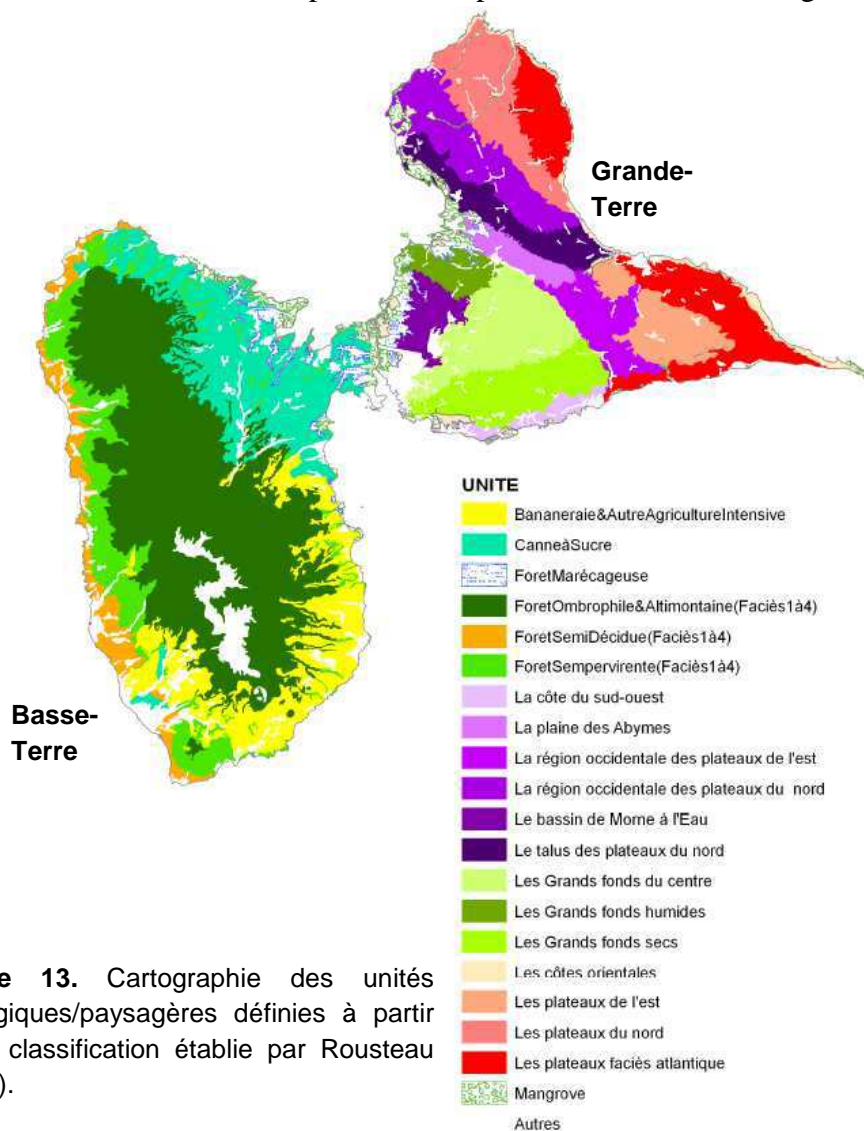
La Guadeloupe comprend deux entités principales : la Grande-terre (GT) et la Basse-Terre (BT). La Basse-Terre, la plus grande des entités a une superficie de 848 km<sup>2</sup> et la Grande-Terre de 585 km<sup>2</sup>. Ces deux entités sont séparées par un très étroit bras de mer, la Rivière salée. Pointe-à-Pitre, la principale ville de la Guadeloupe est située quasiment à la jonction entre Basse-Terre et Grande-Terre (Fig. 12). La Basse-Terre quant-à elle referme le Parc National avec une zone d'adhésion de 940km<sup>2</sup> et un cœur de parc de 380km<sup>2</sup>. Trois îles secondaires appartiennent également à la Guadeloupe : La Désirade, Marie-Galante et les Saintes.



**Figure 12.** Photo satellite de la Guadeloupe extraite de Google Earth. La Basse-Terre, la zone la plus montagneuse et forestière est couverte en majorité par le Parc National de la Guadeloupe (PNG) mentionné par la zone en vert clair. La Grande-Terre héberge la plus grande ville, Pointe-à-Pitre, zone grisée près de l'isthme. Elle est bordée sur sa côte nord-ouest par une bande de forêts marécageuses. Au cœur de la Grande-Terre se trouve la zone des Grands Fonds composés de mornes forestiers et d'élevage et cultures dans ses vallons.

Le climat de l'île est contrasté entre Basse-Terre et Grande-Terre. L'hygrométrie de 85%, la pluviométrie annuelle entre 5000 et 12000mm ainsi que la température annuelle de 26°C représentent les paramètres climatiques de la Basse-Terre. La Grande-Terre, quant-à-elle, a une hygrométrie de 60% en moyenne, une température de 26°C également et une pluviométrie comprise entre 2000 à 5000mm annuelle.

Rousteau (1996) a illustré les différentes unités écologiques de la Guadeloupe (Fig. 13). La Grande-Terre possède un relief beaucoup plus plat que la Basse-Terre. Le milieu est propice aux grandes cultures notamment aux champs de canne à sucre. Les côtes sont par endroit escarpées avec des falaises abruptes ou composées de forêts marécageuses, ou encore de



**Figure 13.** Cartographie des unités écologiques/paysagères définies à partir de la classification établie par Rousteau (1996).

plages de sable. Une microrégion, peu fréquentée, au cœur de la Grande-terre forme un labyrinthe de mornes cultivées et forestiers avec des vallées encaissées que l'on nomme les Grands Fonds (Fig. 12 délimitation marron, Fig.13 en vert clair). Basse-Terre constitue la partie montagneuse, boisée et volcanique de l'île. La forêt couvre les trois quarts de la Basse-Terre incluant le Parc National. Sur les versants, la forêt cède la place à des vergers, bananeraies ou plantations de cafés. Sur Basse-Terre, la forêt est largement représentée et est structurée en strates en fonction de l'altitude (Fig. 14 D,E,F). La forêt mésophile est distribuée jusqu'à 500m d'altitude et on la retrouve principalement sur les contours du Parc national. 80% du cœur du Parc est constituée par de la forêt humide (jusqu'à 1000m d'altitude) présentant des arbres de 30 à 35m de haut comme des gommiers (*Dacryodes excelsa*), des châtaigniers (*Slonea massonii*) ainsi que des strates herbacées et un enchevêtrement de lianes, plantes épiphytes suspendues dans les arbres. Au dessus de 1000m d'altitude, la végétation devient moins luxuriante et ressemble à une savane due la plupart du temps à des vents violents et un excès d'humidité. Sur Grande-Terre, les Grands Fonds sont recouverts d'une forêt xéro-mésophile constituée d'arbres à feuilles caduques comme le gommier rouge (*Bursera simaruba*) et d'arbres de forêts mésophiles comme décrits ci-dessus (Fig. 14C). Au niveau de l'isthme de la Rivière salée, la Grande-Terre est bordée par des mangroves constituées de palétuviers rouges (*Rhizophora mangle*). A l'intérieur des terres, la forêt marécageuse fait suite à la mangrove et est majoritairement formée d'arbres à feuilles caduques et de mangles médaille (*Pterocarpus officinalis*). Ces zones forestières sont inondées en période des pluies (Fig. 14A&B).





**Figure 14.** Photographies de certains types forestiers en Guadeloupe. **A.** Forêts marécageuses de l'Alliance (GT3), **B.** Bordure de forêts marécageuses à Petit-Canal (GT1), **C.** Zone des Grands-Fonds avec dans les vallées, la pâture et sur les mornes la forêt (GT4), **D.** Forêts tropicales humides dans le PNG à Grand-Etang (BT7), **E.** Forêts tropicales humides au sein du Parc de la Valombreuse (BT4), **F.** Forêts tropicales humides à Routhiers (BT6).

La Guadeloupe a la chance d'abriter un oiseau endémique strict, le pic de la Guadeloupe. De plus, la forêt héberge une diversité notable, notamment au niveau du Parc National. Par

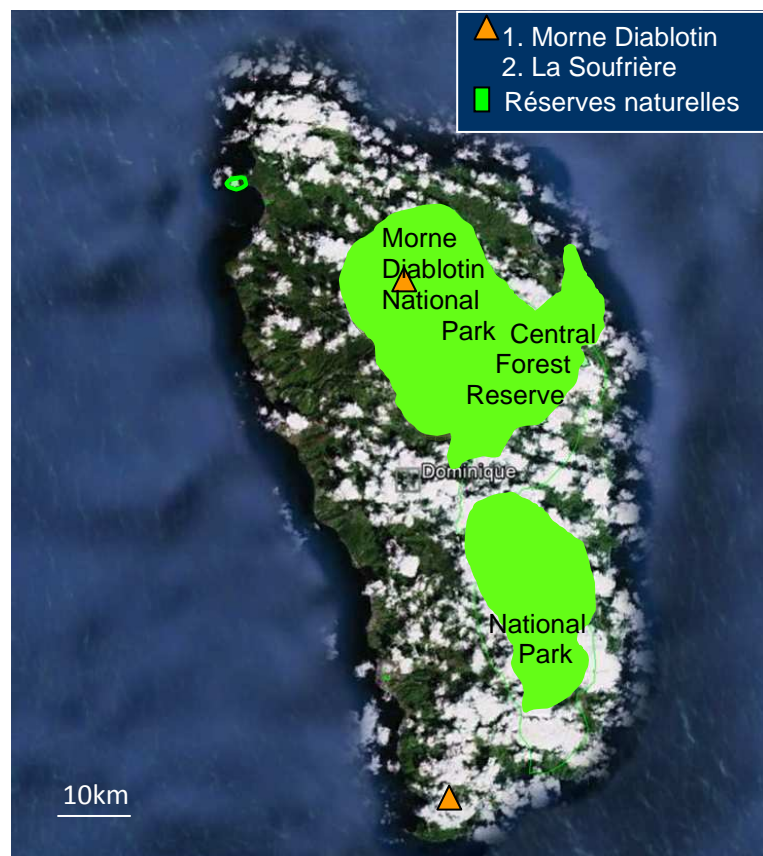


exemple, 30 espèces d'oiseaux terrestres y sont mentionnées. L'accroissement de la population et l'urbanisation qui lui est associée, l'augmentation des surfaces agricoles et l'activité du tourisme ont largement contribué à altérer les richesses biologiques de l'île. La forêt n'est donc bien présente que dans les secteurs protégés de Basse-Terre (forêt pluviale essentiellement) et sous forme plus ou moins discontinue dans les Grands-Fonds et sur certains secteurs littoraux à l'état de forêt marécageuses.

### c. La Dominique

La Dominique (D) est une île indépendante (Commonwealth of Dominica) localisée entre la Guadeloupe et la Martinique d'une superficie de 754 km<sup>2</sup> pour 72514 habitants (Fig.15). L'île est la plus vallonnée des Petites Antilles et est constituée de nombreux pitons liés à une activité volcanique dont le point Diablotin à 1447m.

Son régime de précipitations et son relief valent à la Dominique le réseau hydrologique le plus développé des Petites Antilles avec 365 rivières et 30 chutes d'eau. En effet, la Dominique reçoit entre 300 et 7000mm d'eau par an en fonction de l'altitude et de la saison et une température moyenne entre 19 et 23°C (Smith et al. 2009).



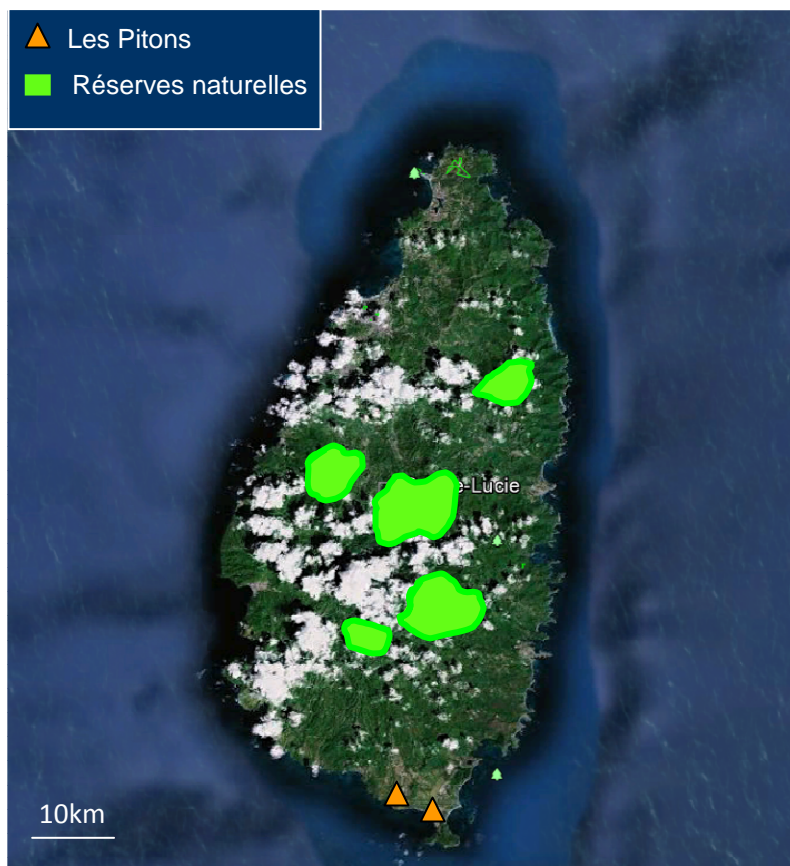
**Figure 15.** Photographie satellite de la Dominique extraite à partir de Google Earth. L'île renferme de nombreuses réserves naturelles mentionnées par des zones vertes. Son volcan la Soufrière est situé au sud de l'île. Au Nord, Morne Diablotin est le plus haut sommet de l'île.

Sa nature est richement préservée avec la quasi totalité de l'île recouverte par des forêts tropicales encore assez "intègres". Les forêts sont réparties dans 6 parcs nationaux dont un classé par l'UNESCO. Elle renferme une biodiversité assez remarquable avec quelques espèces emblématiques comme l'Amazone impérial *Amazona imperialis* et l'Amazone de bouquet *Amazona arausiaca*. Les pressions d'origine anthropiques restent encore assez "faibles" et bons nombres de milieux naturels sont encore préservés.

#### d. Sainte-Lucie

Sainte-Lucie (L) est située au sud de la Martinique, d'une superficie de 620 km<sup>2</sup> pour une faible activité volcanique. Son relief est très accidenté dans sa moitié sud avec le Mont Gimie à 950m d'altitude et les deux Pitons. La température et les précipitations annuelles sont de 28°C et de 1300mm en moyenne.

Le centre et le sud de l'île sont formés par de vastes forêts tropicales dont la majeure partie est en réserves naturelles. L'île est souvent la cible de cyclones et de tempêtes tropicales qui modifient grandement le paysage notamment avec des glissements de terrain importants. L'île renferme une biodiversité remarquable avec chez les oiseaux, l'oriole de



**Figure 16.** Photographie satellite de Sainte-Lucie extraite de Google Earth. L'île est très escarpée dans sa partie sud avec la présence des deux pitons et du Mont Gimie. Quelques réserves naturelles sont représentées en vert.



Sainte-Lucie (*Icterus laudabilis*), ou l'amazone de Sainte-Lucie (*Amazona versicolor*) et aussi une espèce de lézard endémique, le lézard de Sainte-Lucie (*Cnemido phorusvanzo*). Les modifications environnementales sur cette île notamment par des pressions d'origine anthropique ne sont pas négligeables du fait d'un fort développement du tourisme. L'introduction d'espèces invasives comme l'iguane ou la mangouste par exemple compromet la survie de certaines espèces sur l'île.

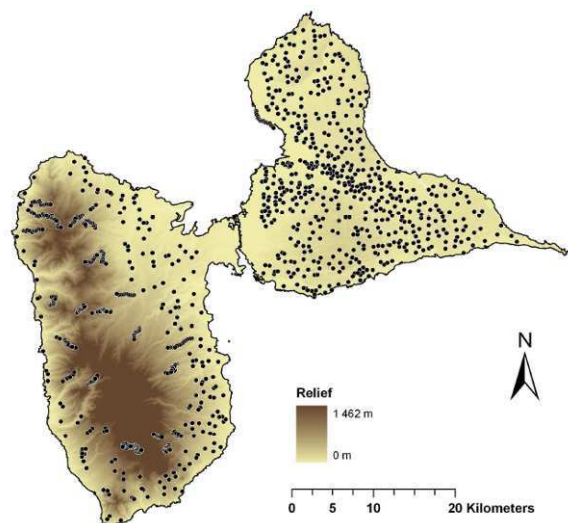
## II.2. Collecte des données

### a. Détermination de la distribution et la qualité de l'habitat de la grive

L'étude de l'ONCFS dans lequel est intégré mon projet de thèse a permis de déterminer la distribution spatiale des Grives à pieds jaunes et d'identifier les types d'habitats dans lesquels elles sont présentes et les zones à forte potentialité d'accueil (Eraud et al. 2012).

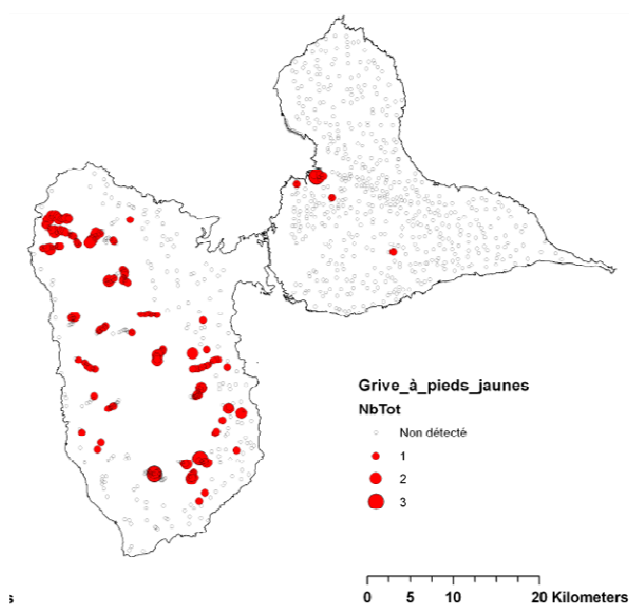
Afin de déterminer la distribution des Grives à pieds jaunes en Guadeloupe, un plan d'échantillonnage aléatoire stratifié a été établi (Coe 2006) afin de définir 40 à 50 stations d'échantillonnages tirées aléatoirement dans chacune des unités écologiques définies par Rousteau (1996, Fig. 13). Les inventaires de grives à pieds jaunes ont été conduits selon la méthode des points d'écoute (Blondel et al. 1970)

sur 991 stations durant 3 saisons de terrain (Fig.17). Cette méthode consiste à dénombrer les oiseaux vus et /ou entendus dans un intervalle de temps préalablement défini.

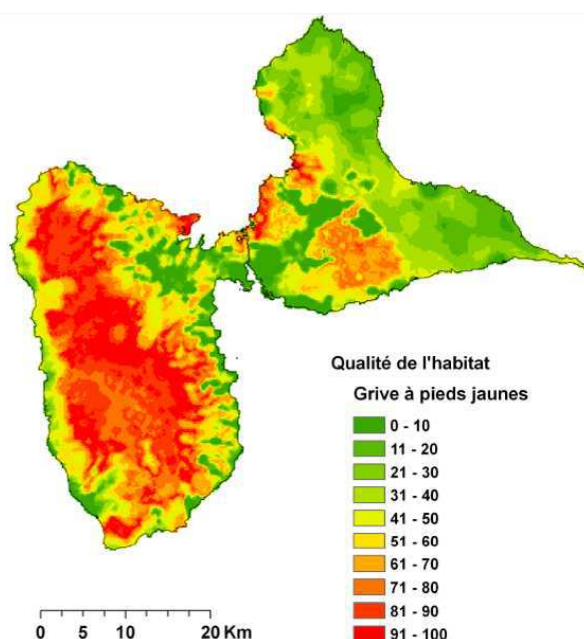


**Figure 17.** Carte de répartition des 991 stations échantillonnées inventoriées sur la période 2009-2011 et retenues pour les analyses. *Extrait de Eraud et al. 2012.*

Chaque point d'écoute à été inventorié à deux pas de temps: le premier entre mi-avril et mi-mai et le second entre mi-juin et mi-juillet. Sur les quelques heures après le lever du soleil, l'observateur a enregistré sur chaque point d'écoute les espèces d'oiseaux ainsi que leur nombre pendant 5 minutes et sur un rayon de 100m. Les données obtenues ont été couplées à un Système d'Informations Géographiques permettant la conduite d'analyses spatiales et l'exportation des résultats sous forme cartographique. Pour la Grive à pieds jaunes, son abondance ainsi que sa présence est bien plus marquée sur la Basse-Terre que sur la Grande-Terre (Fig.18). Afin de déterminer la carte des potentialités de l'habitat chez la Grive à pieds jaunes, un modèle de l'ENFA (Ecological Niche Factor Analysis, Hirzel et al. 2002) a été privilégié. Il repose sur le concept de niche écologique défini par Hutchinson (1957) et cherche à caractériser l'enveloppe environnementale des sites où la présence de l'espèce étudiée est avérée (Encadré 1). Les caractéristiques environnementales choisies pour la



**Figure 18.** Abondance de la Grive à Pieds Jaunes par station échantillon. La valeur figurée représente le nombre maximal d'individus vu et /ou entendu enregistré au cours des deux dénombrements sur chaque station au terme des 3 saisons d'inventaires (2009-2011).



**Figure 19** Résultats de la modélisation de la niche écologique de la Grive à Pieds Jaunes à l'aide des analyses de type *Ecological Niche Factor Analysis*. Les cartes expriment un gradient de potentialité des habitats pour les différentes espèces. Avec 0 = habitat très défavorable et 100 = habitat très favorable. La résolution des cartes est de 200 m x 200 m.

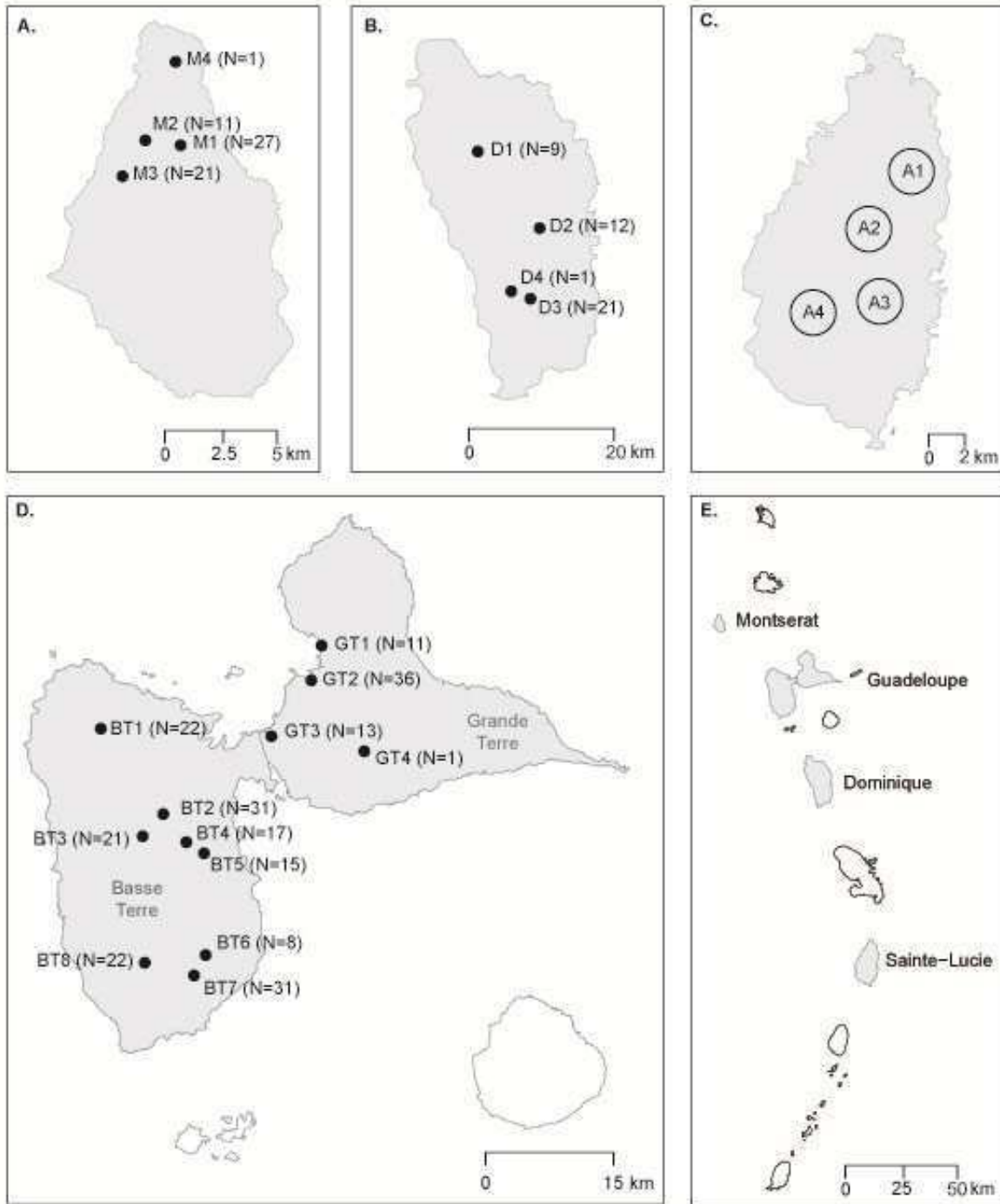
Guadeloupe sont classées en 7 catégories : l'urbanisation, l'occupation agricole du sol, l'agencement de la matrice paysagère, la nature du manteau forestier, le niveau de fragmentation du manteau forestier, la topographie et la climatologie. La modélisation de la niche écologique de la Grive à pieds jaunes a révélé une forte potentialité d'habitat pour la Basse-Terre, ainsi que pour les Grands Fonds et la zone de forêts marécageuses au nord-ouest de la Grande-Terre (Fig. 19). Les valeurs de la potentialité d'habitat seront extraites pour chacun de nos sites de capture afin de les intégrer dans les analyses décrites dans la suite du manuscrit.

### **b. Echantillonnage**

Pour Montserrat, la Dominique, Sainte Lucie et Basse-Terre (Guadeloupe), le choix des sites d'échantillonnage a été déterminé à partir d'une prospection initiale des milieux forestiers en utilisant les voies d'accès autorisées à ces milieux, eux-mêmes gérés par des organismes publics pour la plupart; ceci garantissant la possibilité d'y intervenir en suivant les procédures d'autorisation. Pour Grande-Terre, une prospection initiale quasi-exhaustive des milieux forestiers a été réalisée. La détection de l'espèce s'est basée sur (i) des écoutes au moment du pic d'activité de chant pour cette espèce, c'est-à-dire avant le levé du jour et (ii) sur la diffusion d'enregistrements de chants de manière à faire réagir les grives présentes. Les informations transmises par les ornithologues locaux ont été également fort utiles pour identifier des sites potentiels d'échantillonnage (Montserrat: G. Gray et S. Daley; Guadeloupe: E. Bénito-espinal, F. Duzont, G. Leblond et A. Lévesque; Dominique: B. Jon Baptist, A. James et S. Durant;- Sainte-Lucie: A. Dornelly et A. Toussaint). A l'issue de ce travail préliminaire, 12 sites ont été échantillonnés en Guadeloupe (Fig. 20D), dont 8 en Basse-Terre et 4 en Grande-Terre, 4 sites à la Dominique (Fig. 20B) et 4 sites à Montserrat (Fig. 20A).

L'échantillonnage s'est déroulé en 2010 pour la majorité des individus prélevés en Guadeloupe (210 oiseaux) et en 2011 pour la Dominique (43 oiseaux), la Guadeloupe (25 oiseaux) et Montserrat (60 individus). Les captures ont été réalisées à l'aide de filets maillants ouvert le matin ou/et le soir, en diffusant le plus souvent le chant de l'espèce à proximité afin d'accroître le rendement des opérations.

A Sainte Lucie, les prospections de terrain (Fig. 20C) n'ont pas permis de détecter la Grive à pieds jaunes, confirmant ainsi sa rareté sur cette île. Les effectifs d'oiseaux capturés sur chacune des îles et par sites d'échantillonnage sont présentés dans le tableau 1. En ce qui concerne la Guadeloupe, plusieurs oiseaux ont été détectés dans la zone des Grands Fonds mais un seul oiseau a été capturé sur un site de cette zone (Berlette) en raison de difficultés pratiques sur le terrain (pente très accentuée et végétation dense). A la Dominique, un seul individu a également été capturé sur un des 4 sites (Cockrane) du fait d'une très faible densité locale de grives sur ce site. Enfin à Montserrat, la même configuration s'est présentée pour une population résiduelle au nord de l'île (Silver Hill) où un seul oiseau chanteur a été détecté et capturé. Ces oiseaux uniques sur leur site de capture n'ont par conséquent pas été inclus dans les analyses présentées dans la suite de ce manuscrit. Pour simplifier la compréhension du document, les sites seront nommés de M1 à M3 pour Montserrat, de GT1 à GT3 pour les sites sur Grande-terre en Guadeloupe, de BT1 à BT8 pour les sites de Basse-Terre en Guadeloupe et de D1 à D3 pour les sites de la Dominique. La correspondance des sites avec leur dénomination est également détaillée dans le tableau 1.



**Figure 19.** Description des sites d'échantillonnages sur chacune des îles au cours des saisons 2010-2011. **A.** Montserrat, M1 : Dry Water Fall, M2 : Mongo Hill, M3 : Woodland, M4 : Silver Hill , **B.** La Dominique, D1 : Morne Diablotin, D2 : Emerald Pool, D3 : Middleham Falls, D4 : Cockrane **C.** Sainte-Lucie, Les cercles correspondent aux zones de prospections A1: Castries Forest Reserve, A2 : Nature Reserve, A3 : Edmund Forest Reserve, A4 : Quillesse Forest Reserve, **D.** La Guadeloupe GT1: Petit-Canal, GT2: Geffrier, GT3: L'Alliance, BT1: Sofaia, BT2: Prise d'Eau, BT3: La Traversée, BT4: Valombreuse, BT5: Petit-Bourg, BT6: Routhiers, BT7: Grand-Etang, BT8: La Soufrière, **E.** L'arc des Petites Antilles et le positionnement des îles où l'oiseau est présent coloriées en gris.

**Tableau 1.** Effectifs des Grives à Pieds Jaunes capturées en 2010-2011 sur chacune des îles (Montserrat, Guadeloupe, Dominique) par sites et en fonction des sexes (Mâle vs. Femelle).

Sites	Symbole	Mâle	Femelle
<b>Montserrat</b>			
Dry Water Fall	M1	8	3
Mongo Hill	M2	17	10
Woodland	M3	13	8
<b>Guadeloupe</b>			
Petit-Canal	GT1	10	1
Geffrier	GT2	24	12
Alliance	GT3	10	3
Sofaia	BT1	19	6
INRA	BT2	20	11
Traversée	BT3	15	6
Valombreuse	BT4	10	7
Petit-Bourg	BT5	9	7
Routhiers	BT6	8	0
Grand-Etang	BT7	19	12
Soufrière	BT8	10	12
<b>Dominique</b>			
Morne Diablotin	D1	9	0
Emerald Pool	D2	10	2
MiddlehamFall	D3	18	3

### c. Mesures et prélèvements effectués

Les oiseaux capturés ont fait l'objet de mesures biométriques concernant la masse ( $\pm 0.1g$ ), la longueur du tarse ( $\pm 0.02mm$ ), la longueur de l'aile ( $\pm 0.5mm$ ), la longueur de la queue ( $\pm 0.5mm$ ), la longueur de la tête plus le bec ( $\pm 0.02mm$ ). La couleur du bec a également été évaluée à l'aide d'un éventail colorimétrique allant de l'indice 1 (couleur jaune pâle) à l'indice 16 (couleur orange vif; Fig 21.).

Ensuite chaque oiseau a fait l'objet d'un prélèvement sanguin (100 à 250  $\mu l$ ) au niveau de la veine alaire, à l'aide d'aiguilles stériles (26 G) et de microcapillaires héparinés. Environ 20 $\mu l$  de sang étaient immédiatement déposés dans 500  $\mu l$  de tampon Queen Lysis Buffer (QLB, Seutin et al. 1991) à destination des analyses moléculaires (détermination du sexe, analyse de la structuration génétique à partir de marqueurs neutres, détection et identification des parasites sanguins). Le reste du sang était immédiatement placé au frais dans une glacière, puis centrifugé (6000 rpm, 10 min., 4°C) dès le retour du terrain. Le surnageant était ensuite

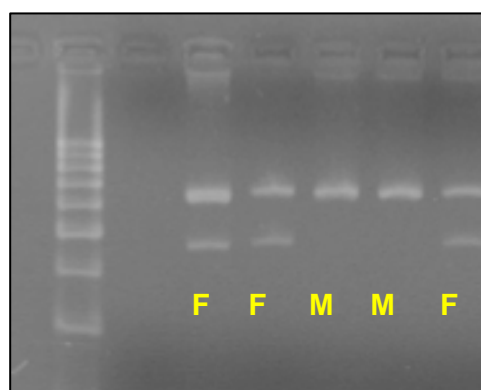


**Figure 20.** Illustration des différentes mesures et prélèvements opérés sur les Grive à pieds jaunes : A) mesure du tarse, B) de la longueur tête+bec, C) de la longueur de l'aile, D) mesure de la teinte du bec, E) prélèvement sanguin réalisé à la veine brachiale à l'aide d'un micro-capillaire.

prélevé et conservé à  $-20^{\circ}\text{C}$  pour des analyses biochimiques non incluses dans le présent document. Enfin, une observation détaillée du plumage des oiseaux a été réalisée afin de collecter et/ou quantifier les ectoparasites présents.

### II.3. Détermination du sexe

Compte-tenu de l'absence de dimorphisme sexuel chez cette espèce, nous avons eu recours à des méthodes moléculaires (Friedolfsson & Ellegren 1999) pour déterminer le sexe des oiseaux capturés. Chez les oiseaux, les femelles sont hétérogamétiques ZW et les mâles sont homogamétiques ZZ. Ainsi, après extraction de l'ADN, l'amplification par PCR d'un fragment homologue de deux gènes conservés présents sur les deux chromosomes Z et W nous a permis de différencier sans erreur les mâles et les femelles. En effet, les fragments amplifiés sur les deux chromosomes n'ayant pas la même taille, deux bandes peuvent potentiellement être révélées sur un gel d'électrophorèse. Des tests préalables ont été réalisés à partir d'oiseaux et montrent, chez la Grive à pieds jaunes, une configuration conforme à celle attendue : les mâles présentent une bande unique d'ADN sur le gel d'électrophorèse, tandis que les femelles présentent deux bandes (Fig. 22).



**Figure 21.** Photographie sous UV d'un gel d'agarose après migration par électrophorèse mettant en évidence la distinction entre mâles et femelles. Les bandes d'ADN sont comparées à un marqueur de taille (colonne de gauche). Les femelles (F) sont caractérisées par deux bandes de tailles différentes et les mâles (M) par une seule bande

### II.4. Choix des marqueurs moléculaires

L'étude de la variabilité génétique dans les populations naturelles peut être entreprise avec une grande diversité de marqueurs moléculaires. Il n'y a pas de marqueur idéal unique et le choix du (des) marqueur(s) à utiliser dépend en particulier de la question posée (Avisé 2004,



Allendorf & Luikart 2006). Nous avons choisi d'étudier les patrons de variabilité génétique actuel et passé (à partir d'échantillons de muséum) en utilisant deux types de marqueurs : le gène du cytochrome b situé sur l'ADN mitochondrial et plusieurs locus microsatellites situés sur l'ADN nucléaire. L'utilisation conjointe de plusieurs types de marqueurs peut s'avérer très informative lorsque ces marqueurs possèdent des vitesses d'évolution ou des hérédités différentes (*e.g.* ADN mitochondrial généralement transmis par voie maternelle *versus* ADN nucléaire à transmission biparentale).

#### **a. Le gène mitochondrial du cytochrome b**

L'ADN mitochondrial code chez les animaux pour deux ARNr, 13 protéines et 22 ARNt (Boore 1999). Les ARNr et ARNt sont impliqués dans la traduction des gènes codant les protéines mitochondriales, alors que les protéines participent au fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale. L'ADN mitochondrial se distingue de l'ADN nucléaire par le fait qu'il est généralement non recombinant et maternellement hérité. Même si l'ADN mitochondrial évolue en moyenne plus rapidement que l'ADN nucléaire du fait d'un système de réparation peu performant, sa vitesse d'évolution est généralement insuffisante pour tracer les événements démographiques contemporains (Ballard & Whilock 2004, Wan et al. 2004). L'ADN mitochondrial a largement été utilisé dans le cadre d'étude de phylogénie et/ou de phylogéographie (McCracken et al. 2001, Höglund et al. 2009). Il permet également d'estimer la diversité génétique des populations ainsi que leur niveau de divergence à condition que ce dernier s'inscrive dans un temps relativement long.

L'étude des variations génétique de l'ADN mitochondrial s'est focalisée sur le gène du cytochrome b. Les amorces pour amplifier le cytochrome b chez la Grive à pieds jaunes ont été définies par Christelle Tougard (Chercheur CNRS à l'ISEM de Montpellier II). Des séquences partielles du cytochrome b de Grives à pieds jaunes, de merles noirs ainsi que de grives musiciennes, oiseaux appartenant tous à la famille des Turdidés ont été collectées sur

Genbank. Les séquences ont ensuite été alignées afin d'identifier les zones conservées pour définir les amorces. Au total, 6 couples d'amorces ont été définis ce qui nous a permis d'amplifier un fragment de 1069 paires de bases (voir chapitre III).

#### **b. Marqueurs nucléaires microsatellites**

Ces marqueurs moléculaires sont aujourd'hui parmi les plus utilisés en génétique des populations à cause de leurs propriétés. Ils sont codominants et vraisemblablement neutres dans la majorité des cas. Même si ces marqueurs sont situés sur l'ADN nucléaire, leur vitesse d'évolution est considérablement plus élevée que celle des gènes mitochondriaux en raison de leur taux de mutation généralement élevé ( $10^{-2}$  à  $10^{-5}$ , Jarne & Lagoda 1996). Ce sont donc des marqueurs de choix pour l'étude des événements démographiques récents (Bruford & Wayne 1993, Beaumont & Bruford 1999, Selkoe & Toonen 2006).

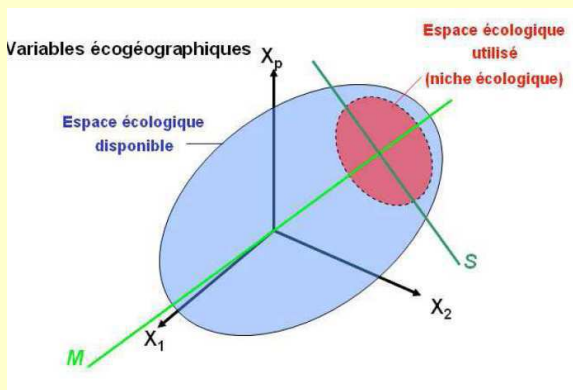
Aucun locus microsatellite n'ayant été développé chez les Grive à pieds jaunes, 50 marqueurs microsatellites développés chez d'autres espèces d'oiseaux (principalement le Merle noir, *Turdus merula*) ont été testés pour une amplification croisée. Plusieurs étapes successives ont été nécessaires pour établir la liste des locus potentiellement informatifs dans le cadre de l'étude de la structure génétique des populations de Grive à pieds jaunes : vérification de l'amplification par PCR de ces locus, contrôle de leur polymorphisme, absence de signe de sélection ou de problème d'amplification. L'ensemble de ces étapes a permis de sélectionner 12 marqueurs microsatellites. Ce travail a fait l'objet d'une publication dans la revue *Molecular Ecology Resources* (voir Manuscrit 1). Dans le chapitre suivant, uniquement 10 marqueurs microsatellites ont été utilisés du fait d'une faible amplification pour les individus de la Dominique.

## Éléments complémentaires 1: Modélisation de la niche écologique, ENFA (Ecological Niche Factor Analysis), Hutchinson 1957

Le modèle ENFA cherche à caractériser l'enveloppe environnementale des sites où la présence de l'espèce étudiée est avérée. Cette technique s'est en effet révélée être une approche pertinente pour évaluer l'aire de répartition et identifier les habitats clés pour de nombreuses espèces (Jiménez-Valverde et al. 2007, Sattler et al. 2007, Long et al. 2008, Strubbe & Matthysen 2008).

Cette analyse est apparentée aux analyses multivariées de type Analyses en Composantes Principales (ACP) lesquelles permettent de résumer l'information en quelques axes factoriels indépendants. Dans le cadre de l'ENFA, ces axes concèdent toutefois une signification écologique (Fig. 1) :

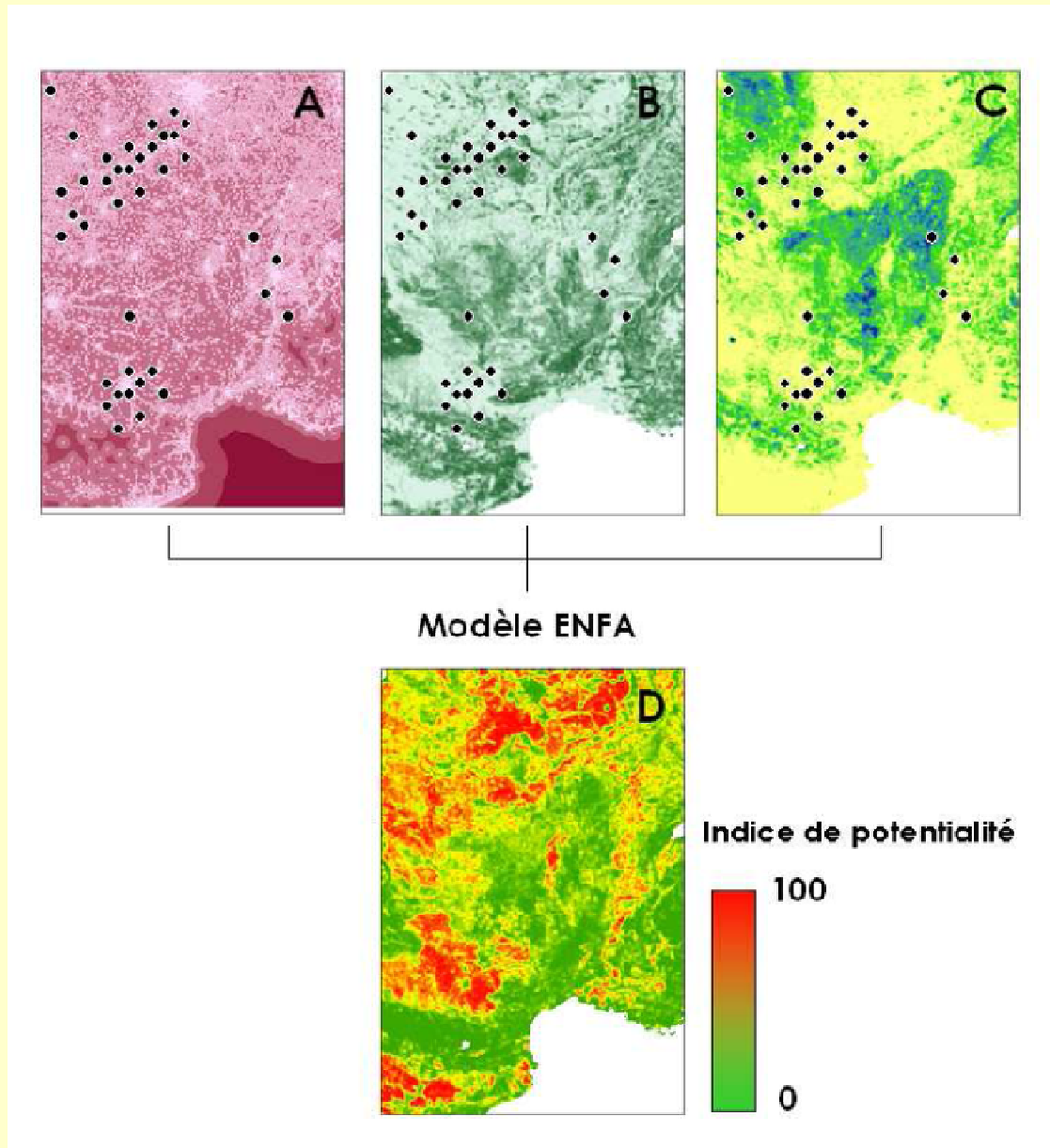
- ♦ Le premier axe, dénommé « **Axe de marginalité** » exprime la différence entre les conditions utilisées en moyenne par l'espèce et les conditions observées sur l'ensemble de l'aire d'étude. Ainsi, une espèce possède une valeur absolue d'autant plus élevée sur ce premier axe (dénommée valeur de « marginalité ») que les caractéristiques de l'environnement où elle est observée s'éloignent des caractéristiques moyennes de l'aire étudiée.
- ♦ Les axes suivants, dénommés « Axes de spécialisation » expriment quant à eux le rapport de la variance des conditions observées



sur l'ensemble de l'aire d'étude sur la variance des 17 conditions utilisées par l'espèce. Des valeurs propres élevées sur ces axes indiquent qu'une espèce est peu tolérante à une variation des variables environnementales qui contribuent à ces axes. En d'autres termes, l'espèce se maintient dans une gamme étroite des valeurs de ces variables (Pichenot 2008).

Sur la base des contours de la niche écologique définie par l'analyse, il est alors possible de prédire pour chaque unité du paysage, la probabilité que cette unité, compte-tenu de ses caractéristiques environnementales, soit propice à l'espèce étudiée (Fig. 2). Cette probabilité varie de 0 (conditions environnementales très défavorables) à 100 (conditions environnementales très favorables). En dehors de fournir une carte des habitats potentiels, une propriété intéressante de l'ENFA réside dans le fait que la projection des variables environnementales dans l'espace défini par les différents axes fournit des éléments d'appréciation sur la relation que les espèces entretiennent avec leur environnement. C'est le cas en particulier du coefficient de marginalité calculé pour chacune des variables environnementale projetée sur l'axe de marginalité. Pour une variable donnée, un coefficient positif signifie que la présence de l'espèce étudiée est associée à des valeurs supérieures à la moyenne observée sur l'ensemble de l'aire d'étude. Un coefficient de marginalité négatif signifie l'inverse. Ainsi, l'ENFA permet d'identifier les caractéristiques de l'environnement recherchées ou évitées par les espèces et d'apprécier par conséquent, la sélection opérée par les espèces sur les habitats.

**Figure 1.** Représentation du principe de l'ENFA. *M* représente l'axe de marginalité. Il passe par les barycentres de l'espace écologique disponible (ellipse bleue) et de l'espace écologique utilisé (ellipse rouge). *S* représente l'un des axes de spécialisation, il maximise le rapport de la variance entre le nuage global et le nuage de présence (Pichenot, 2008). Figure extraite du rapport de stage d'Anais Charbonnel.



**Figure 2.** Illustration de l'approche ENFA pour prédire l'aire de répartition potentielle d'une espèce. Les sites où l'espèce a été observée (●) sont projetés sur un ensemble de données environnementales spatialisées sous la forme d'images matricielles. Les exemples figurent ici : **A**) la distance au plus proche village, **B**) la superficie de forêt dans un rayon de 500 m et **C**) la superficie de terres cultivées dans un rayon de 500 m). Cette projection permet de définir l'enveloppe environnementale des sites où l'espèce est observée. Sur la base de cette enveloppe, la probabilité que l'habitat soit propice à l'espèce étudiée est alors calculée pour chacune des unités paysagères définies par l'espace multi-dimensionnel formé par les variables A, B et C. La taille de ces unités est fonction de la résolution des données environnementales (i.e. taille du pixel). Le résultat est une carte exprimant un gradient de potentialité des habitats (**D**)- de 0 (faible) à 100 (maximale) – lequel est assimilable à l'aire potentielle de distribution de l'espèce étudiée.



# Manuscrit 1

**Cross-species amplification of 12 microsatellite loci  
In the endemic Antillean Forest thrush (*Turdus lherminieri*)**

Emilie Arnoux, Bruno Faivre, Cyril Eraud, Stéphane Garnier

Accepté à *Molecular Ecology Resources*



## MOLECULAR ECOLOGY RESOURCES

Molecular Ecology Resources (2012) 12, 570–572

doi: 10.1111/j.1755-0998.2012.03133.x

### PERMANENT GENETIC RESOURCES NOTE

## Permanent Genetic Resources added to Molecular Ecology Resources Database 1 December 2011 – 31 January 2012

MOLECULAR ECOLOGY RESOURCES PRIMER DEVELOPMENT CONSORTIUM,<sup>1</sup> M. C. ARIAS,<sup>2</sup> E. ARNOUX,<sup>3</sup> JAMES J. BELL,<sup>4</sup> ABEL BERNADOU,<sup>5</sup> GIORGIA BINO,<sup>6</sup> R. BLATRIX,<sup>7</sup> DENIS BOURGUET,<sup>8</sup> CECILIA CARREA,<sup>9</sup> ANNE-LAURE CLAMENS,<sup>8</sup> HAYDÉE A. CUNHA,<sup>10, 11</sup> E. D'ALENÇON,<sup>12</sup> YI DING,<sup>13</sup> C. DJIETO-LORDON,<sup>14</sup> M. P. DUBOIS,<sup>7</sup> P. DUMAS,<sup>8, 12</sup> C. ERAUD,<sup>15</sup> B. FAIVRE,<sup>3</sup> F. O. FRANCISCO,<sup>2</sup> E. FRANÇOZO,<sup>2</sup> M. GARCIA,<sup>7</sup> JONATHAN P. A. GARDNER,<sup>4</sup> S. GARNIER,<sup>3</sup> S. GIMENEZ,<sup>12</sup> JOHN R. GOLD,<sup>16</sup> D. J. HARRIS,<sup>17</sup> GUANGCUN HE,<sup>13</sup> B. HELLEMANS,<sup>18</sup> CHRISTOPHER M. HOLLENBECK,<sup>16</sup> SHENGLI JING,<sup>13</sup> G. J. KERGOAT,<sup>8</sup> BINGFANG LIU,<sup>13</sup> JAN R. McDOWELL,<sup>19</sup> D. McKEY,<sup>7</sup> TERRENCE L. MILLER,<sup>19</sup> ERICA NEWTON,<sup>9, 20</sup> KATRINA M. PAGENKOPP LOHAN,<sup>19</sup> CHIARA PAPETTI,<sup>6</sup> IAN PATERSON,<sup>9</sup> J. PECCOUD,<sup>7</sup> XINXIN PENG,<sup>13</sup> F. PIATSCHECK,<sup>7</sup> SERGINE PONSARD,<sup>5</sup> KIMBERLY S. REECE,<sup>19</sup> CÉLINE M. O. REISSER,<sup>4, 21</sup> MARK A. RENSHAW,<sup>16</sup> DANIEL E. RUZZANTE,<sup>9</sup> M. SAUVE,<sup>7</sup> JEFFREY D. SHIELDS,<sup>19</sup> ANTONIO SOLÉ-CAVA,<sup>10</sup> E.L. SOUCHE,<sup>18, 22</sup> J.K.J. VAN HOUDT,<sup>18, 23</sup> ANDERSON VASCONCELLOS,<sup>10</sup> F. A. M. VOLCKAERT,<sup>18</sup> SHUZHEN WANG,<sup>13</sup> JIE XIAO,<sup>19</sup> HANGJIN YU,<sup>13</sup> LORENZO ZANE,<sup>6</sup> BARBARA ZANNATO,<sup>6</sup> TYLER S. ZEMLAK,<sup>9, 24</sup> CHUNXIAO ZHANG,<sup>13</sup> YAN ZHAO,<sup>13</sup> XI ZHOU<sup>13</sup> and LILI ZHU<sup>13</sup>

<sup>1</sup>Molecular Ecology Resources Editorial Office, 6270 University Blvd, Vancouver, BC, V6T 1Z4, Canada; <sup>2</sup>Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, rua do Matão, 277, 05508-090, São Paulo, SP, Brazil;

<sup>3</sup>Biogéosciences UMR 5561, Université de Bourgogne, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France; <sup>4</sup>Centre for Marine Environmental and Economic Research, School of Biological Sciences, Victoria University of Wellington, Wellington 6140, New Zealand; <sup>5</sup>CNRS – UMR 5174, Laboratoire Evolution & Diversité Biologique, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex 09, France. Université de

Toulouse – UMR 5174, Laboratoire Evolution & Diversité Biologique, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex 09, France; <sup>6</sup>Department of Biology, University of Padova, via U. Bassi 58/B, I-35121 Padova, Italy; <sup>7</sup>Centre d'Ecologie Fonctionnelle et

Evolution (CEFE), UMR 5175 CNRS, 1919 route de Mende, F-34293 Montpellier Cedex 5, France; <sup>8</sup>Centre de Biologie pour la

Gestion des Populations (CBGP), UMR INRA-IRD-CIRAD Montpellier SupAgro, Campus International de Baillarguet, CS 30016, 34988 Montferrier sur-Lez Cedex, France; <sup>9</sup>Department of Biology, Dalhousie University, Halifax, NS, Canada B3H4R2;

<sup>10</sup>Laboratório de Biodiversidade Molecular, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil;

<sup>11</sup>Laboratório de Mamíferos Aquáticos e Bioindicadores (MAQUA), Faculdade de Oceanografia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; <sup>12</sup>UMR 1333, INRA, Université Montpellier 2, Diversité, Génomes & Interactions Microorganismes-

Insectes, Place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier, France; <sup>13</sup>State Key Laboratory of Hybrid Rice, College of Life Science, Wuhan University, Wuhan 430072, People's Republic of China; <sup>14</sup>Laboratory of Zoology, Yaoundé University, Faculty of Science, PO Box 812, Yaoundé, Cameroun; <sup>15</sup>Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, Carrefour de la Canauderie, Station biologique de

Chizé, 79360 Villiers en Bois, France; <sup>16</sup>Center for Biosystematics and Biodiversity, Department of Wildlife and Fisheries Sciences, Texas A and M University, College Station, TX 77843-2258, USA; <sup>17</sup>Royal Botanic Garden Edinburgh, Edinburgh EH3 5LR,

Scotland, UK; <sup>18</sup>Laboratory of Biodiversity and Evolutionary Genomics, University of Leuven, Charles Deberiotstraat 32, B-3000 Leuven, Belgium; <sup>19</sup>The Virginia Institute of Marine Science, The College of William & Mary, PO Box 1346, Gloucester Point, VA 23062, USA; <sup>20</sup>Environmental and Life Sciences Department, Trent University, Peterborough, ON, Canada K9J 7B8; <sup>21</sup>Department

of Biology, Unit of Ecology and Evolution, University of Fribourg, Fribourg CH-1700, Switzerland; <sup>22</sup>Bioinformatics for Genomic

Analysis, Institut Pasteur, 28 rue du Docteur Roux, F-75724 Paris Cedex, France; <sup>23</sup>Laboratory for Cytogenetics and Genome

Research, University of Leuven, O&N, Herestraat 49, B-3000 Leuven, Belgium; <sup>24</sup>Department of Microbiology & Immunology, Dalhousie University, Halifax, NS, Canada B3H4R2

### Abstract

This article documents the addition of 473 microsatellite marker loci and 71 pairs of single-nucleotide polymorphism (SNP) sequencing primers to the Molecular Ecology Resources Database. Loci were developed for the following species: *Barteria fistulosa*, *Bombus morio*, *Galaxias platei*, *Hematodinium perezii*, *Macrocentrus cingulum* Brischke (a.k.a. *M. abdominalis*)

Correspondence: Molecular Ecology Resources Primer Development Consortium, E-mail: editorial.office@molecol.com



Fab., *M. grandii* Goidanich or *M. gifuensis* Ashmead), *Micropogonias furnieri*, *Nerita melanotragus*, *Nilaparvata lugens* Stål, *Sciaenops ocellatus*, *Scomber scombrus*, *Spodoptera frugiperda* and *Turdus lherminieri*. These loci were cross-tested on the following species: *Barteria dewevorei*, *Barteria nigrimana*, *Barteria solida*, *Cynoscion acoupa*, *Cynoscion jamaicensis*, *Cynoscion leiarchus*, *Cynoscion nebulosus*, *Cynoscion striatus*, *Cynoscion virescens*, *Macrodon ancylodon*, *Menticirrhus americanus*, *Nilaparvata muiri* and *Umbrina canosai*. This article also documents the addition of 116 sequencing primer pairs for *Dicentrarchus labrax*.

This article documents the addition of 473 microsatellite marker loci and 71 pairs of single-nucleotide polymorphism (SNP) genotyping primers to the Molecular Ecology Resources Database. Table 1 contains information on

the focal species, the number of loci developed, any other species the loci were tested in and the accession numbers for the loci in both the Molecular Ecology Resources Database and GenBank. The authors responsible for each

**Table 1** Information on the focal species, the number of loci developed, any other species the loci were tested in and the accession numbers for the loci in both the Molecular Ecology Resources Database and GenBank. The authors responsible for each set of loci are listed in the final column

Species	No. primers developed	Other species tested	MER database no.	GenBank accession no.	Authors
<i>Barteria fistulosa</i>	17	<i>B. dewevorei</i> , <i>B. nigrimana</i> , <i>B. solida</i>	48615–48631	JQ289126–JQ289128, JQ289130–JQ289143	Sauve, M.; Garcia, M.; Djipto-Lordon, C.; Peccoud, J.; Piatscheck, F.; Dubois, M. P.; McKey, D.; Harris, D. J.; Blatrix, R.
<i>Bombus morio</i>	13	n/a	47715–47722, 47724–47728	JN701023–JN701035	Françoso, E.; Francisco, F. O.; Arias, M. C.
<i>Galaxias platei</i>	9	n/a	47692–47700	JQ043430–JQ043438	Zemlak, Tyler S.; Carrea, Cecilia; Newton, Erica; Paterson, Ian; Ruzzante, Daniel E.
<i>Hematodinium perezii</i>	11	n/a	47681–47691	JN403077–JN403087	Pagenkopp Lohan, Katrina M.; McDowell, Jan R.; Shields, Jeffrey D.; Xiao, Jie; Miller, Terrence L.; Reece, Kimberly S.
<i>Macrocentrus cingulum</i> Brischke (a.k.a. <i>M. abdominalis</i> Fab., <i>M. grandii</i> Goidanich or <i>M. gifuensis</i> Ashmead)	13	n/a	47202–47222	JN703391–JN703395, JN703399, JN703401, JN703403–JN703405, JN703409–JN703411	Clamens, Anne-Laure; Bernadou, Abel; Ponsard, Sergine; Bourguet, Denis
<i>Micropogonias furnieri</i>	16	<i>C. acoupa</i> , <i>C. jamaicensis</i> , <i>C. leiarchus</i> , <i>C. striatus</i> , <i>C. virescens</i> , <i>M. ancylodon</i> , <i>M. americanus</i> , <i>U. canosai</i>	48472–48487	JF798645–JF798650, JF798652–JF798656, JF798660–JF798664	Vasconcellos, Anderson; Cunha, Haydée A.; Solé-Cava, Antonio
<i>Nerita melanotragus</i>	10	n/a	48579–48588	JQ364728–JQ364737	Reisser, Céline M. O.; Bell, James J.; Gardner, Jonathan P. A.

## 572 PERMANENT GENETIC RESOURCES NOTE

Table 1 (Continued)

Species	No. primers developed	Other species tested	MER database no.	GenBank accession no.	Authors
<i>Nilaparvata lugens</i> Stål	17	<i>N. muiri</i>	47663–47677, 47679, 47680	JN834077–JN834091	Jing, Shengli; Zhang, Chunxiao; Wang, Shuzhen; Zhou, Xi; Yu, Hangjin; Peng, Xinxin; Liu, Bingfang; Zhao, Yan; Zhu, Lili; Ding, Yi; He, Guangcun
<i>Sciaenops ocellatus</i>	323	<i>Cynoscion nebulosus</i>	47770–47772, 47774, 47775, 47777, 47779, 47781, 47782, 47784–47788, 47813, 47815–47890, 48016–48043, 48082–48108, 48295–48471	EU726996, JF509110–JF509136, JQ235209–JQ235503	Renshaw, Mark A.; Hollenbeck, Christopher M.; Gold, John R.
<i>Scomber scombrus</i>	15	n/a	48512, 48514, 48515, 48517, 48520, 48522, 48525, 48527–48534	JQ219865–JQ219879	Papetti, Chiara; Bino, Giorgia; Zannato, Barbara; Zane, Lorenzo
<i>Spodoptera frugiperda</i>	17	n/a	48552–48568	JN790256–JN790271, JN796474	Dumas, P.; Clamens, A.-L.; Kergoat, G. J.; Gimenez, S.; d'Alençon, E.
<i>Turdus lherminieri</i>	12	n/a	47729–47740	JQ001753–JQ001762, JQ001764, JQ001765	Arnoux, E.; Faivre, B.; Eraud, C.; Garnier, S.

**Table 2** Information on the focal species, the sequencing primer pairs developed, the number of single-nucleotide polymorphisms observed and any other species the loci were tested in. The next columns contain the number of allele specific primers and probes developed, and the Molecular Ecology Resources Database and GenBank accession numbers, respectively. The authors responsible for each set of loci are listed in the final column

Species	No. primer pairs	No. SNPs in sequence	Other species tested	No. Allele specific primers /probe	Target gene(s)	MER database numbers	Genbank Accession no	Authors
<i>Dicentrarchus labrax</i>	116	71	n/a	See MS for details	See MS for details	48237–48294	JM497134– JM497249	Souche, E. L.; Hellemans, B.; Van Houdt, J. K. J.; Volckaert, F. A. M.

set of loci are listed in the final column. Table 2 presents information on SNP genotyping resources added to the MER database and presents data on the focal species, the number of sequencing primer pairs, the observed number of SNPs, other species the loci were tested in and the number of allele specific primers or probes. The MER

database and GenBank accession numbers and the authors responsible are also listed. A full description of the development protocol for the loci presented here can be found on the Molecular Ecology Resources Database (<http://tomato.biol.trinity.edu/>).

**Cross-species amplification of 12 microsatellite loci**  
**in the endemic Antillean Forest thrush**  
**(*Turdus Iherminieri*)**

Arnoux, E.<sup>1</sup>, B. Faivre<sup>1</sup>, C. Eraud<sup>2</sup> & S. Garnier<sup>1</sup>

*1 Biogéosciences UMR 5561, Université de Bourgogne, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France*

*2 Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, Carrefour de la Canauderie, Station biologique de Chizé, 79360 Villiers en Bois, France*

*Keywords:* microsatellite, endemic species, bird, *Turdus*, conservation

**Emilie Arnoux** (corresponding author)

UMR CNRS 5561-Biogéosciences,

6 boulevard Gabriel, 21000 DIJON, France

Phone: 33 (0)3 80 39 91 57 Fax: 33 (0)3 80 39 62 31,

E-Mail : [emilie.arnoux@u-bourgogne.fr](mailto:emilie.arnoux@u-bourgogne.fr)

Running title: Microsatellites in the Forest thrush

**Abstract**

From 48 microsatellite loci tested for cross-species amplification in the Forest thrush (*Turdus lherminieri*), we identified 12 polymorphic loci showing both linkage and Hardy-Weinberg equilibrium. In a sample of 23 wild individuals from the same population, these loci exhibited 3 to 10 alleles, with gene diversity ranging from 0.34 to 0.82. Hence, these loci provide valuable tools for studying population genetic structure in this species.

---

Assessing the population genetic structure is an important step in setting conservation priorities in threatened species. Within the framework of evolutionary ecology, it also allows to address key questions about the origin and maintenance of genetic diversity in natural populations. Indeed, it is well established that a low genetic diversity leads to an increased extinction risk as well as to a reduced evolutionary potential in natural populations (Frankham 2005). Knowing the spatial structure of genetic diversity is therefore required to identify differentiated genetic entities, to select populations that need to be protected, or to determine potential source populations for translocation operations (Rasplus et al. 2001, Allendorf & Luikart 2007, Palsbøll et al. 2007).

The Forest thrush (*Turdus lherminieri*) is an endemic bird species of the Lesser Antilles. Its distribution range encompasses 4 islands: Guadeloupe, Montserrat, Santa Lucia and Dominica. Each island is assumed to hold a sub-species according to morphological criteria (Clement & Hathway 2000). Populations have dramatically declined throughout the last 15 years and the species is now classified as vulnerable according to the IUCN Red List. In addition, its legal protection status varies among islands. Hence, there is a clear need to assess genetic diversity in this species to set efficient population management strategies, either locally or at a global scale. In this context we investigated the usefulness of numerous microsatellite loci for cross-species amplification in the Forest thrush.

Genomic DNA was extracted from blood samples of 4 individuals mist-netted in Providence (Guadeloupe), using a phenol-chloroform protocol (Hillis et al. 1996). Forty-eight microsatellite loci have been tested. These loci were selected either because they had been isolated in related species (mainly Turdidae), or because they had been shown to cross-amplify in such species, especially *Turdus merula* (Simonei et al. 2009). We tested for amplification in the four preceding individuals in a final volume of 10 µl containing 15-50 ng

of DNA, 1X GoTaq Flexi Buffer, 0.4 $\mu$ M of each primer, 400 $\mu$ M of dNTP, 0.1 U of *Taq* polymerase(Promega). Reaction mix also contained 1.5 mM of MgCl<sub>2</sub> in the first trial. When amplification was not successful, we repeated the test using 2 mM of MgCl<sub>2</sub>. The following procedure was used for amplification in a Dyad thermal cycler (Bio-Rad): denaturation at 94°C for 3 min, 30 cycles consisting of 30 s of denaturation at 94°C, 30 s of annealing using a temperature gradient from 48 to 62°C, and 40 s of elongation at 72°C, and a final extension at 72°C for 5 min. PCR products were run on agarose gels (2%) to detect positive amplifications. A total of 39 loci showed successful amplification. We then tested for polymorphism of these 39 loci using DNA from 8 individuals captured in 4 localities across the Guadeloupe (Geffrier, Prise d'Eau, Sofaia, La Soufrière). Reaction mix and thermocycling followed the above procedure, except for the annealing temperature which was determined as the temperature providing the strongest signal on agarose gels in amplification tests. In addition, each forward primer was 5' tailed with a M13 sequence (5- CAC GAC GTT GTA AAA CGA C -3), and 0.1  $\mu$ M of 5' fluorescently labelled M13 oligonucleotide IRD700 or IRD800 (Li-Cor). PCR products were run on a Li-Cor 4000L automated sequencer (6.5% acrylamide, 41 cm long gels). A total of 12 loci exhibited at least two alleles.

Finally, we genotyped 23 free-ranging individuals from the same population (Prise d'Eau, Guadeloupe) using these 12 loci. PCR were conducted as previously described, except than one primer was fluorescently labelled (see Table 1). Concentration of MgCl<sub>2</sub> was 1.5 mM for loci DkiB119, PatMP2-43 and TG04-012 and 2 mM for all other loci. PCR products were run in an automated sequencer (ABI3730) following the manufacturer's protocol and using Genemapper 3.0 software. We sequenced PCR product from one individual for each locus to check that the PCR product corresponded to the respective locus described in the literature. BLAST searches in Genbank revealed that it was the case for all 12 loci.

Polymorphism data are shown in Table 1. Loci displayed from 3 to 10 alleles. Gene diversity ranged from 0.34 to 0.82. We detected neither linkage disequilibrium between locus pairs nor Hardy-Weinberg disequilibrium, even before Bonferroni correction (using GenePop 4.0.10, Raymond & Rousset 1995). In conclusion, we identified 12 polymorphic loci showing both linkage and Hardy-Weinberg equilibrium, providing useful tools to investigate population genetic structure in the Forest thrush both between and within the four islands that form its range.

**Table 1.** Characterization of polymorphic loci identified in *Turdus Iherminieri*. Repeat motif and allele size are given for the PCR product sequenced in this species.  $T_a$  is the locus-specific annealing temperature. \*Primer labelled with FAM, VIC, NED or PET. A is the allelic richness;  $H_o$  and  $H_e$  are observed and expected heterozygosity respectively.

Locus Name	Primer sequence (5' to 3')	Repeat motif	Size of allele (bp)	$T_a$ (°C)	Genbank			Ref	
					Accession number	A	$H_o$		$H_e$
<b>Ase40</b>	FAM-CACTGCTCCAGGCACTCTG GTTTCTT-TCCAAGGCACACAAAGGTG	(GT) <sub>11</sub>	237	60	JQ001753	4	0.55	0.58	1
<b>Ase64</b>	VIC-CCACCTTTCATACTGGGGAG GTTTCTTCAGCCAGTCAGTGTAGCC	(AGGG) <sub>2</sub> (ATGG) <sub>14</sub>	417	52	JQ001760	10	0.91	0.82	1
<b>Asp15</b>	NED-AATAGATTCAGGTGCTTTTTCC GGTTTTTGAGAAAATTATACTTTTCAG	(TG) <sub>15</sub>	110	49	JQ001754	6	0.87	0.81	2
<b>Cup05</b>	PET-ACCTCTAAATACCTGTGAGTGC GTTTCTTACTGTGGTATTCTTTACCTAGCA	(GT) <sub>12</sub> G (GT) <sub>2</sub>	179	48	JQ001761	5	0.45	0.58	3
<b>Cup28</b>	PET-GAGGCACAGAAATGTGAATT TAAGTAGAAGGACTTGATGGCT	(CA) <sub>13</sub>	162	48	JQ001755	4	0.38	0.34	3
<b>DkiB119</b>	VIC-CATACAACCTTCATGACTACCATAGCAC TCCATAGTGACATAGAACGAGCTG	(ATG) <sub>11</sub>	234	50	JQ001762	4	0.77	0.63	4
<b>Dpp01</b>	VIC-TGGATTCACACCCCAAATT GTTTCTT-AGAAGTATATAGTGCCGCTTGC	(CA) <sub>6</sub>	149	50	JQ001756	5	0.77	0.73	5
<b>PatMP2-43</b>	PET-ACAGGTAGTCAGAAATGGAAAG GTATCCAGAGTCTTTGCTGATG	(CT) <sub>13</sub>	140	52	JQ001757	8	0.52	0.48	6
<b>Tgu02</b>	VIC-TGGATTACCTGTCTGAAAGACC TTCAGTGTCTAGTCCAACCCTGT	(AT) <sub>10</sub>	188	50	JQ001765	3	0.54	0.52	7, 8
<b>Tgu07</b>	PET-CTTCCTGCTATAAGGCACAGG AAGTGATCACATTTATTTGAATAT	(AC) <sub>14</sub>	108	50	JQ001759	6	0.67	0.6	7, 8
<b>TG04-012</b>	NED-TGAATTTAGATCCTCTGTTCTAGTGTC TTACATGTTTACGGTATTTCTCTGG	(AT) <sub>13</sub>	149	49	JQ001764	3	0.40	0.45	7
<b>TG13-017</b>	PET-GCTTTGCATCTTGCCTTAAA GGTAACTACAACATTCCAACCTCCT	(AT) <sub>14</sub>	312	56	JQ001758	3	0.60	0.63	7

Ref, references for locus isolation and primer sequences

1: Richardson *et al.* 2000, 2: Bulgin *et al.* 2003, 3: Gibbs *et al.* 1999, 4: Kings *et al.* 2005, 5: Dawson *et al.* 1997, 6: Otter *et al.* 1998, 7: Replogle *et al.* 2008, 8: Slate *et al.* 2007



## Acknowledgements

Financial support for this work was provided by the Office Nationale de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS), the Fonds Européens de Développement Régional (FEDER), the Direction Régional de l'Environnement de la Guadeloupe (DIREN 971) and the Conseil Régional de Bourgogne (PARI). We thank M. Gaillard and C. Dubreuil for some advices during the lab work.

## References

- Allendorf FW, Luikart G (2007) *Conservation and the genetics of populations*. Blackwell Publishing, Malden.
- Bulgin NL, Gibbs HL, Vickery P et al. (2003) Ancestral polymorphisms in genetic markers obscure detection of evolutionarily distinct populations in the endangered Florida grasshopper sparrow (*Ammodramus sevannarum floridanus*). *Molecular Ecology*, **12**, 831-844.
- Clement P, Hathway R (2000) *Thrushes*. Christopher Helm, London.
- Dawson RJG, Gibbs HL, Hobson KA et al. (1997) Isolation of microsatellite DNA markers from a passerine bird, *Dendroica petechia* (the yellow warbler), and their use in population studies. *Heredity*, **79**, 506-514.
- Frankham R (2005) Genetics and extinction. *Biological Conservation*, **126**, 131-140.

- Gibbs HL, Tabak LM, Hobson K (1999). Characterization of microsatellite DNA loci for a neotropical migrant songbird, the Swainson's thrush (*Catharus ustulatus*). *Molecular Ecology*, **8**, 1551-1561.
- Hillis, DM, Moritz C, Mable BK (1996) *Molecular Systematics*. 2 edition. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.
- King TL, Eackles MS, Henderson AP *et al.* (2005) Microsatellite DNA markers for delineating population structure and kinship among the endangered Kirtland's warbler (*Dendroica kirtlandii*). *Molecular Ecology Notes*, **5**, 569-571.
- Otter K, Ratcliffe L, Michaud D *et al.* (1998) Do female black-capped chickadees prefer high-ranking males as extra-pair partners ? *Behavioural Ecology and Sociobiology*, **43**, 25-36.
- Palsbøll PJ, Bérubé M, Allendorf FW (2007) Identification of managements units using population genetics data. *Trends in Ecology and Evolution*, **22**, 11-16.
- Rasplus JY, Garnier S, Meusnier S *et al.* (2001) Setting conservation priorities: the case study of *Carabus solieri* (Col. Carabidae). *Genetics, Selection and Evolution*, **33**, S141-S175.
- Raymond M, Rousset F (1995) GenePop version 1.2.: population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, **86**, 248-249.
- Replogle K, Arnold AP, Ball GF *et al.* (2008) The songbird neurogenomics (SoNG) initiative: community-based tools and strategies for study of brain gene function and evolution. *BMC genomics*, **9**, 131.

Richardson DS, Jury FL, Dawson DA *et al.* (2000) Isolation and characterisation of 50 microsatellite loci from the Seychelles warbler (*Acrocephalus sechellensis*), and their cross-species amplification within the Sylviidae family and a range of passerine birds. *Molecular Ecology*, **9**, 2226-2231.

Simonei M, Dawson DA, Gentle LK *et al.* (2009) Characterization of 38 microsatellites loci in the European blackbird, *Turdus merula* (Turdidae, AVES). *Molecular Ecology Resources*, **9**, 1520-1526.

Slate J, Hale MC, Birkhead TR (2007) Simple sequence repeats in zebra finch (*Taenopygia guttata*) expressed sequence tags: a new resource for evolutionary genetic studies of passerines. *BMC genomics*, **8**, 52.

## Chapitre II

---

Variations phénotypiques et génétiques à deux échelles :

L'archipel des Petites Antilles *versus* l'île.

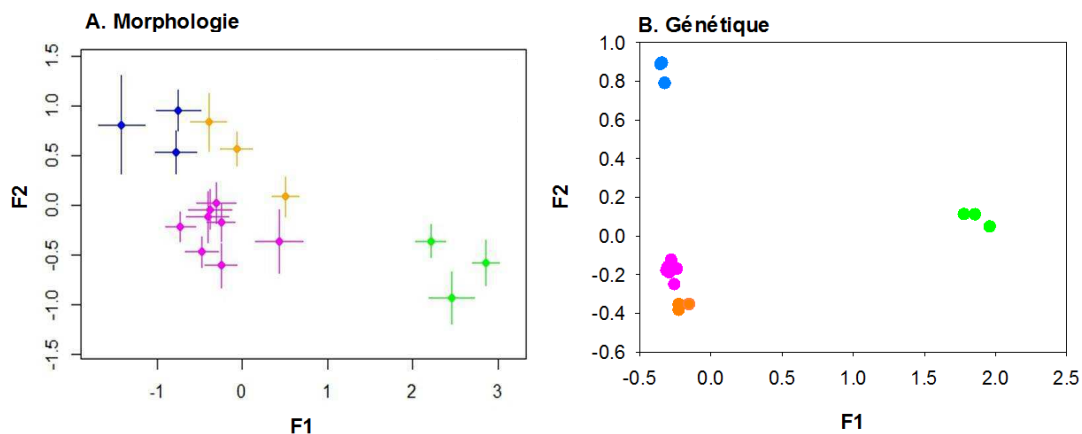


## Chapitre II Variations phénotypiques et génétiques à deux échelles : l'archipel des Petites Antilles versus l'île.

La Grive à pieds jaunes est représentée par quatre morphes définis selon des critères de plumage (Clement & Hathway 2000), lesquels sont considérés comme quatre sous-espèces, chacune rattachée à une île (Montserrat, la Guadeloupe, la Dominique et Sainte-Lucie). Aucune information complémentaire n'a été apportée depuis la description de ces sous-espèces dans les années 1890 excepté le récent rattachement de l'espèce au genre *Turdus* (Voelker *et al.* 2007). Ainsi, l'intérêt de notre étude est d'apporter une expertise sur la structure des oiseaux d'un point de vue phénotypique en incluant des paramètres biométriques (masse, longueur du tarse, longueur de l'aile, longueur de la queue et longueur tête+bec) et d'un point de vue génétique à l'aide de marqueurs moléculaires neutres (microsatellites) à l'échelle des Petites Antilles et au sein de chacune des îles. Ces informations ont pour finalité d'apporter des éléments d'appréciation sur les connexions existantes entre les îles (isolation vs migration), éléments fondamentaux pour la définition d'unités de gestions cohérentes.

Pour nos analyses, les caractéristiques biométriques des individus ont été résumées selon deux axes factoriels fournis par une analyse en composantes principales (ACP). L'axe 1 (F1) regroupait l'ensemble des variables à l'exception de la longueur du tarse représentée sur l'axe 2 (F2). Un score faible sur les axes F1 et F2 était synonyme d'individus corpulents et possédant de longs attributs de vol. La structure génétique des populations a quant-à elle été évaluée sur la base d'une analyse factorielle des correspondances utilisant la présence des allèles à différents locus (0: absence de l'allèle, 1: présence de l'allèle à l'état hétérozygote, 2: présence de l'allèle à l'état homozygote) dont l'interprétation est identique à un estimateur de différenciation génétique de type  $F_{st}$ .

Les résultats témoignent d'une différenciation significative de la morphologie des oiseaux entre les îles. Les individus de la Dominique se révèlent moins corpulents et possèdent des attributs de vol plus réduits que les individus de la Guadeloupe suivis par ceux de Montserrat (Fig. 23A). Une subtile, mais significative différenciation est constatée entre les populations de Guadeloupe avec des oiseaux plus corpulents en Basse-Terre qu'en Grande-Terre (voir Manuscrit 2). Les résultats des analyses de différenciation génétique se révèlent concordants avec les données biométriques précédentes. La population de la Dominique se montre en effet fortement différenciée de celles des deux autres îles, faisant d'elle une entité à part. Il est également intéressant de souligner l'existence d'un niveau de différenciation singulier entre les oiseaux de la Basse-Terre et ceux de la Grande-Terre. Cette différenciation atteint en effet un ordre de grandeur identique à celui observé entre la Basse-Terre et l'île Montserrat (Fig. 23 voir Manuscrit 3).



**Figure 22.** Représentation de la structure morphologique A. et génétique B. chez le Grive à Pieds Jaunes en fonction des îles. En vert la Dominique, En orange la Grande-Terre (Guadeloupe, en rose (la Basse-Terre) et en bleu Montserrat.

Un tel niveau de différenciation a rarement été reporté chez les oiseaux du fait de leur capacité de vol. Toutefois, chez les oiseaux tropicaux, une faible capacité de dispersion a déjà été constatée. A notre connaissance, la Grive à pieds jaunes possède des domaines vitaux

restreints et de faibles amplitudes de déplacement (Encadré 2). Toutefois, cette étude ne nous permet pas d'affirmer que les grives ont de faibles capacités de dispersion d'autant plus que ce suivi a été réalisé en période de reproduction.

Pour résumé, l'origine de cette différenciation pourrait refléter **i)** un phénomène d'isolement géographique limitant les flux de gènes entre les populations créant à la fois de la différenciation phénotypique et génétique liés à la dérive génétique ou différentes pressions de sélection, **ii)** une plasticité phénotypique des individus liée à des environnements très contrastés entre les îles mais également au sein de la Guadeloupe (forêt tropicale de haute altitude en Basse-Terre *versus* forêt marécageuse de bord de mer en Grande-Terre) et enfin **iii)** une divergence phénotypique entre les populations liée à des environnements contrastés et par conséquent des pressions de sélection différentes même en présence d'un flux de gènes.

Une étude plus approfondie sur la différenciation phénotypique au sein de la Guadeloupe a été réalisée en relation avec les conditions environnementales particulièrement contrastées entre Basse-Terre et Grande-Terre. Sur chaque site les valeurs environnementales ont été extraites (altitude, pluviométrie, température, densité forestière, qualité de l'habitat pour la grive, Tab. 2). En effet, les variables environnementales sur nos trois sites échantillonnés sur Grande-Terre (GT1 à GT3) [altitude :  $15 \pm 3$ m, pluviométrie :  $1515 \pm 46$ mm, température:  $25.7 \pm 0.01$ °C, densité forestière :  $0.69 \pm 0.02$ , qualité de l'habitat :  $67 \pm 3$ ] sont assez distinctes de celles observées sur les 8 sites échantillonnés sur Basse-Terre (BT1 à BT8) [altitude :  $340 \pm 79$ m, pluviométrie :  $2730 \pm 135$ mm, température :  $23.6 \pm 0.8$ °C, densité forestière :  $0.84 \pm 0.06$ , qualité de l'habitat :  $77 \pm 3$ ]. Ainsi, nous avons établi les relations entre les variables phénotypiques (masse, longueur du tarse, longueur tête+bec, longueur de l'aile, longueur de la queue, couleur du bec) et les variables environnementales pour les individus de Guadeloupe décrits dans le manuscrit 1.



**Tableau 2.** Description des variables environnementales pour chacun de nos sites d'échantillonnage de Grives à pieds jaunes en Guadeloupe.

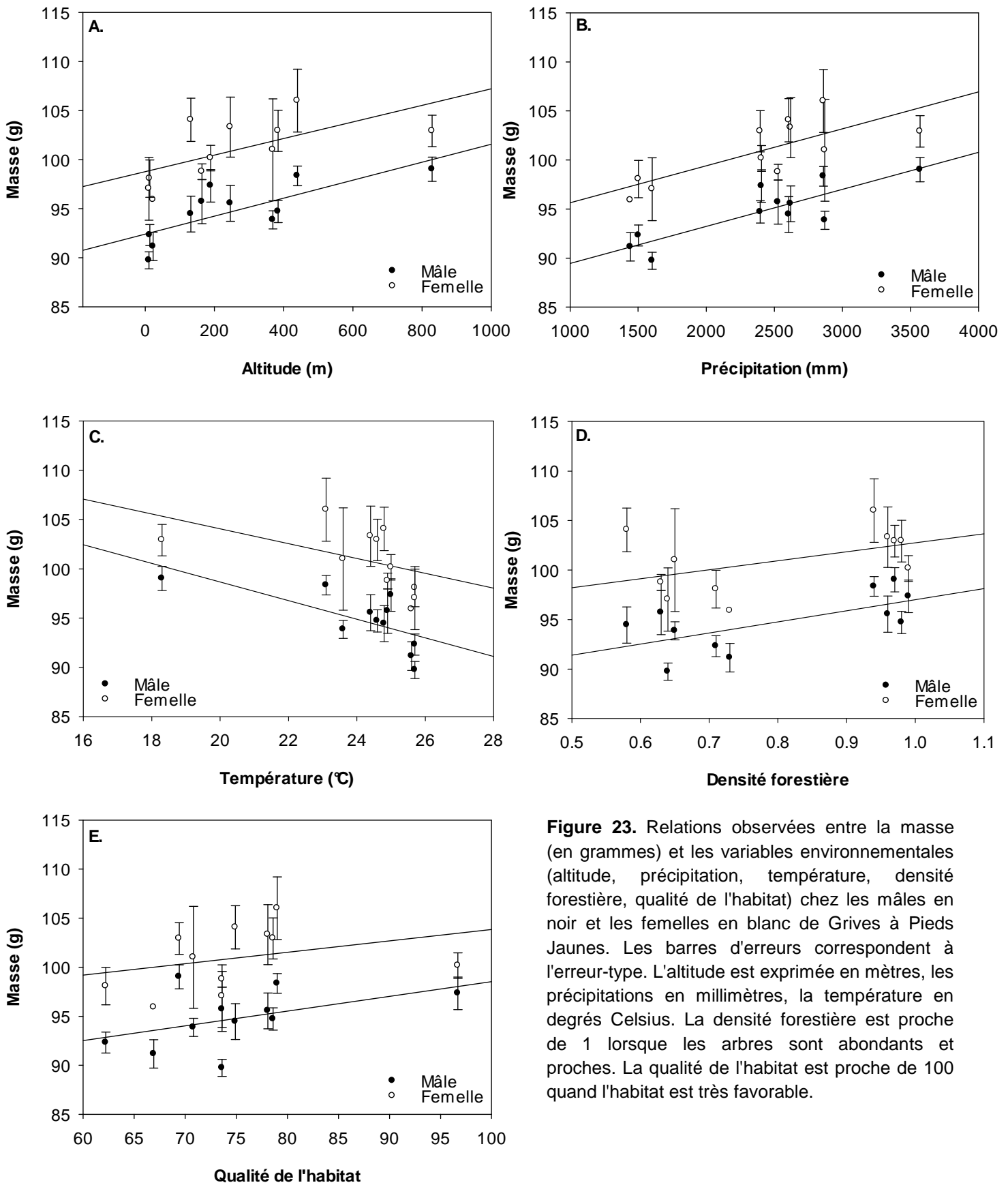
Sites	Altitude	Précipitation	Température	Densité forestière	Qualité de l'habitat
GT1	23	1444	25.6	0.73	66.9
GT2	13	1502	25.7	0.71	62.2
GT3	11	1603	25.7	0.64	73.6
BT1	384	2397	24.6	0.98	78.6
BT2	189	2407	25	0.99	96.7
BT3	246	2621	24.4	0.96	78.09
BT4	132	2607	24.8	0.58	74.9
BT5	164	2528	24.9	0.63	73.6
BT6	369	2872	23.6	0.65	70.8
BT7	440	2862	23.1	0.94	79
BT8	829	3570	18.3	0.97	69.4

L'altitude est exprimée en mètres. Les précipitations et la température ont été récoltées pendant 50 ans et les valeurs correspondent à la moyenne des mesures durant cette période. Les précipitations sont exprimées en millimètres et la température en degrés Celsius. La densité forestière correspond à la surface de forêts recouvrant le sol. La qualité de l'habitat a été modélisée en utilisant les modèles de niche écologique (cf Chap 1, Encadré 1).

**Tableau 3.** Relations entre les variables biométriques, phénotypiques et les variables environnementales.

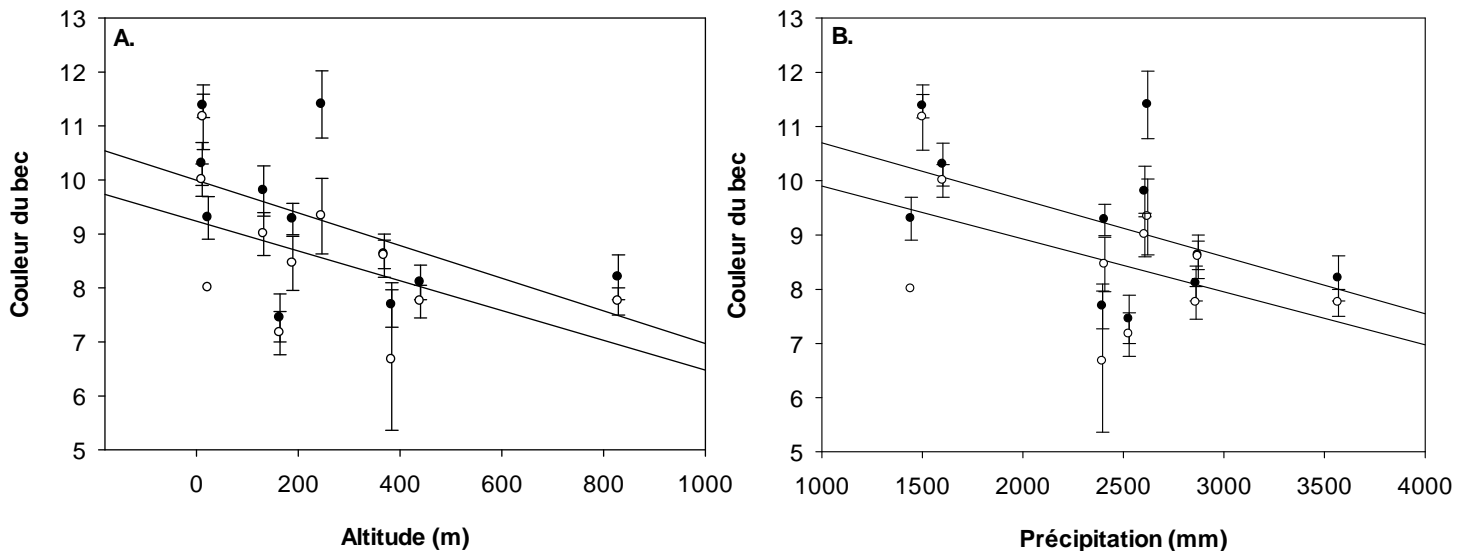
Facteurs	Masse		Tarse		Tête-bec		Aile		Queue		Couleur bec	
	F	P	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
Alt	4.15	<b>0.0006</b>	1.93	0.07	-1.98	<b>0.064</b>	0	0.999	-0.3	0.77	-2.62	<b>0.017</b>
Sexe	6.28	<b>0.0001</b>	-1.82	0.085	3.41	<b>0.003</b>	-2.08	0.052	-0.23	0.823	-1.35	0.193
Alt*Sexe	0.17	0.867	-0.13	0.899	-3.75	<b>0.002</b>	0.37	0.72	-0.42	0.68	0.12	0.9
Prec	5.75	<b>0.0001</b>	3.03	<b>0.007</b>	-1.61	0.125	0.43	0.67	-1.26	0.226	-2.41	<b>0.027</b>
Sexe	7.56	<b>0.0001</b>	-2.03	0.057	3.12	0.006	-2.11	0.049	-0.24	0.816	-1.32	0.202
Prec*Sexe	0.01	0.99	0.04	0.971	-3.09	0.006	0.67	0.513	-0.45	0.655	0.09	0.931
Temp	3.07	<b>0.007</b>	-1.21	0.24	1.56	0.137	0.2	0.84	0.22	0.83	1.71	0.11
Sexe	5.56	<b>0.0001</b>	-1.73	0.1	3.08	<b>0.006</b>	-2.08	0.052	-0.23	0.82	-1.24	0.23
Temp*Sex	0.35	0.73	0.36	0.72	2.99	<b>0.008</b>	-0.32	0.76	0.56	0.59	-0.16	0.87
Dfor	2.84	<b>0.011</b>	1.3	0.21	-0.93	0.367	0.44	0.668	1.18	0.25	-1.11	0.279
Sexe	5.41	<b>0.0001</b>	-1.8	<b>0.088</b>	2.9	<b>0.009</b>	-2.09	0.051	-0.23	0.82	-1.2	0.24
Dfor*Sexe	-0.3	0.767	-1.25	0.226	-2.67	<b>0.015</b>	-0.16	0.871	-0.06	0.95	-0.42	0.68
Qhab	1.79	0.09	1.8	0.088	0.32	0.76	2.23	<b>0.038</b>	0.42	0.68	-1.02	0.321
Sexe	4.88	<b>0.0001</b>	-1.82	0.085	2.52	0.021	-2.38	<b>0.029</b>	-0.23	0.82	-1.19	0.25
Qhab*Sex	0.22	0.83	-0.79	0.44	-1.25	0.23	0.83	0.42	0.63	0.54	-0.25	0.81

Utilisation de modèles linéaires avec comme facteurs fixes: le sexe et une variable environnementale (Alt: Altitude, Prec: Précipitation, Temp: Température, Dfor: densité forestière, Qhab: Qualité de l'habitat) et l'interaction du sexe avec la variable environnementale.



**Figure 23.** Relations observées entre la masse (en grammes) et les variables environnementales (altitude, précipitation, température, densité forestière, qualité de l'habitat) chez les mâles en noir et les femelles en blanc de Grives à Pieds Jaunes. Les barres d'erreurs correspondent à l'erreur-type. L'altitude est exprimée en mètres, les précipitations en millimètres, la température en degrés Celsius. La densité forestière est proche de 1 lorsque les arbres sont abondants et proches. La qualité de l'habitat est proche de 100 quand l'habitat est très favorable.

Peu de variables environnementales sont en relation avec les variables phénotypiques excepté la masse et la couleur du bec (Tab.3). L'altitude, les précipitations, la densité forestière sont corrélées positivement avec la masse à l'inverse de la température (Fig. 24). Par conséquent, les oiseaux corpulents se situent dans des environnements à plus hautes altitudes, plus fortes précipitations, plus fortes densités forestières et plus faibles températures. De plus, les oiseaux avec un bec plus coloré habitent à des altitudes plus faibles et où les précipitations sont également moins élevées (Fig. 25).



l'environnement. Seule la longueur de la queue semble varier avec la densité forestière avec des oiseaux possédant une queue plus longue quand la densité forestière augmente. Plusieurs hypothèses peuvent être fournies à ces résultats: i) le gradient environnemental n'est pas suffisamment échelonné pour être capable de visualiser une relation avec les traits phénotypiques, ii) les traits phénotypiques ne varient pas significativement entre les sites de Basse-Terre, iii) les pressions environnementales ne sont pas assez fortes pour prétendre à de la plasticité phénotypique en Basse-Terre. Concernant les variables de plumage, notre résultat n'est pas en accord avec la littérature qui observe généralement une réduction des attributs de vol avec la densité forestière pour augmenter la manœuvrabilité (Rayner 1988, Winkler & Leisler 1992, Milà et al. 2009). Pour conclure, peu d'éléments nous permettent d'opter pour une éventuelle pression environnementale générant de la différenciation mais il est tout de même surprenant de visualiser une telle différenciation en Guadeloupe que ce soit d'un point de vue phénotypique et génétique sur une distance aussi fine.

## Éléments complémentaires 2: Surface du domaine vital chez la Grive à Pieds Jaunes en Guadeloupe.

### Introduction

L'écologie et le comportement de la Grive à Pieds Jaunes demeurent relativement méconnus. De nombreux aspects fondamentaux pour sa conservation, tels que la taille des domaines vitaux, la fonctionnalité des éléments paysagers qu'ils renferment, ainsi que le rythme d'activité et l'amplitude des déplacements des oiseaux, n'ont jamais fait l'objet d'investigations.

### Matériels et méthodes

Au cours des saisons 2010 et 2011 (avril à juin, 30 oiseaux adultes ont été capturés (voir Chap1) et ont fait l'objet d'un suivi par radio-télémetrie. En 2010, 15 individus répartis sur deux sites localisés en Basse-Terre : Grand-Etang (BT7,  $n=6:2$  mâles:femelles) et le Parc floral de la Valombreuse (BT4,  $n=3:4$ ) ont été équipés de radio-émetteurs de type Biotrack Pip-2 (Fig. 1). En 2011, 15 nouveaux individus capturés sur les sites de Prise d'Eau (BT2,  $n=6:2$ ) et des Premières Chutes du Carbet (proche de BT7,  $n=4:3$ ). Leur suivi, à raison d'une localisation par individu et par jour (matin, midi, soir ; en alternance) s'est achevée fin juin.



**Figure 1.** A. Grive à pieds jaunes équipée d'un radio-émetteur. L'antenne du dispositif est indiquée par une flèche. B. Vue de l'émetteur et de son

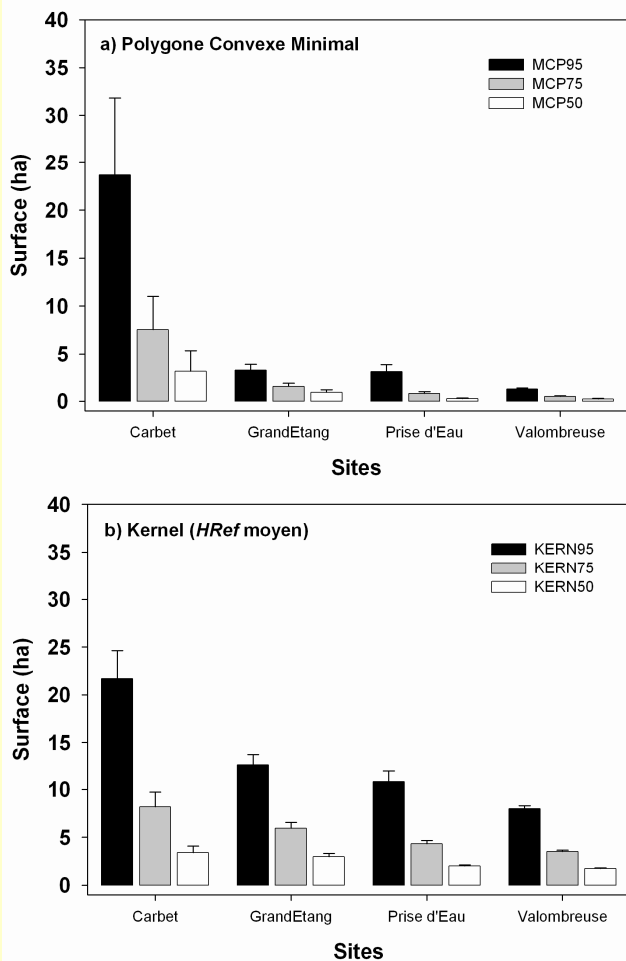
Chaque localisation a été géoréférencée et analysée par Système d'Information Géographique (SIG) afin d'apprécier l'amplitude des déplacements et d'évaluer la taille des domaines vitaux.

Deux approches classiques ont été employées pour évaluer la taille des domaines vitaux des différents individus (Kenward 1987). Il s'agit de la méthodologie des « Polygones convexes minimaux (MCP) » et la méthode des « Kernels » (Worton 1989). Ces analyses ont été conduites selon différents seuils afin d'évaluer les surfaces sur lesquelles se regroupent respectivement la quasi-totalité (i.e. 95%), 75 et 50% des localisations.

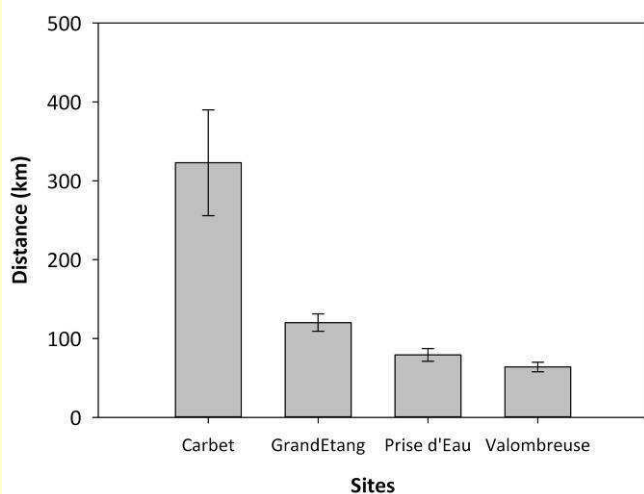
### Résultats

D'une manière générale, les analyses témoignent d'une forte variation de la taille des domaines vitaux entre les sites et ce, quelque soit la méthodologie de calcul considérée (i.e. MCP vs. Kernel). Les domaines vitaux les plus grands ont été observés chez les oiseaux capturés et suivis sur le site des Premières Chutes du Carbet. Les domaines les plus restreints ont quant-à eux été observés chez les oiseaux suivis sur le site du Parc de la Valombreuse (Fig.2). Malgré ces contrastes liés très probablement à des différences paysagères, il ressort que la Grive à pieds jaunes concentre ses activités sur un domaine vital fortement réduit. En effet, 75% des localisations individuelles ont été enregistrées sur une surface inférieure à 8ha (Fig. 3). Si l'on considère uniquement les "noyaux" des domaines, ils n'excèdent pas 3.2 ha. Le détail des localisations individuelles au sein de chaque site montre par ailleurs un fort chevauchement entre les domaines vitaux (Fig. 3). De plus, la distance moyenne entre chaque localisation d'un jour à l'autre est d'en moyenne 63 et 320 mètres avec les plus grands déplacements observés sur le site des chutes du Carbet (Fig.4).

## Eléments Complémentaires 2



**Figure 2.** Taille moyenne des domaines vitaux de Grive à Pieds Jaunes regroupant 95, 75 et 50% des localisations. Les domaines ont été estimés selon a) la méthode des Polygones convexes minimaux et b) la méthode des Kernels avec un coefficient de lissage moyen (Href) identique pour les individus. Les barres d'erreurs figurent l'erreur type de la moyenne (se).



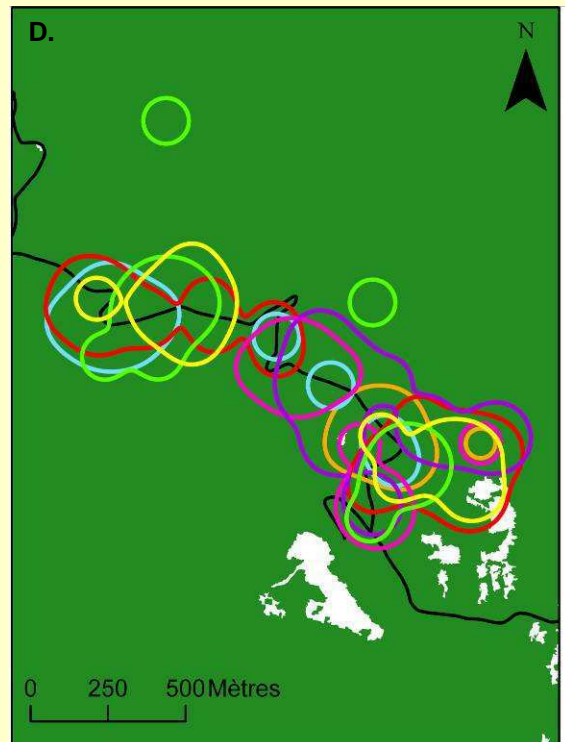
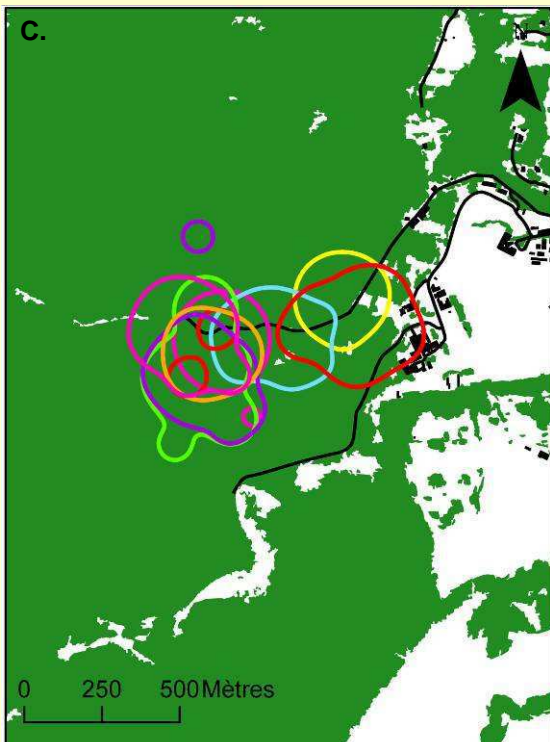
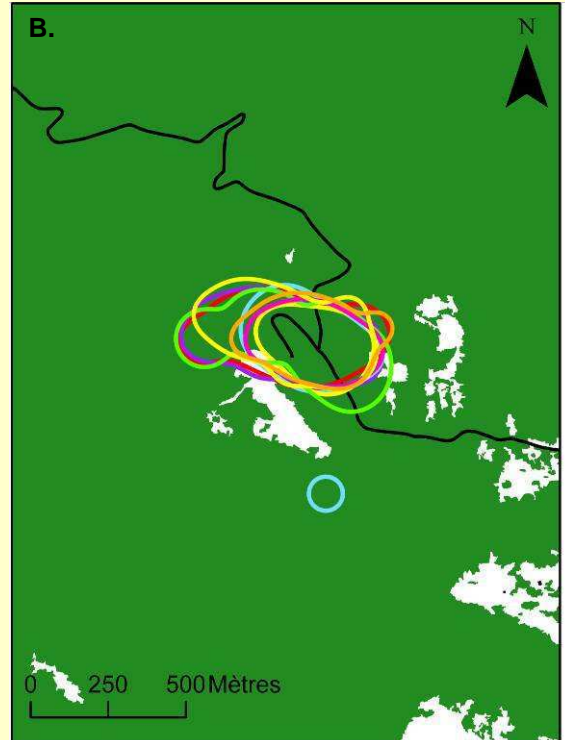
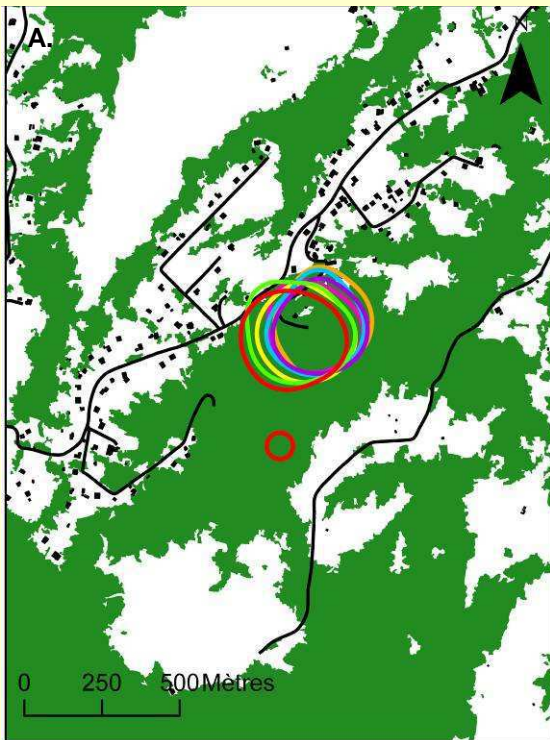
**Figure 4.** Distance moyenne entre chaque localisation successive chez la Grive à Pieds Jaunes. Les barres d'erreurs figurent l'erreur type de la moyenne (se).

## Discussion

La Grive à Pieds Jaunes concède des domaines vitaux restreints et chevauchants même dans les zones où le manteau forestier est préservé. Ceci est concordant avec la littérature qui accorde que les oiseaux tropicaux ont souvent une mobilité réduite et une aversion à sortir de leur milieu d'origine (Sodhi et al. 2004, Harris & Reed 2002, Lees & Peres 2009). De plus les Grives ont l'air de se déplacer peu d'une journée à l'autre avec de faibles distances entre localisations. Une récente étude sur les oiseaux tropicaux a effectivement mis en évidence que les capacités physiques des oiseaux tropicaux ne leur permettaient pas de se déplacer de plus de quelques centaines de mètres (Moore et al. 2008). Les merles à gorge blanche, *Turdus assimilis*, au Costa Rica côtoient à la fois des milieux forestiers et des zones agricoles (plantations de café...) du fait d'une forte fragmentation des habitats (Sekercioglu et al. 2007). Il a été constaté que les domaines vitaux chez ce turdidé étaient plus grands dans les zones forestières continues que dans des zones fragmentées. Leur domaine vital s'étend en moyenne sur 30ha que ce soit en saison sèche ou en saison humide et est comparable à ce que nous observons pour le site des Chutes du Carbet chez la Grive. Toutefois, les domaines vitaux chez la Grive restent petits et ceci pourrait s'expliquer par un suivi réalisé pendant la saison de reproduction qui montrerait une plus forte territorialité. Dans le cas du merle à gorge blanche, la taille de son domaine vital pendant la période de reproduction ne semble pas différent (Cohen & Lindell 2005). Pour finir, la concentration des individus sur la même zone est peut-être associée à des ressources abondantes à cette saison et dans ce milieu.

En conclusion, dans une démarche de protection et de conservation de cette espèce, il sera important de préserver son environnement tel que la matrice paysagère, les ressources alimentaires qui pourrait dans le cas d'une modification brutale avoir des effets néfastes sur cet oiseau.

Eléments Complémentaires 2 (Figures 3)



**Figure 3.** Illustration des densités de probabilité à 95% selon la méthode des Kernels sur chacun des sites **A.** Le Parc de la Valombreuse, **B.** Grand-Etang **C.** Prise d'Eau, **D.** Les Chutes du Carbet. Chaque couleur représente un individu. Les forêts sont représentées en vert, les zones ouvertes en gris, les routes et bâtiments en noir.

# Manuscrit 2

**Phenotypic variation of Forest thrushes in Guadeloupe:  
Evidence for geographic differentiation at fine spatial scale**

Emilie Arnoux<sup>1</sup>, Cyril Eraud<sup>2</sup>, Alban Thomas<sup>2</sup>, François Cavallo<sup>1,2</sup>, Stéphane Garnier<sup>1</sup> and  
Bruno Faivre<sup>1</sup>

Soumis à Journal of Ornithology





*Phenotypic variation at fine scale*

**Phenotypic variation of Forest thrushes in Guadeloupe:  
Evidence for geographic differentiation at fine spatial scale**

Emilie Arnoux<sup>1</sup>, Cyril Eraud<sup>2</sup>, Alban Thomas<sup>2</sup>, François Cavallo<sup>1,2</sup>, Stéphane Garnier<sup>1</sup> and  
Bruno Faivre<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UMR CNRS 6282-Biogéosciences, Equipe Biome, 6 bd Gabriel, 21000 Dijon, France

<sup>2</sup>Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, CNERA Avifaune migratrice, Station  
biologique de Chizé, Carrefour de la Canauderie, 79360 Villiers en Bois, France

Corresponding author: Emilie ARNOUX

Current address: Equipe Biome, UMR CNRS 6282 - Biogéosciences, 6 boulevard Gabriel,  
21000 DIJON, France

E-mail: emilie.arnoux@u-bourgogne.fr

**Abstract**

Spatial differentiation in avian models has been extensively studied at a coarse scale for both theoretical and conservation purposes. Yet, studies at a finer spatial scale are also particularly relevant in birds because their dispersal ability may be much more reduced than expected. In the Forest thrush, we studied morphological characters commonly used to assess differentiation because they mirror both demographic and selective processes. The Forest thrush is an endemic, vulnerable Antillean bird species which has dramatically declined in the last fifteen years, and whose population functioning and structure remain unknown. We compared birds from 11 sites in Guadeloupe, which were distributed 2 to 42 km apart over the two main geographic zones of the island (Grande-Terre and Basse-Terre). Using two synthetic descriptors (for body size and feather size) we detected a strong micro-geographic differentiation between Forest thrush populations for the body-size descriptor but not for the feather-size descriptor. Both males and females were significantly larger in Basse-Terre than in Grande-Terre despite the fine geographic scale. Several hypotheses could explain these results: (i) geographic isolation and differentiation caused by absence of gene flow, (ii) phenotypic plasticity, or (iii) divergence with gene flow. Although further investigation is needed to identify the exact process generating phenotypic divergence, our study provides a first approach to the high local variability of this species.

**Keywords:** morphology, population differentiation, fine spatial scale, Forest thrush, conservation, *Turdus lherminieri*.

## Introduction

Spatial differentiation based on morphological, acoustic, physiological and genetics traits in birds has been extensively studied to address both theoretical and applied issues (Ford 1978, Genovart et al. 2003), including allopatric speciation and island biogeography (Darwin 1859, Whittacker and Fernández Palacios 2007, Losos and Ricklefs 2009). Particular attention has been paid to the evolutionary processes that drive biodiversity through the spatial isolation of populations (Newton 2003, Price 2007). For instance, a better insight into the mechanisms generating diversity through intra-specific divergence leads to a better understanding of the initial steps of speciation. In addition, it is often of prime interest to depict the spatial distribution and heterogeneity of intra-specific diversity in order to elaborate guidelines and decision rules for population management and conservation planning (Whittacker and Fernández Palacios 2007, Frankham et al. 2009). For example, the accuracy and relevance of conservation projects of emblematic and/or endangered species have benefited from such as knowledge (Burbidge et al. 2003, Luo et al. 2010).

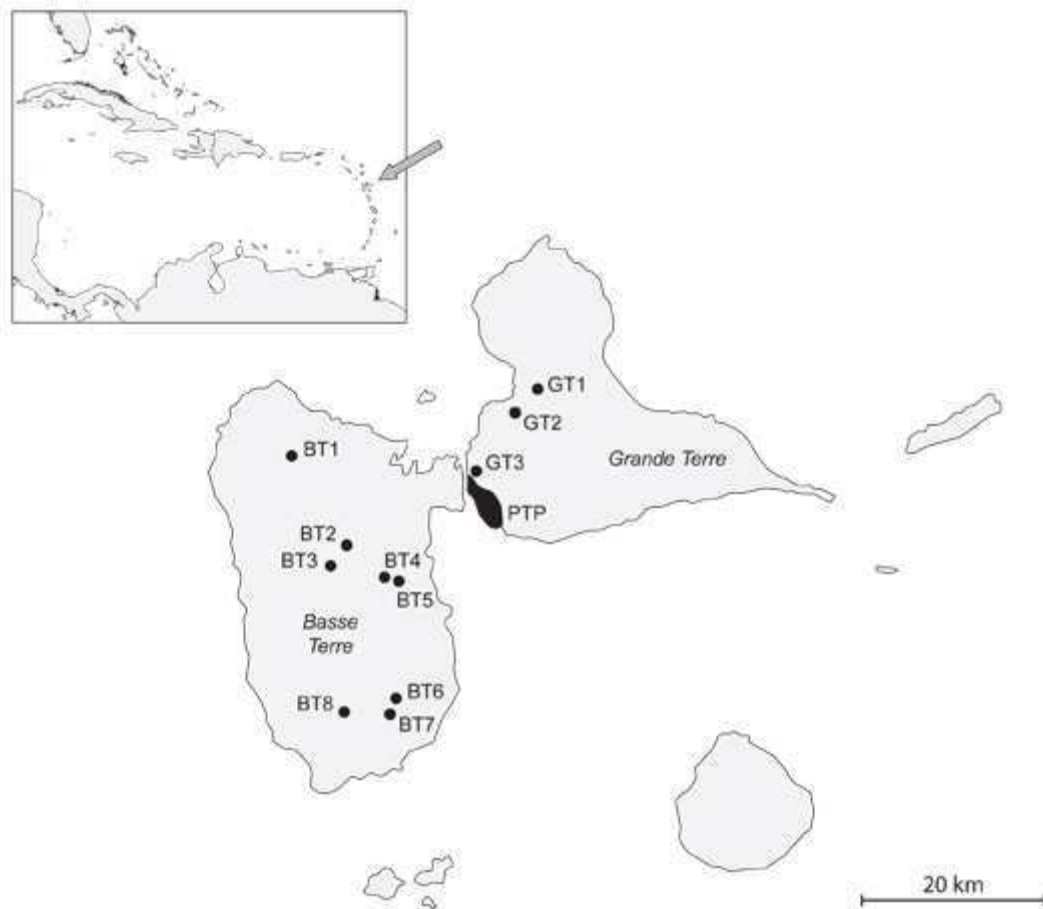
Spatial patterns of intra-specific diversity in traits under genetic control are determined by three fundamental evolutionary forces: genetic drift, migration (*i.e.* gene flow) and natural selection (Slatkin 1981). While genetic drift and natural selection are expected to generate differentiation between populations, migration tends to homogenize populations (Allendorf 1983). Hence, the relative strength of these forces determines the degree of differentiation (Rice and Hostert 1993, Pinho and Hey 2010).

Evidence of intra-specific differentiation in birds has mainly come from studies at a large spatial scale or from comparisons between islands as these contexts facilitate differentiation by reducing gene flow (Hewitt 2000, Santiago-Alarcon and Parker 2006, Losos and Ricklefs 2009). Conversely, few studies have investigated differentiation at fine spatial scales (*e.g.*

Chan and Arcese 2003, Mila *et al* 2010) because dispersal abilities in birds is usually expected to homogenize the population at such scales (Hendry *et al.* 2001).

While genetic data allow assessment of genetic drift and gene flow, complementary approaches such as those based on phenotypic expression are also relevant, in particular when traits under scrutiny are related to fitness and evolutionary processes (Chan and Arcese 2003, Santiago-Alarcon and Parker 2006). Among these traits, morphological characters are commonly used to assess differentiation because they mirror both demographic and selective processes (Moller and Cuervo 1998). Indeed, morphological characters are heritable (Jensen *et al.* 2003), they influence individual performances (Arnold 1983, Davies *et al.* 1988, Barbraud 1999), and face strong environmental pressures (Owen and Cook 1977).

Here we report fine-scale phenotypic variation in the Forest thrush *Turdus lherminieri*. This species is endemic to the Lesser Antilles, where its distribution range encompasses four islands (Guadeloupe, Montserrat, Santa Lucia and Dominica). Each island is considered to have subspecies according to colouration patterns (Clement and Hathway 2000). Overall, populations have dramatically declined over the last 15 years and the species is now classified as vulnerable according to the IUCN Red List. However, fundamental ecological traits are poorly known (Bénito-Espinal and Hautcastel 2003). Therefore, population management strategies conducted on each island - especially those where thrush populations are assumed to be quite large, like Guadeloupe - could be crucial for the future of this species. In this context, a better picture of the population heterogeneity at different scales, including at the within island scale will be useful for management guidelines (Dreschler *et al.* 2007). In the present study we compared a set of morphological traits for sites throughout Guadeloupe. Sample sites were from 2 to 42 km apart, allowing us to explore differentiation along a distance gradient.



**Figure 1.** Inset of Caribbean islands indicating Guadeloupe. Map of Guadeloupe and sampling sites in Grande-Terre (GT1 to GT3) and in Basse-Terre (BT1 to BT8). The black area is Pointe-à-Pitre and suburb (**PPT**) : **GT1**: Petit-Canal (1/10), **GT2**: Geffrier (12/24), **GT3**: L'Alliance (3/9), **BT1**: Sofaia (3/19), **BT2**: Prise d'Eau (9/14), **BT3**: La Traversée (6/15), **BT4**: Valombreuse (7/10), **BT5**: Petit-Bourg (6/9), **BT6**: Routhiers (5/8), **BT7**: Grand-Etang (8/15), **BT8**: La Soufrière (12/10). Sample sex-ratio (F/M) is given in brackets.

## Methods

### *Study sites*

We conducted our study in Guadeloupe (Lesser Antilles, at latitude 16°15' north, at longitude 61°35' west, Fig. 1) from April to June 2010. First, to determine the geographic distribution of the species, census points were regularly distributed over the forested areas of the island. At each point, birds were detected through direct observation, their spontaneous vocal activity, and their reaction to play-back of song and calls. Then, 11 sites (from 2 to 5 Ha) were thus selected for sampling (Fig. 1). Guadeloupe is composed of two distinct geographic zones (namely Basse-Terre and Grande-Terre), connected by a narrow and almost entirely urbanized isthmus (Fig. 1). The number of sampling sites was adapted to the population density in these zones, as the Forest thrush is more common in Basse-Terre than in Grande-Terre, (Basse-Terre (BT):  $n=8$ , Grande-Terre (GT):  $n=3$ ). The breeding habitat of the Forest thrush in Basse-Terre is a continuous rain-forest ranging from low altitudes (110 m. asl) to the summit of the island (more than 1400 m. asl). In Grande-Terre, the species is mainly found in wet coastal forests.

### *Birds capture and measurements*

Birds were captured using mist-nets, banded with numbered aluminium rings and released after measurements and blood sampling. For each bird, one drop of blood was collected from the brachial vein (using sterile needles and microcapillaries) and deposited in a Queen's Lysis Buffer for molecular sex determination based on a polymerase chain reaction (Friedolfsson and Ellegren 1999). Six morphological traits were measured: body mass (Pesola MS-500  $\pm$  0.1 g.), unflattened wing chord length (wing ruler  $\pm$  0.5 mm.), tarsus length, tail length and head + bill length (electronic caliper  $\pm$  0.01mm). In addition, the colour of the lower mandible was scored in reference to a Yolk Colour Fan (DSM Nutritional Products, Neuilly-sur-Seine, France). Bill scores ranged from 1 (pale yellow) to 15 (dark orange). A previous study on the

Blackbird, *Turdus merula*, has shown that bill score measurements are highly repeatable and consistent with the measurements obtained with a spectrophotometer (Faivre et al. 2001). All measurements were performed by the same observer (E.A.) under standardized conditions.

#### Statistical analyses

We used Principal Component Analysis (PCA) to provide a synthetic description of morphology and its variability. Prior to PCA, all morphological variables were log-transformed (Santia-Alarcon and Parker 2006). As we found a clear evidence for sexual dimorphism in this species (MANOVA, sex effect:  $F_{5,210}=25.92$ ,  $P<0.001$ , Appendix 1), a PCA was separately performed for each sex. For each PCA, only components with eigenvalues  $\geq 1$  were retained for analysis. Eigenvectors were rotated using varimax rotation and retained when the explained variance was higher than that of unrotated components. Coordinates for each individual on the first two PCs from each PCA (one for each sex) were retained for subsequent analyses. As bill colour differed significantly between sexes (t-test,  $t=1.25$ ,  $P = 0.0162$ ), a separate analysis was performed for each sex.

To assess morphological and bill colour differentiation between sites (BT1 to BT8, GT1 to GT3) and between geographic zones (Basse-Terre vs Grande-Terre), generalized linear mixed models (GLMM) were performed using individuals' coordinates on PC1, PC2 and bill colour scores as dependent variables. The geographic zone was defined as a fixed factor, and the site was declared as a random factor nested in a "geographic zone".

When phenotypic variables (PC1, PC2, and colour) varied spatially (between sites and/or zones), we assessed the relationship between phenotype differentiation and geographic distances among sites. Theory predicts that increasing distances between populations should result in increasing phenotypic divergence (Hendry et al. 2001). Therefore, the correlation between the matrices of geographic distances (in kilometers) and phenotypic divergence among pairs of sites was tested for each phenotypic variable and each sex, using Mantel tests.



Phenotypic distances were calculated as the difference between mean PC scores or bill score for each pair of sites. Because altitude is an environmental feature that may affect body size and morphology, we used the same approach than above to test correlations between phenotypic distance matrices and the altitude distance matrix. Altitude distance between two sites was simply the difference between altitude (in meters asl) of the two sites.

As the highest distances between sites separate sites located in different geographical zones (Grande-Terre *versus* Basse-Terre), the effect of geographic distance is difficult to dissociate from the inherent difference between the two zones. In order to control for this confounding effect, we assessed the degree of association between geographic and phenotypic distances after controlling for the effect of the geographic zone using partial Mantel tests. This third binary matrix was composed by 0 for couple of sites located on the same zone (BT *vs* BT and GT *vs* GT) and by 1 for couple of sites located on different zone (BT *vs* GT). These tests were performed only when simple Mantel tests detected significant associations. A similar approach was performed to dissociate altitude effects from geographical zone effects, if simple Mantel test between altitude matrix and phenotypic matrices show significant correlations.

All Mantel tests were performed using Vegan 1.17-4 package on software R.2.10.1 (2009, The R Foundation for Statistical Computing) while other analyses were performed using JMP 7.0.1 (2007, SAS Institute Inc).

## **Results**

A total of 214 birds were captured for the 11 sites (Fig. 1). Overall, the sex-ratio was male-biased (n=143), probably because of the use of play-back during capture in order to maximize capture efficiency.

### *PCA results*

PCA was performed first on 143 males and then on 71 females. For males, PC1 explained 36% of the total variance and PC2 explained 25%. Body mass, tarsus length and head+bill length correlated positively with PC1, whereas wing length and tail length correlated positively with PC2 (Tab. 1). For females, PC1 explained 36% and PC2 explained 27% of the total variance. However, wing and tail lengths in females correlated positively with PC1, whereas body mass, tarsus length, and to a lesser extent head+bill length correlated positively with PC2 (Tab. 1). Therefore, for males, PC1 can be seen as a body-size descriptor and PC2 can be seen as a feather-length descriptor whereas for females, PC1 indicates feather length and PC2 indicates body size. Therefore, in both males and females, high scores on the first two PCs depict birds with large bodies and long feathers.

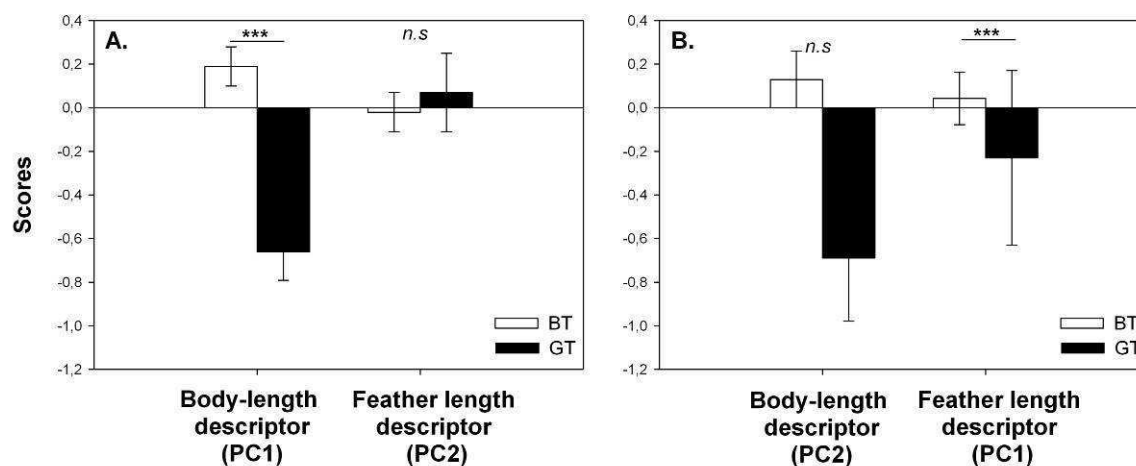
**Table 1.** Principal component (PC) coefficients for five morphological variables in male ( $n=143$ ) and female ( $n=71$ ) Forest thrushes sampled in Guadeloupe. PC coefficients represent the correlations of each variable with the principal components

Variables	Male		Female	
	PC1	PC2	PC1	PC2
Weight	0.72	0.30	0.25	0.75
Tarsus length	0.73	0.003	-0.22	0.81
Wing length	0.19	0.82	0.83	0.29
Head + Bill length	0.70	-0.05	0.33	0.35
Tail length	-0.07	0.87	0.88	-0.19

*Geographic distance and phenotypic differentiation*

In males, PC1 scores contrasted significantly between geographic zones (Tab. 2), with males being larger in the BT zone than in the GT zone (Fig. 2A). In addition, the three descriptors showed a significant variation between sampling sites. Mantel tests revealed that phenotypic divergence increased with increasing geographic distances, but this only concerned body size (PC1, Mantel test:  $r=0.40$ ,  $P=0.009$ ). Relationships between morphological and geographic distances was neither observed for feather characteristics (PC2, Mantel test:  $r=0.08$ ,  $P=0.29$ ) nor for bill colour (Mantel test:  $r=0.04$ ,  $P=0.35$ ). However, the correlation between PC1 scores and distances no longer remained significant after controlling for geographic zone (partial Mantel test:  $r=0.08$ ,  $P=0.23$ ). Therefore, body size divergence is predicted by geographical zone but not by geographical distances.

In females, as with males, body size (PC2) contrasted significantly between geographic zones, with females being larger in the BT zone than in the GT zone (Tab. 2, Fig. 2B). A significant site effect was detected only for bill colour. However, we found no evidence that the degree of phenotypic divergence correlated with geographic distances (PC2, Mantel test:  $r=0.18$ ,  $P=0.18$ ; bill score, Mantel test:  $r=0.16$ ,  $P=0.16$ ). Therefore, as with males, variation in female body size is explained by geographical zone, and not by geographical distances.



**Figure 2.** Morphological differences between geographic zones (Basse-Terre vs Grande-Terre) for each sex (**A.** Male (n=143), **B.** Female (n=71)). Comparison of mean scores ( $\pm$  SE) on principal components 1 (body size descriptor for males and feather length descriptor for females) and 2 (feather-length descriptor for males and body size descriptor for females). \*\*\* : significant effect ( $p < 0.007$ ) of geographical zone.

**Table 2.** Results of generalized linear mixed models used to test for spatial variation in body-size descriptor (principal component (PC) 1 and 2 for males and females respectively), feather-length descriptor (PC2 and PC1 for males and females respectively), and bill colour. Geographic zone (Basse-Terre vs Grande-Terre) was defined as a fixed factor, and site defined as a random factor nested in geographic zone.

Factors	PC1		PC2		Bill colour	
	F	<i>p</i>	F	<i>P</i>	F	<i>P</i>
<b>Males</b>						
Geographic zone	$F_{1,131}=11.14$	<b>0.007</b>	$F_{1,131}=0.48$	0.500	$F_{1,131}=1.98$	0.190
Site	$F_{10,131}=1.95$	<b>0.040</b>	$F_{10,131}=3.06$	<b>0.002</b>	$F_{10,131}=10.96$	<b>&lt;0.0001</b>
<b>Females</b>						
Geographic zone	$F_{1,57}=0.32$	0.580	$F_{1,57}=8.12$	<b>0.006</b>	$F_{1,57}=2.0$	0.175
Site	$F_{10,57}=1.62$	0.130	$F_{10,57}=0.35$	0.970	$F_{10,57}=4.85$	<b>&lt;0.0001</b>

### *Geographic distance and phenotypic differentiation*

Among correlations between phenotypic matrices and altitude matrix, Mantel test showed that phenotypic distance increased with altitude distance only for male body size only (PC1, Mantel test:  $r=0.29$ ,  $P=0.02$ ; all other  $P_s \geq 0.65$ ). However, this correlation vanished after controlling for geographic zone (partial Mantel test:  $r=0.19$ ,  $P=0.09$ ), showing that body size divergence is predicted by geographical zone but not by altitude distances.

### **Discussion**

Our study revealed a clear micro-geographic morphological differentiation among Forest thrush populations on Guadeloupe. This differentiation mainly implied a significant contrast between the two geographic entities forming the Guadeloupe Island (i.e. Basse-Terre vs. Grande-Terre). Birds were significantly larger in Basse-Terre than in Grande-Terre, despite the small underlying geographic scale (inter-sites distances varying from 12 to 42 Km for pairs of sites GT vs BT). In addition, males' feathers length varied among sites only. Bill colour was more orange in males than in females, and differed according to sites in both sexes (analyzing bill colour variation using a single model including a sex effect provided identical qualitative results). To our knowledge, few studies have previously reported such fine-scaled morphological differentiation in avian models (Chan and Arcese 2003, Mila et al. 2010). Several non-mutually exclusive hypotheses can be formulated to explain this pattern in our study model.

A first hypothesis is that limited gene flow may have caused isolation of populations, therefore promoting differentiation through drift or different selective regimes (Mayr 1942, Slatkin 1985, Coyne and Orr 2004). In Guadeloupe, the two geographic zones are connected by an isthmus covered by the western part of Point-à-Pitre and suburbs (see Fig. 1). This urbanized area has expanded rapidly over the past 50 years, and the isthmus is now fully

urbanized over half of its length (2 km) and its entire width (4 km). Although the Forest thrush has the flight ability to disperse over a range of distances higher than those separating Guadeloupean populations (at least the closest ones), the unsuitable habitat separating Basse-Terre and Grande-Terre might represent a behavioral barrier for dispersers. Noticeable discrepancies between potential and realized dispersal have been observed in birds, even at fine spatial scales (Harris and Reed 2002) and recent experimental studies on tropical forest birds provide compelling evidence that some species are reluctant to emigrate beyond a few hundred meters covered by unfavorable habitats (Ferraz et al. 2007, Moore et al. 2008). Dispersal abilities are thought to be associated with species ecological characteristics and life history traits (Harris and Reed 2002, Moore et al. 2008). More precisely, specialists, understory-dwellers, tropical or sedentary species are usually associated with poor dispersal abilities in comparison to generalists, canopy, temperate and/or migratory species (Harris and Reed 2002, Moore et al. 2008). Interestingly, current knowledge on the ecology and life-history of the Forest thrush (Bénito-Espinal and Hautcastel 2003) and an ongoing radio-tracking survey (unpublished data) suggest that this species belongs to the poor disperser category.

Besides its ecological and life-history traits, other factors may also lead to poor dispersal in the Forest thrush. For instance, natural selection against immigrants might limit the occurrence of disperser phenotypes, ultimately leading to reproductive isolation (Nosil et al. 2005), providing that individuals immigrating in one zone are adapted to the other one. A reduced dispersal is also a common characteristic of insular birds and it is one component of the so-called insular syndrome (Diamond 1983, Grant 1998, Blondel and Charmantier 2006). However, this syndrome does not imply any spatial structure in differentiation and it can not explain the clear pattern (Grande-Terre vs Basse-Terre) observed here.

Assuming that environmental constraints differ between populations, a second plausible hypothesis is that phenotypic divergence may have proceeded in the absence of geographic isolation of populations, but through two putative mechanisms: phenotypic plasticity or divergence with gene flow. Both imply that habitats of divergent populations are ecologically contrasted. However, if phenotypic plasticity is not associated with genetic differentiation (Trussel et al. 2001), divergence with gene flow supposes divergent selection pressures overriding homogenization due to gene flow (Rice and Hostert 1993). This last process is expected to lead to local adaptation, namely that the development of the morphological traits results from the differentiation of genes under selection. Sampling sites from Grande-Terre and Basse-Terre show clear environmental contrasts. Climate is more rainy and colder in Basse-Terre than in Grande-Terre partly because of the higher elevation in the southern half of the island. In addition, Forest thrush lives in a continuous and rain forest in Basse-Terre, whereas it mainly occurs in coastal wet forests (often secondary growth and fragmented) in Grande-Terre. Overall, these ecological contrasts may have imposed divergent selective regimes. However, in the absence of genetic data, we cannot disentangle the role of phenotypic plasticity from that of local adaptation to explain phenotypic differentiation between geographic entities. Both mechanisms have been proposed to explain phenotypic divergence at fine spatial scale in birds. For instance, Nicholls et al. (2006) found differences in vocalizations between sites in the Satin bowerbird *Ptilonorhynchus violaceus*. Males matched their vocalizations to the environment where they lived, but these phenotypic differences were not consistent with any genetic differentiation. Conversely, few studies have revealed divergence with gene flow at fine geographic scale, despite the numerous studies stimulated by this model in the framework of sympatric speciation (de León et al. 2010). Compelling evidence has come from studies on the Blue tit *Cyanistes caeruleus* (Blondel et al. 1999, Blondel and Charmantier 2006) and the Mascarene grey white-eye *Zosterops*

*borbonicus* (Mila et al. 2010). Corsican blue tits were shown to display marked differences in breeding and morphological traits between sites from 25 to 40 km apart. Because habitats were highly contrasted between sites (i.e. evergreen vs. deciduous forest), selection regimes were shown to differ markedly, leading to local adaptation mirrored by spatial divergence in morphological and genetic attributes (Blondel et al. 1999, Blondel and Charmantier 2006). A similar process was advanced to explain why on Reunion Island, Mascarene grey white-eyes were larger and had smaller beaks in the highlands than those inhabiting the lowlands, suggesting the role of selection in shaping morphology (Mila et al. 2010).

Morphological traits measured in the Forest thrush have been previously demonstrated to be heritable (Smith and Dhondt 1980, Schluter and Smith 1986) and related to fitness in several bird species (Alatalo et al. 1990, Ellegren and Sheldon 2008). Hence to some extent, divergent selection pressures in Grande-Terre and Basse-Terre could have produced the pattern of phenotypic divergence observed in our study. For example, colder temperature (due to higher elevation) might have selected larger morphs in Basse-Terre in accordance with the Bergman's rule (Mila et al. 2010). However, our results do not support this view because altitude differences and phenotypic distances between sites are not correlated. Otherwise, larger body sizes in Basse-Terre could reflect higher resources availability and quality than in the more fragmented forest of Grande-Terre.

Spatial variation in nutritional resources or parasites present in environment may also explain the significant variation between sampling sites for dynamical traits such as feather length and bill colour, which mirror individual condition during their elaboration (Hamilton 1961, Faivre et al. 2003, Lòpez et al. 2011). It is worth noting that a similar mechanism has been previously evoked as a plausible explanation of the spatial variation recorded in wing length and bill colouration in the Blackbird *Turdus merula* (Grégoire et al. 2004, Evans et al. 2009).



In conclusion, the Guadeloupean Forest thrush offers a convincing example of microgeographic differentiation, and our results underline the interest of insular context to explore morphological divergence at fine scale. Further investigation is clearly needed and especially molecular approaches, to highlight the exact process driving phenotypic divergence between Forest thrushes from the two geographic zones, as well as the variability among sites. In addition to disentangle the competing hypotheses, molecular approaches are also expected to provide valuable data for elaborating management and conservation rules for this vulnerable species.

### **Acknowledgements**

Financial support for this work was provided by the Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS), the Fonds Européens de Développement Régional (FEDER), the Guadeloupe National Park (PNG), the Direction de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement de la Guadeloupe (DEAL 971), and the Conseil Régional de Bourgogne. Bird sampling has been done with permits from several organizations: PNG (Autorisation n°10-11), DEAL (N°13616\*01), ONCFS (Autorisation N°2010-001), the Parc de la Valombreuse. We thank E. Bénito-Espinal, A. Levesque, G. Leblond who shared their knowledge on the Forest thrush and its breeding sites, and provided help for fieldwork. Thanks to F. Duzon, I. Rivault, F. Omnès-Daeron, V. Guérineau, and M. Coco for their help. We are grateful to Carmela Chateau and Mark Gillingham for the comments on the manuscript.

---

**References**

- Alatalo RV, Gustafsson L, Lundberg A (1990) Phenotypic selection on heritable size traits: environmental variance and genetic response. *Am. Nat* 135:464-471.
- Allendorf FW (1983) Isolation, gene flow and genetic differentiation among populations. In: Schonewald-Cox CM, Chambers SM, MacBryde B, Thomas WL (Eds.), *Genetics and Conservation: A Reference for Managing Wild Plant and Animal Populations*. Benjamin/Cummings, New York, pp. 51–66.
- Arnold SJ (1983) Morphology, performance and fitness. *Am Zool* 23:347-361.
- Barbraud C (1999) Natural selection on body size traits in a long-lived bird, the snow petrel *Pagodroma nivea*. *J Anim Ecol* 13:81-88.
- Benito-Espinal E, Hautcastel P (2003) Les oiseaux des Antilles et leur nid. PLB Editions. Guadeloupe. 230-231.
- Blondel J, Dias PC, Perret P, Masitread M, Lambrechts MM (1999) Selection-based biodiversity at a small spatial scale in a low-dispersing insular bird. *Science* 285:1399-1402.
- Blondel J, Charmentier A (2006) Population differentiation on islands: a case study using blue tits in habitat mosaics. *Acta Zool Sin* 52(Supplement):267-270.
- Burbidge ML, Colbourne RM, Robertson HA, Baker AJ (2003) Molecular and other biological evidence supports the recognition of at least three species of brown kiwi. *Cons. Gen* 4:167-177.
- Chan Y, Arcese P (2003) Morphological and microsatellite differentiation in *Melospiza melodia* (Aves) at a microgeographic scale. *J Evol Biol* 16:939-947.
- Clement P, Hathway R (2000) Thrushes. Christopher Helm, London.
- Coyne JA, Orr HA (2004) Speciation. Sinauer Associate, Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts, USA

- Darwin C (1859) *The Origin of Species by Means of Natural Selection or the Preservation of Favored Races in the Struggle for Life*. John Murray, London.
- Davies JC, Rockwelland RF, Cooke F (1988) Body-size variation and fitness components in Lesser Snow Geese (*Chen caerulescens caerulescens*). *Auk* 105:639-648.
- De León LF, Bermingham E, Podos J, Hendry AP (2010) Divergence with gene flow as facilitated by ecological differences: within-island variation in Darwin's finches. *Phil Trans R Soc B* 365:1041-1052.
- Diamond JM (1983) Flightness and fear of flying in island species. *Nature* 293:507-508.
- Drechsler M, Wätzold F, Johst K, Bergmann H, Settle J (2007) A model-based approach for designing cost-effective compensation payments for conservation of endangered species in real landscapes. *Biol Cons* 140:174-186.
- Ellegren H, Sheldon BC (2008) Genetic basis of fitness differences in natural populations. *Nature*. 452:169-175.
- Evans KL, Gaston KJ, Sharp SP, McGowan A, Hatchwell BJ (2009) The effect of urbanisation on avian morphology and latitudinal gradients in body size. *Oikos* 118:251-259.
- Faivre B, Preault M, Théry M, Secondi J, Patris B, Cézilly F (2001) Breeding strategy and morphological characters in an urban population of blackbirds, *Turdus merula*. *Anim Behav* 61:969-974.
- Faivre B, Grégoire A, Préault M, Cézilly F, Sorci G (2003) Immune Activation Rapidly Mirrored in a Secondary Sexual Trait. *Science* 300:103.
- Ferraz G, Nichols JD, Hines JE, Stouffer PC, Bierregaard Jr RO, Lovejoy TE (2007) A large-scale deforestation experiment: effects of patch area and isolation on amazon birds. *Science* 315:238-241.

- Ford J (1978) Geographic isolation and morphological and habitat differentiation between birds of the Kimberley and the Northern Territory. *Emu Austral Ornitho* 78:25-35.
- Frankam R, Ballou JD, Briscoe DA (2009) *Introduction to Cons Genet*. 2<sup>nd</sup> edition, Cambridge university press.
- Friedolfsson AK, Ellegren H (1999) A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *J Avian Biol* 30:116-121.
- Genovart M, Oro D, Bonhomme F (2003) Genetic and morphological differentiation between the two largest breeding colonies of Audouin's Gull *Larus audouinii*. *Ibis* 145:448-456.
- Grant PR (1998) *Evolution on islands*. Oxford University Press.
- Grégoire A, Prévault M, Cézilly F, Wood MJ, Pradel R, Faivre B (2004) Stabilizing natural selection on the early expression of a secondary sexual trait in a passerine bird. *J Evol Biol* 17:1152-1156.
- Hamilton TH (1961) The adaptive significances of intraspecific trends of variation in wing length and body size among bird species. *Evolution* 15:180-195.
- Harris RJ, Reed JM (2002) Behavioral barriers to non-migratory movements of birds. *Annales Zoologici Fennici* 39:275-290.
- Hendry AP, Day T, Taylor EB (2001) Population mixing and the adaptive divergence of quantitative traits in discrete populations: a theoretical framework for empirical tests. *Evolution* 55:459-466.
- Hewitt G (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*. 405:907-913.
- Jensen H, Sæther BE, Ringsby TH, Tufto J, Griffith SC, Ellegren H (2003) Sexual variation in heritability and genetic correlations of morphological traits in house sparrow (*Passer domesticus*). *J Evol Biol* 16:1296-1307.

- López G, Soriguier R, Figuerola J (2011) Is bill colouration in wild male blackbirds (*Turdus merula*) related to biochemistry parameters and parasitism? *J Ornithol* 152:965-973.
- Losos JB, Ricklefs RE (2009) Adaptation and diversification on islands. *Nature* 457:830-836.
- Luo SJ, Johnson WE, O'Brien SJ (2010) Applying molecular genetics tools to tiger conservation. *Int Zool* 5:351-362.
- Mayr E (1942) *Systematics and the Origin of Species*. Harper and Brothers, New York.
- Mila B, Warren BH, Heeb P, Thébaud C (2010) The geographic scale of diversification on islands: genetic and morphological divergence at a very small spatial scale in the Mascarene grey white-eye (Aves: *Zosterops borbonicus*). *BMC Evol Biol* 10:158-171.
- Møller AP, Cuervo JJ (1998) Speciation and feathers ornamentations in birds. *Evolution* 52:859-869.
- Moore RP, Robinson WD, Lovette IJ, Robinson TR (2008) Experimental evidence for extreme dispersal limitation in tropical forest birds. *Ecol Letters*. 11:960-968.
- Newton I (2003) *Speciation and biogeography of birds*. Academic Press.
- Nicholls JA., Austin JJ, Moritz C, Goldizen AW (2006) Genetic population structure and call variation in a passerine bird, the satin bowerbird, *Ptilonorhynchus violaceus*. *Evolution* 60:1279-1290.
- Nosil P, Vines TH, Funk DJ (2005) Reproductive isolation caused by natural selection against immigrants from divergent habitats. *Evolution* 59:705-719.
- Owen M, Cook WA (1977) Variations in body weight, wing length and condition of Mallard *Anas platyrhynchos platyrhynchos* and their relationship to environmental changes. *J Zool* 183:377-395.
- Pinho C, Hey J (2010) Divergence with Gene Flow: Models and Data. *Annu Rev Ecol Evol Syst.*41:215–30.

- Rice WR., Hostert EE (1993) Laboratory Experiments and Speciation: What Have We Learned in 40 Years ? *Evolution* 47:1637-1653.
- Santiago-Alarcon D, Parker PG (2006) Sexual Size Dimorphism and morphological evidence supporting the recognition of two subspecies in the Galapagos dove. *Condor* 109:132–141.
- Schluter D, Smith JNM (1986) Natural selection on beak and body size in the song sparrow. *Evolution* 40:221-231.
- Slatkin M (1981) Estimating levels of gene flow in natural populations. *Genetics* 99: 323-335.
- Slatkin M (1985) Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology, Evol Syst* 16:393-400.
- Smith JNM., Dhondt AA (1980) Experimental confirmation of heritable morphological variation in a natural population of song sparrows. *Evolution* 34:1155-1158.
- Trussel G., Etter RJ (2001) Integrating genetic and environmental forces that shape the evolution of geographic variation in a marine snail. *Genetics* 112:321-337.
- Whittacker R, Fernández Palacios JM (2007) *Island Biogeography: Ecology, Evolution and Conservation*. Oxford University Press.

## Appendices

**Appendix 1.** Values of morphological traits (mean  $\pm$  SE) in the Forest thrush in males and females.

<b>Morphological traits</b>	<b>Male</b>	<b>Female</b>
Body mass (g)	94.6 $\pm$ 0.4	101.4 $\pm$ 0.8
Tarsus length (mm)	43.1 $\pm$ 0.1	42.7 $\pm$ 0.1
Wing length (mm)	135.4 $\pm$ 0.3	133.5 $\pm$ 0.4
Tail length (mm)	97.8 $\pm$ 0.45	96.6 $\pm$ 0.6
Head+ Bill length (mm)	57.6 $\pm$ 0.1	58.17 $\pm$ 0.2

# Manuscript 3

## **Within-island phenotypic and genetic divergence caused by microallopatry in the Forest thrush *Turdus herminieri***

Emilie Arnoux<sup>1</sup>, Cyril Eraud<sup>2</sup>, Alban Thomas<sup>2</sup>, François Cavallo<sup>1,2</sup>, Nicolas Navarro<sup>1</sup>,  
Bruno Faivre<sup>1</sup> and Stéphane Garnier<sup>1</sup>

Soumis à *Molecular Ecology*





**Within-island phenotypic and genetic divergence caused by microallopatry in the Forest thrush *Turdus lherminieri***

Emilie Arnoux<sup>1</sup>, Cyril Eraud<sup>2</sup>, Alban Thomas<sup>2</sup>, François Cavallo<sup>1,2</sup>, Nicolas Navarro<sup>1</sup>,  
Bruno Faivre<sup>1</sup> and Stéphane Garnier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UMR CNRS 6282-Biogéosciences, Equipe Biome, 6 bd Gabriel, 21000 Dijon, France

<sup>2</sup>Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, CNERA Avifaune migratrice, Station biologique de Chizé, Carrefour de la Canauderie, 79360 Villiers en Bois, France

**Keywords :** speciation, island, gene flow, bird, conservation genetics, spatial scale

Corresponding author: Emilie ARNOUX

Current address: Equipe Biome, UMR CNRS 6282 - Biogéosciences, 6 boulevard Gabriel,  
21000 DIJON, France

E-mail: [emilie.arnoux@u-bourgogne.fr](mailto:emilie.arnoux@u-bourgogne.fr)

Short running title: Microallopatry in an endemic bird

## Introduction

Population differentiation is the first step toward speciation. Then, understanding mechanisms underlying population structure is a crucial issue in evolutionary biology and ecology (Barton & Hewitt 1985, Mallet 2001, Schluter 2001, Coyne & Orr 2004). Identifying processes driving biodiversity is also of prime interest to draw up guidelines for population management and conservation planning (Allendorf & Luikart 2007, Frankham et al. 2009, Crandall et al. 2000). Level of differentiation depends on a subtle balance between gene flow, genetic drift and natural selection, and insight into the relative contribution of these factors can be provided by spatial patterns of intra-specific phenotypic and genetic variation (*e.g.* Slatkin 1981, Allendorf 1983, Rice & Hostert 1993, Avise 2004, Pinho & Hey 2010).

Spatial scale of differentiation, and ultimately speciation, varies greatly among species. Kisel & Barraclough (2010) showed that the probability of speciation increases with the size of a region (owing to more opportunity for geographical isolation, more habitat types, or larger population sizes) and that this probability decreases as the strength of gene flow increases. Consequently, the minimum area for speciation to occur is larger for species with higher rates of gene flow. This pattern holds for many groups of plants and animals.

Though it is now generally accepted that speciation occurred in sympatry in some cases, the greater part of speciation events involved an allopatric episode (Coyne & Orr 2004, Bolnick & Fitzpatrick 2007). Because of their physical abilities to fly, birds are unlikely to initiate divergence at small spatial scale or in the absence of physical barriers to gene flow. Islands have long been providing a relevant context to describe and interpret patterns of evolution because of their well-defined boundaries (Grant 1998, Whittaker & Fernández-Palacios 2007, Losos & Rickelfs 2009). In this geographical context, it appears that speciation in birds can occur only on large islands, because small islands lack opportunity for spatial isolation or because selective pressures cannot be divergent or strong enough to counteract gene flow

(Coyne & Price 2000, Losos & Schluter 2000, Ricklefs & Bermingham 2007, Price 2008, Rosindell & Phillimore 2011). Hence, high mobility probably explains the relative paucity of island radiations in birds compared to less mobile species such as insects. However, a few examples of evolutionary divergence within small islands have been reported, suggesting that population differentiation can occur in birds at small spatial scale under particular circumstances (Ryan et al. 2007, Milá et al. 2010).

Here we report a striking pattern of morphological and genetic divergence at small spatial scale in a bird species endemic to the Lesser Antilles. The Forest thrush (*Turdus lherminieri*) is a forest understory bird present on four islands only: Montserrat, Guadeloupe, Dominica and Saint Lucia (Fig. 1). Island size ranges from 102 km<sup>2</sup> for Montserrat to 1434 km<sup>2</sup> for Guadeloupe, the other two islands being intermediate in size (754 km<sup>2</sup> and 620 km<sup>2</sup> for Dominica and Saint Lucia respectively). Islands are isolated by at least 40 km of sea, and distance between two adjoining islands reaches 130 km between Dominica and Saint Lucia (though another island - *i.e.* Martinique, which the Forest thrush is absent from - locates in between). These oceanic islands have never been connected and can be considered to be small islands. Although a distinct subspecies is assumed to occur on each island (Clement & Hathway 2000), there is currently no quantitative assessment of the divergence between these four populations. In addition, Arnoux et al. (manuscript 2) reported a surprising phenotypic divergence within Guadeloupe given this island's area. Indeed, birds from the two geographic zones of Guadeloupe were significantly differentiated for a body-size synthetic descriptor, without mechanism underlying this divergence being elucidated (geographic isolation, phenotypic plasticity or divergence with gene flow). Investigating the origin of current patterns of variability in the Forest thrush not only has a fundamental relevance, but it may also provide valuable information to drive conservation priorities. Indeed, populations have dramatically declined over the last 15 years (Raffaele et al. 1998), so that this species is now

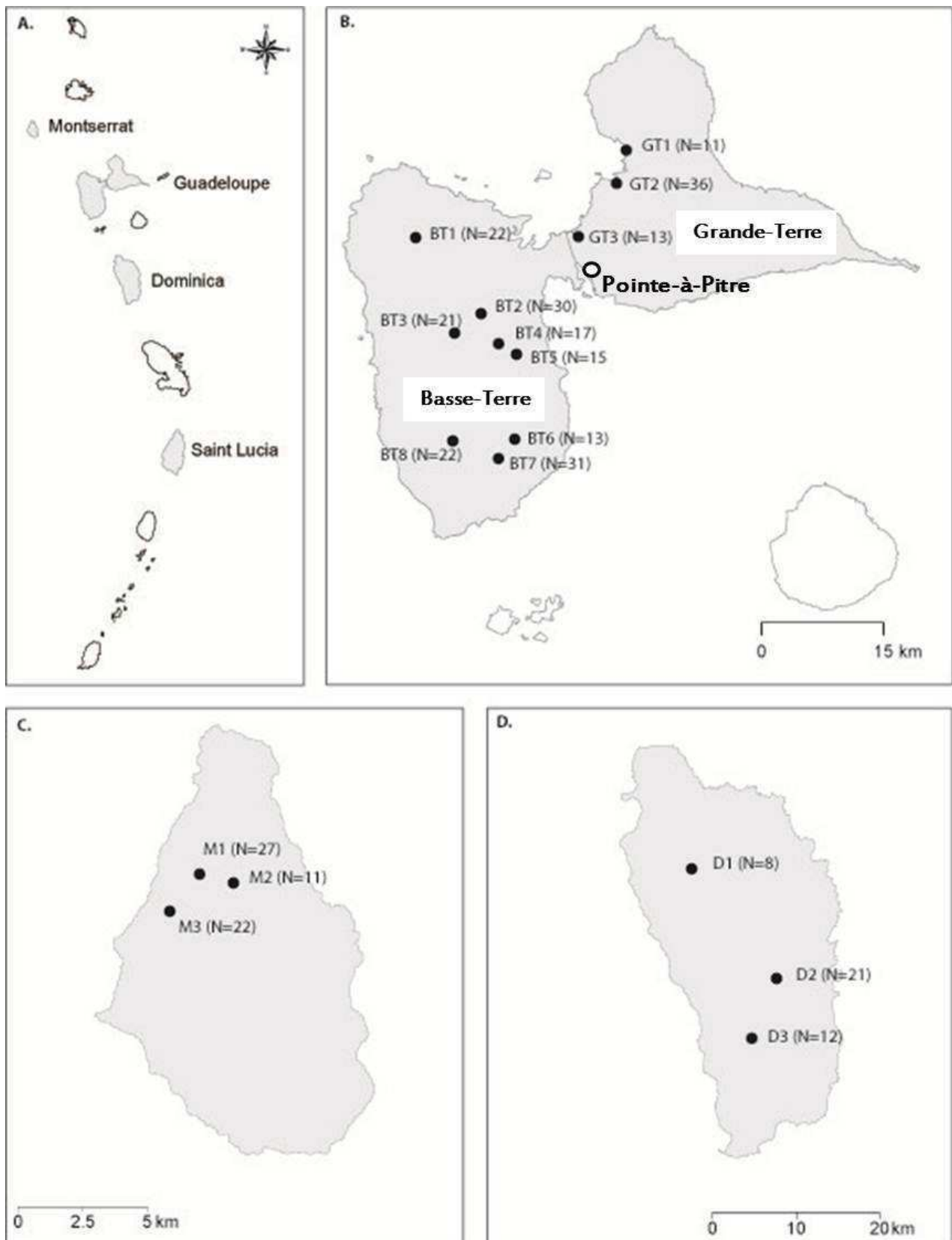
classified as vulnerable according to the IUCN Red List (IUCN 2012). Whereas populations benefit from some conservation policy in Montserrat, Dominica and Saint Lucia, this species is still a game bird in Guadeloupe. Information relevant for management planning is clearly needed and may be crucial for the future of this species.

We examined pattern of morphological and genetic divergence in the Forest thrush at two spatial scales, *i.e.* between and within islands. More specifically, our aims were the following: 1) assess pattern of morphological variation between and within islands and its consistency with the four described subspecies, 2) investigate whether morphological variation was reflecting genetic divergence between allopatric entities, 3) test whether morphological divergence observed within Guadeloupe Island could be explained by microallopatry, 4) consider usefulness of previous information in a conservation perspective. We used two distinct approaches with both morphologic and genetic data. Traditionally, the first one consists in looking for relationships between predefined grouping of observations by testing and quantifying level of divergence between sampling sites (or eventually groups of sampling sites). The second approach is a clustering analysis, in other words a partition of data into meaningful subgroups (the number of subgroups and other information about their composition being unknown). Ignoring information about sampling location, this approach has been shown to be powerful to detect cryptic entities or to identify hybrids or admixed individuals (Fraley & Raftery 2002, Baylac et al. 2003, Randi 2007).

## **Materials and methods**

### *Sampling sites and field work*

Fieldwork was managed in 2010 and 2011 between April and July. We looked for the presence of the Forest thrush in several sites on each of the four islands inhabited by this species, partly using knowledge from local ornithologists. Despite a great prospecting effort



**Figure 1.** Map of the Lesser Antilles (A) and distribution of sampling sites on Guadeloupe (B), Montserrat (C) and Dominica (D). Sample sizes are given in brackets. See Table 1 for correspondence between sampling sites' name and code.

in Saint Lucia, not a single individual was detected, what underlines the local rarity of this species. Then, 3 sites were selected both on Montserrat (M1 to M3) and Dominica (D1 to D3) whereas 11 sites were sampled in Guadeloupe because of the higher area and complexity of this island and because of the higher local density of Forest thrush (Rousteau 1996, Eraud et al. 2012). Indeed, Guadeloupe is composed of two distinct geographic zones (namely Basse-Terre (BT) and Grande-Terre (GT) connected by a narrow and almost entirely urbanized isthmus (Fig. 1). The Forest thrush is more common in Basse-Terre than in Grande-Terre. So, we adapted our sampling effort and selected 8 sites in Basse-Terre (BT1 to BT8) and 3 sites in Grande-Terre (GT1 to GT3).

Birds were caught using mist-nets, banded with a numbered metal ring and released after blood sampling and morphological measurements. Blood samples (ca. 20 µl) were collected from the brachial vein and stored in 500 µl of Queen's Lysis Buffer (Seutin et al. 1991) for molecular analyses. One person (E.A.) took all the following morphological measurements: body mass (using a balance Pesola MS-500 of 0.1g precision), unflattened wing chord length (using a wing ruler of 0.5 mm precision), tail length (using a ruler of 0.5 mm precision), tarsus length and head+bill length (using an electronic caliper of 0.01 mm precision). A total of 331 individuals were captured from 17 sampling sites (Fig. 1). Sex-ratio was slightly male-biased in all samples because we used play-back around mist-nets during capture in order to increase capture efficiency.

#### *Laboratory work*

DNA was extracted from samples with a standard phenol-chloroform protocol (modified from Hillis *et al.* 1996) after a first step of digestion with proteinase K (56°C overnight). We used this DNA to determine individuals' sex using a polymerase chain reaction (PCR) test (Friedolfsson & Ellegren 1999). Individuals were genotyped at 10 cross-species amplifying

microsatellite loci (Table S1; Molecular Ecology Resources Primer Development Consortium et al. 2012). Microsatellite loci were amplified by PCR in a volume of 10 $\mu$ l containing 50 ng of DNA, 1X GoTaq Flexi Buffer, 0.4 $\mu$ M of each primer, 400 $\mu$ M of dNTP, 0.1U of Taq polymerase (Promega). Reaction mix also contained 1.5mM of MgCl<sub>2</sub> for *DkiB119* and *TG4-012* and 2mM of MgCl<sub>2</sub> for the other. The following procedure was used for amplification in a Dyad thermal cycler (Bio-Rad): denaturation at 94°C for 3 min, 30 cycles consisting of 30 s of denaturation at 94°C, 30 s of annealing at a locus-specific temperature (Table S1), and 40 s of elongation at 72°C, and a final extension at 72°C for 5 min. PCR products were analysed in an automated sequencer (ABI3730) following the manufacturer's protocol using Genemapper 3.0 software (Applied Biosystems).

### *Morphological differentiation*

In order to get a synthetic description of phenotypic variability, we conducted a principal components analysis (PCA) on the correlation matrix of morphological variables. Components with eigenvalues higher than 1 (PC1 and PC2) were retained for subsequent analyses. To test for spatial variation of morphology, linear mixed models were performed on individuals' coordinates on PC1 and PC2 considering island as a fixed factor and sampling site as a random factor nested in island. The two geographic zone of Guadeloupe have been considered as two "islands" in this analysis because morphological differentiation has already been shown between Basse-Terre and Grande-Terre in Guadeloupe (Arnoux et al., manuscript 2) and because these two entities correspond to differentiated gene pools (see Results section). PCA and linear models were performed using JMP 7.0.1 (2007, SAS Institute Inc). It was not possible to include a sex factor in our analyses because very few females had been captured in some sites (none in D1 and a single one in GT1). However, as sample sex-ratio is roughly equally biased for males (because of the use of playback) in all sampling sites, sex factor may



not explain spatial variation in morphology. In addition, when considering sexes separately in morphological analyses, similar results were obtained (not shown).

We also assessed morphological differentiation using multivariate Gaussian mixture analyses (Fraley & Raftery 2002), which does not take into account the *a priori* grouping of observations according to sampling locations. Data are assumed to be generated by a mixture of  $K$  clusters corresponding, each one being a multivariate normal distribution (this assumption sounds a reasonable one for morphological data). Positions (*i.e.* means) of the corresponding ellipsoids as well as their geometric features (orientation, volume and shape) determined by the covariances are parameterized in a model containing a predefined number of clusters. Several models differing in the number of components in the mixture (*i.e.* the number of clusters) and in the underlying densities (*i.e.* means and geometric features) of the various components were compared using the Bayesian Information Criteria (BIC). As it penalized the maximized likelihood by the number of parameters in the model, BIC value allows comparison of models with differing parameterizations and/or differing numbers of clusters. We compare models optimized for up to 9 clusters and all ten covariance structures currently available in the MCLUST package (Fraley & Raftery 2003) on software R 2.10.1 (R Core Team 2012). After selecting the best model, we used the program DISTRUCT (Rosenberg 2004) to display individuals' assignment probabilities to each cluster. When several clusters were identified, we run MCLUST independently within each cluster using the same procedure to investigate further structure.

#### *Intra-population and intra-island genetic diversity*

Linkage disequilibrium between all pairs of loci and departure from Hardy-Weinberg equilibrium for each locus were tested within each population using exact tests. Fisher's method (Sokal & Rohlf 1995) was used to construct a global test for Hardy-Weinberg

equilibrium across all loci, providing that statistical independence of loci was established previously. All these tests were performed using GENEPOP (Rousset 2008). Presence of potential genotyping errors due to null alleles or large allele dropout was investigated using MICRO-CHECKER (Van Oosterhout *et al.* 2004).

Intra-population genetic variation was estimated by observed ( $H_o$ ) and expected ( $H_e$ ) heterozygosities using GENETIX 4.05 (Belkhir *et al.* 2001). Mean allelic richness (number of alleles averaged over loci) was also estimated after correction for sample size differences using a rarefaction procedure (Kalinowski 2004) implemented in ADZE 1.0 (Szpiech *et al.* 2008). We tested for between-islands differences in intra-population genetic diversity applying a Kruskal-Wallis test to allelic richness and gene diversity ( $H_e$ ).

We also assess the variability of gene pools corresponding to each island by pooling sites within the same island. Despite the heterogeneity of sampling site number among islands, we justified this by the absence of genetic differentiation within the same island (except for Guadeloupe, see results). This procedure was done twice: we first considered Guadeloupe as a single gene pool and in a second step, we distinguished its two parts (Basse-Terre and Grande-Terre). Then, we estimated mean allelic richness and mean private allelic richness in each gene pool. Finally, we estimated the mean number of distinct alleles private to a group a gene pool (*i.e.* the number of alleles found in each of a set of gene pools and absent in all other gene pools), considering all possible combinations for grouping. When considering a group of  $k$  gene pools in a dataset containing  $k+1$  gene pools, allelic richness private to the group can be seen as the number of missing alleles in the remaining gene pool. All estimations were performed after sample size standardization with ADZE 1.0 (Szpiech *et al.* 2008).

---

*Population differentiation between and within island*

We first considered each sampling site as a distinct population. Genotypic differentiation for all population pairs was tested using a log-likelihood based exact G-test (Goudet et al. 1996) and pairwise estimates of  $F_{ST}$  were computed following Weir & Cockerham (1984) to quantify levels of differentiation using GENEPOP (Rousset 2008). As interpretation of these  $F_{ST}$  values can be problematic because of their dependence on the level of genetic variation, we also calculated the standardized measure  $G'_{ST}$  from Hedrick (2005) using SMOGD (Crawford 2010).

In order to understand which factor was responsible for population structure within Guadeloupe island, we tested for isolation by distance using the regression of  $F_{ST}/(1-F_{ST})$  estimates on logarithm of geographic distance for population pairs, as suggested by Rousset (1997). The effect of geographic zone (BT *versus* GT) was tested from the correlation between the  $F_{ST}$ -based distance matrix and a zone-distance matrix corresponding to a binary matrix containing 0 for intra-geographic zone population pairs (*i.e.* BT/BT and GT/GT population pairs) and 1 for inter-geographic zone population pairs (*i.e.* BT/GT). As highest geographic distances may correspond to BT/GT population pairs, we successively tested for correlation between genetic distance on one side and geographic distance and zone-distance on the other side, while controlling for zone-distance and geographic distance respectively. All these correlations were tested using Mantel's and partial Mantel's tests performed with VEGAN 2.0-4 package (Oksanen et al. 2012) on software R 2.10.1 (R Core Team 2012).

We also assessed population structure without use of sampling location information (neither island nor site) using a model-based clustering method implemented in STRUCTURE 2.3.3 (Pritchard et al. 2000). Independent runs of the program (100 000 iterations following a burn-in period of 20 000 iterations) were carried out for the total data set for values of K (*i.e.* number of clusters assumed in the model) from 1 to 10. In order to assess results consistency

across runs, we performed five independent runs in each situation (number of cluster – data set combination). As allele frequencies may be correlated in populations from the same island, we used correlated allele frequency model with admixture but we did not use the LOCPRIOR option (Hubisz et al. 2009). The number of clusters in the data was inferred using the approach first proposed by Garnier et al. (2004) and then extended by Evanno et al. (2005). We used the program DISTRUCT (Rosenberg 2004) to display individuals' membership coefficient (*i.e.* assignment probabilities) for each cluster. As the three islands corresponded to different clusters (see Result section), we then run STRUCTURE independently within each island using the same procedure (except than the maximum value of K used for Dominica and Montserrat was 3).

Unless noted otherwise, statistical analyses were performed with software R 2.10.1 (R Core Team 2012).

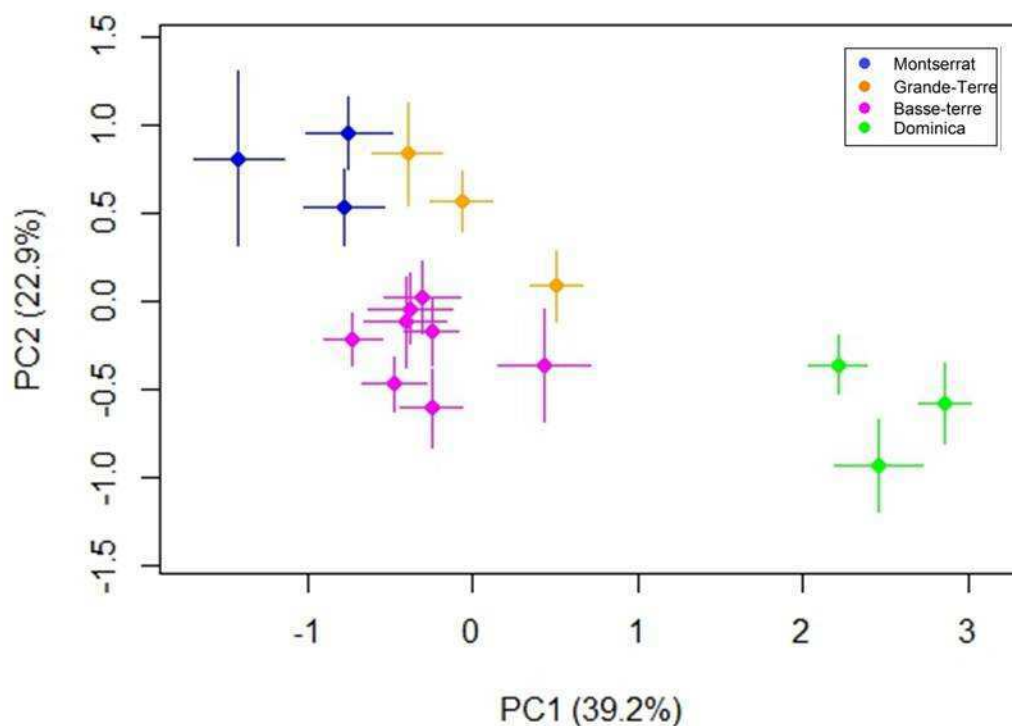
## **Results**

As populations from the two geographic zones (Basse-Terre and Grande-Terre) of Guadeloupe are morphologically and genetically differentiated, some results are given below considering separately these two groups of populations, even when analyses were conducted with 2 options: considering Guadeloupe as a single island or considering Basse-Terre and Grande-Terre separately.

### *Morphological differentiation*

The first two components of the PCA collectively explained 62.1% of morphological variability (39.2% and 22.9% for PC1 and PC2 respectively). Based on factor loadings (Table S2), PC1 reflects wing and tail lengths (in other words feathers' length) as well as body weight (though factors loadings are moderately high), whereas PC2 mainly reflects tarsus

length. Large negative scores on PC1 depict heavy birds with long feathers whereas large negative scores on PC2 have higher skeletal size. PC1 scores were significantly different between islands ( $F_{3,310} = 47.59$ ,  $p < 0.0001$ ) and between sites ( $F_{13,310} = 2.33$ ,  $p = 0.006$ ). On the other hand, there was a significant effect of island ( $F_{3,310} = 17.95$ ,  $p < 0.0001$ ) but no effect of sites ( $F_{13,310} = 1.28$ ,  $p = 0.22$ ) on PC2 scores. Populations from Dominica are clearly differentiated from other islands (Fig. 2). PC1 scores show that birds from Montserrat are heavier and have longer feathers than birds from Dominica, Guadeloupean individuals being intermediate but closer to birds from Montserrat. PC2 scores discriminate between birds from Montserrat and Grande-Terre on one side and birds from Basse-Terre and Dominica on the other side, the first ones having shorter tarsus than the last ones. The morphological divergence between birds from the two geographic zones of Guadeloupe appears on PC2 but not on PC1.

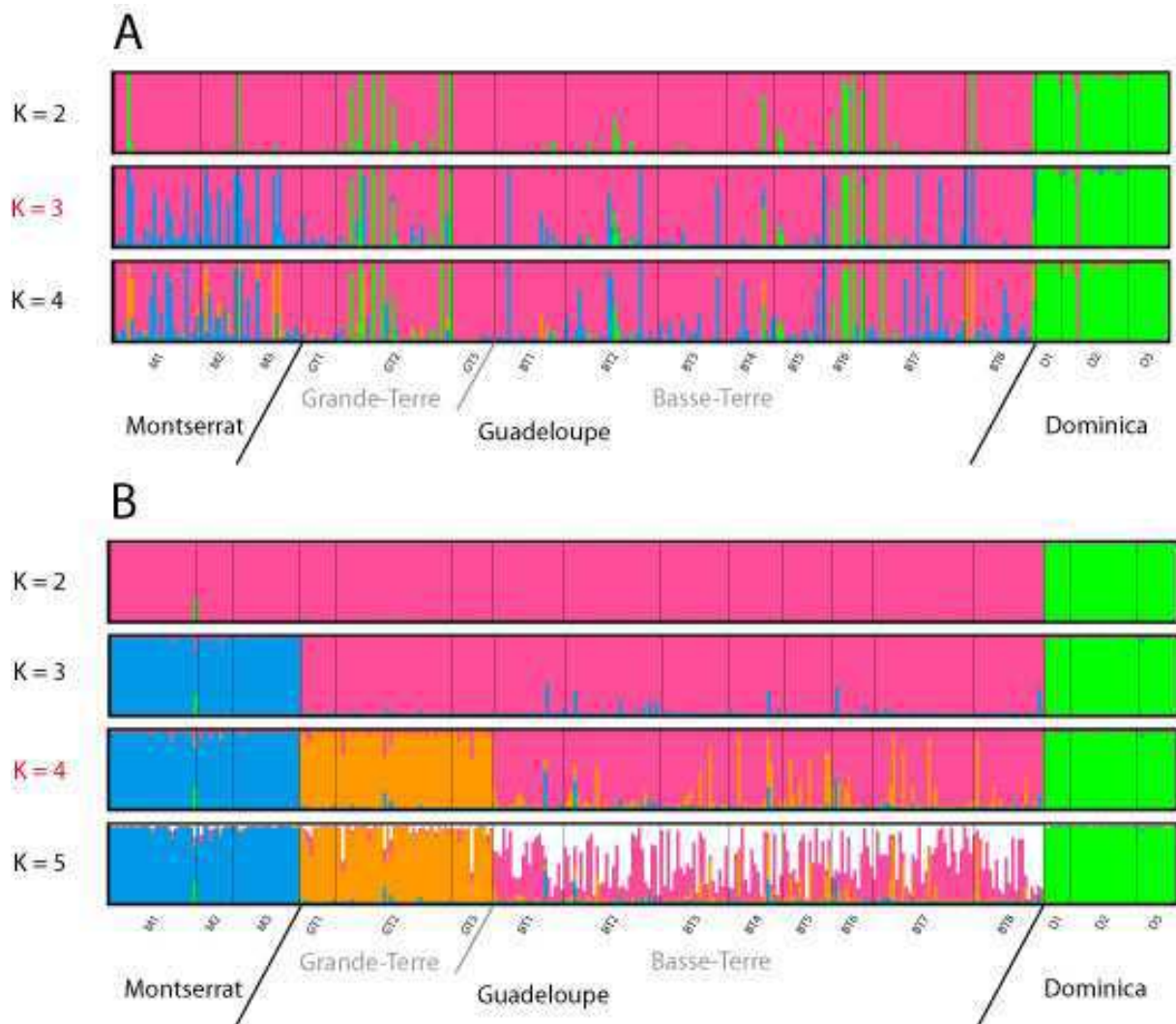


**Figure 2.** Principal component analysis of morphological data. Percentage of variance explained by each axe is given in brackets.

The best model produced by Gaussian mixtures analyses was a three-cluster model with diagonal distribution and equal shape of density contours. In other words, multinormal distributions all correspond to ellipsoids having the same shape and orientation parallel to variable axes, but differing in size. Other models had BIC values that were at least 15 points lower. Following standard convention (Fraley & Raftery 1998 and references therein), this difference may be considered as very significant. Individuals' membership coefficients are illustrated for models containing 2 to 4 clusters in Fig. 3. One morphological cluster clearly match Dominica, as all individuals from this island except one are assigned to the same cluster (along with a few individuals from Guadeloupe) with very high probabilities. The two other clusters from the best solution contain individuals from both Guadeloupe and Montserrat: 74% and 26% of individuals from Montserrat were assigned (with probabilities higher than 0.5) to these two clusters whereas 95% and 5% of individuals from Guadeloupe were assigned to the same respective clusters. It can be seen that for  $K = 4$ , the last cluster added in the model is uninformative as hardly any individuals is assigned to this cluster. When running MCLUST independently within clusters or islands, no further population structure was found. The classification of a few individuals from Guadeloupe in the Dominica's cluster is likely due to a slight overlapping between multivariate normal distributions corresponding to these two islands. On the other side, it seems very difficult to distinguish birds from Montserrat and Guadeloupe without prior information about capture locations.

#### *Intra-population and intra-island genetic diversity*

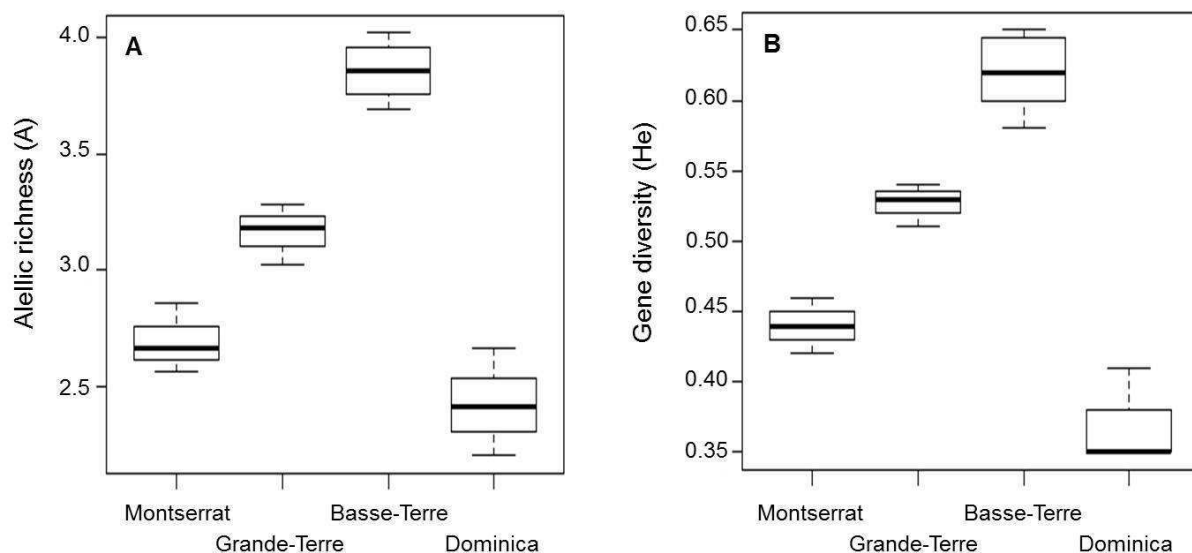
Polymorphism varied among loci as the number of alleles found ranged from 5 to 19 (Table S1). A total of 690 tests for genotypic disequilibrium (population-loci pair combinations) was performed and 30 (4.3%) were significant at the 0.05 level. None remained significant after



**Figure 3.** Model-based clustering results for A) morphological data, B) genetic data. K is the number of cluster in the model. Each individual is represented as a vertical line partitioned into K coloured segments, whose length is proportional to the individual's estimated membership coefficients in the K clusters. Black lines separate sampling sites. Figures are based on the run with the highest posterior probability of the data for each K for genetic data. Best models are indicated by a red value of K.

sequential Bonferroni correction, what attests statistical independence of the 10 microsatellite loci. No departure from Hardy-Weinberg equilibrium was observed as 9 (5.8%) tests were significant out of the 154 tests realized (locus-population combinations), but none remained significant after sequential Bonferroni correction. All global tests for Hardy-Weinberg equilibrium were non-significant at the 0.05 level. Finally, analyses performed with MICRO-CHECKER provided no sign of genotyping errors.

Intra-population genetic diversity exhibited important variation (Tab. 1). Both observed and expected heterozygosities ranged from 0.35 (sites D1 and D2) to 0.65 (site BT7)(Tab.1). Allelic richness averaged over loci ranged from 2.20 (site D1) to 4.02 (site BT7) for a standardized sample size of  $n=6$  diploid individuals. Both allelic richness and gene diversity showed the same significant difference between islands (KW = 13.84, ddl = 3,  $p = 0.003$  and KW = 14.19, ddl = 3,  $p = 0.003$  respectively). According to intra-population genetic variability, islands could be ranked in the following ascending order: Dominica, Montserrat, Grande-Terre, and finally Basse-Terre (Fig. 4A and 4B).

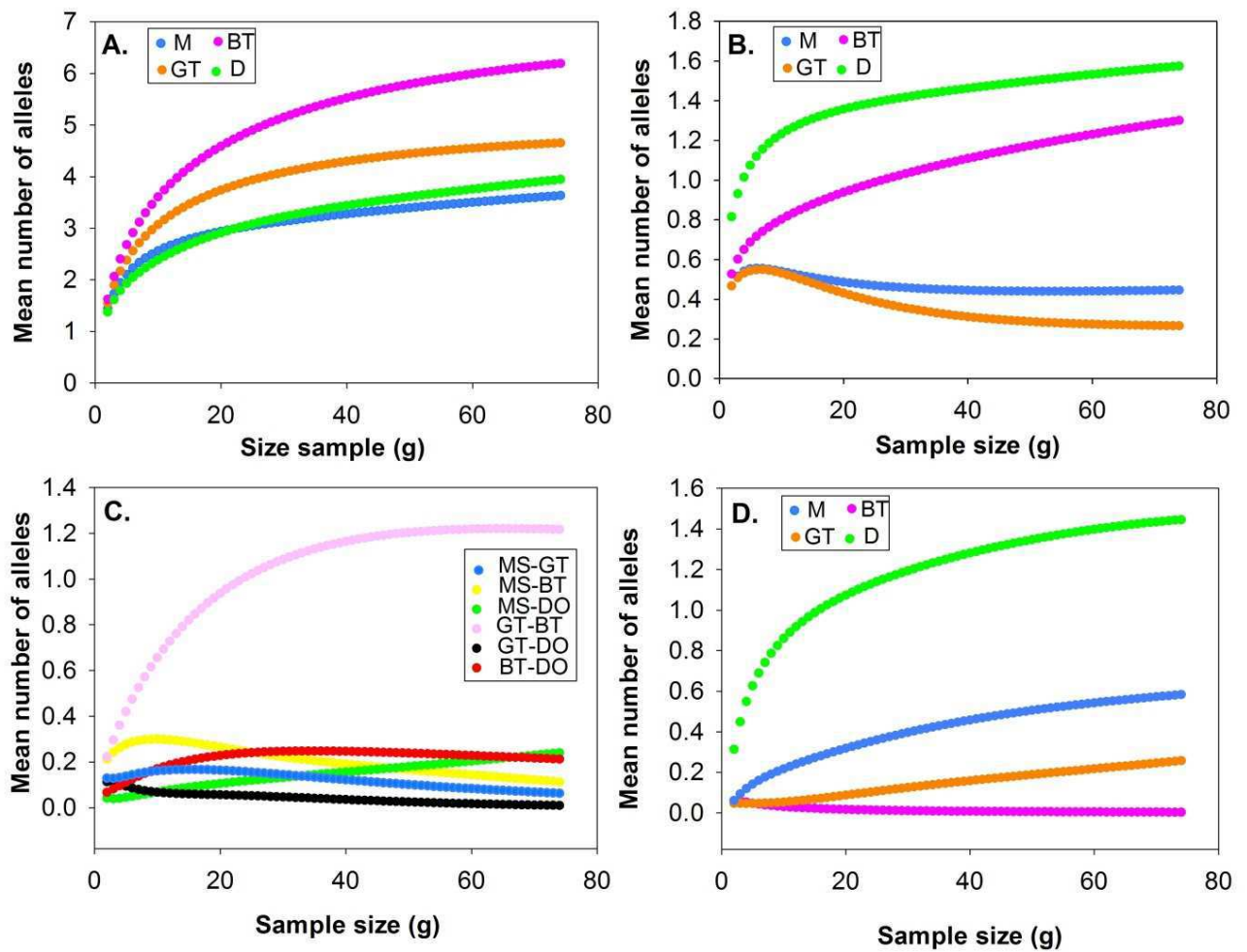


**Figure 4.** Comparison of intra-population genetic variability between islands. **A.** allelic richness estimated for a standardized sample size of  $n=6$  diploid individuals, **B.** gene diversity (He).



**Table 1.** Sampling sites and genetic polymorphism in the 17 populations studied. A, allelic richness (estimated for a sample size of 6 individuals); Ho, observed heterozygosity; He, gene diversity. A, Ho, He are averaged over 10 loci.

Island	Locality		A	Ho	He
Montserrat	Mongo Hill	M1	2.66	0.45	0.44
Montserrat	Dry Water Fall	M2	2.86	0.45	0.46
Montserrat	Woodland	M3	2.56	0.42	0.42
Guadeloupe (Grande-Terre)	Petit-Canal	GT1	3.18	0.51	0.51
Guadeloupe (Grande-Terre)	Geffrier	GT2	3.28	0.52	0.53
Guadeloupe (Grande-Terre)	L'alliance	GT3	3.02	0.54	0.54
Guadeloupe (Basse-Terre)	Sofaia	BT1	3.85	0.64	0.62
Guadeloupe (Basse-Terre)	Prise d'Eau	BT2	3.71	0.63	0.60
Guadeloupe (Basse-Terre)	La Traversée	BT3	3.86	0.62	0.64
Guadeloupe (Basse-Terre)	Valombreuse	BT4	3.99	0.61	0.65
Guadeloupe (Basse-Terre)	Petit-Bourg	BT5	3.80	0.59	0.60
Guadeloupe (Basse-Terre)	Routhiers	BT6	3.93	0.59	0.62
Guadeloupe (Basse-Terre)	Grand-Etang	BT7	4.02	0.65	0.65
Guadeloupe (Basse-Terre)	La Soufrière	BT8	3.69	0.56	0.58
Dominica	Morne Diablotin	D1	2.20	0.35	0.35
Dominica	Middleham Fall	D2	2.41	0.35	0.35
Dominica	Emerald Pool	D3	2.66	0.43	0.41



**Figure 5.** Island gene pools' richness and private richness as a function of standardized sample size of  $g$  alleles. (A) Mean number of distinct alleles per locus (allelic richness), B to D) Mean number of alleles per locus private (private richness) to combinations of  $k$  (B,  $k=1$  ; C,  $k=2$  ; D,  $k=3$ ) of the four geographic regions (Dominica, Montserrat, Basse-Terre and Grande-Terre). The mean number of alleles per locus private to three gene pools is the number of alleles missing to the remaining gene pool.

The gentle slope of rarefaction curves indicates that our sampling effort is high enough to compare allelic richness between island gene pool, though we may slightly underestimate this parameter (Fig. 5A). The higher richness is observed in Basse-Terre, followed by Grande-Terre and then Dominica and Montserrat (Fig. 5A). However and remarkably, private allelic richness is slightly higher in Dominica than in Basse-Terre, whereas private allelic richness in Grande-Terre and Montserrat was much lower (Fig. 5B). When considering pairs of gene pools, BT-GT pair was the only one to share alleles that were absent from all other gene pools (Fig. 5C). Finally, missing alleles (number of alleles absent from a gene pool but present in all other ones) was much higher in Dominica than in Montserrat, itself slightly higher than in Guadeloupe (Fig 5D). Number of missing alleles was null in Basse-Terre.

Examining allele frequencies in each population revealed that the three sites from Dominica had the same fixed allele for two loci (Cup28 and PatMP2-43). The same observation was almost made in Montserrat for two loci (DkiB119 and Tgu02) as the same allele had a frequency high than 0.95 in all three sites. In addition, allele size range for Dominica was separated (completely for loci Ase40, Ase64 and PatMP2-43 and almost completely for locus Cuu5) from allele size ranges for other islands. So, the highest genetic diversity was observed in Basse-Terre whereas the lowest one was observed in Dominica. However, Dominica hosts a unique genetic diversity.

#### *Population differentiation between and within island*

Of 136 exact pairwise test for genotypic differentiation, 102 (75%) were significant and 99 (73%) remained significant after sequential Bonferroni correction (Table 2). All population pairs involving either two islands or the two geographic zones of Guadeloupe were significantly differentiated. None of the within-island or within-geographic zone population pairs was differentiated.  $F_{ST}$  values ranged from -0.014 (which was considered to be null;

**Table 2.** Pairwise population differentiation estimated by  $F_{ST}$  (below diagonal) and  $G'_{ST}$  (above diagonal). Underlined and bold Fst values correspond to significant differentiation tests before and after sequential Bonferroni correction respectively. Cells are darkened according to levels of differentiation (for  $F_{ST}$ : white, light-grey, medium-gray, dark-grey is for  $F_{ST} < 0.1$ ,  $< 0.2$ ,  $< 0.4$  and  $> 0.4$  respectively; for  $G'_{ST}$ : white, light-grey, medium-grey, dark-grey is for  $G'_{ST} < 0.1$ ,  $< 0.3$ ,  $< 0.6$  and  $> 0.6$  respectively).

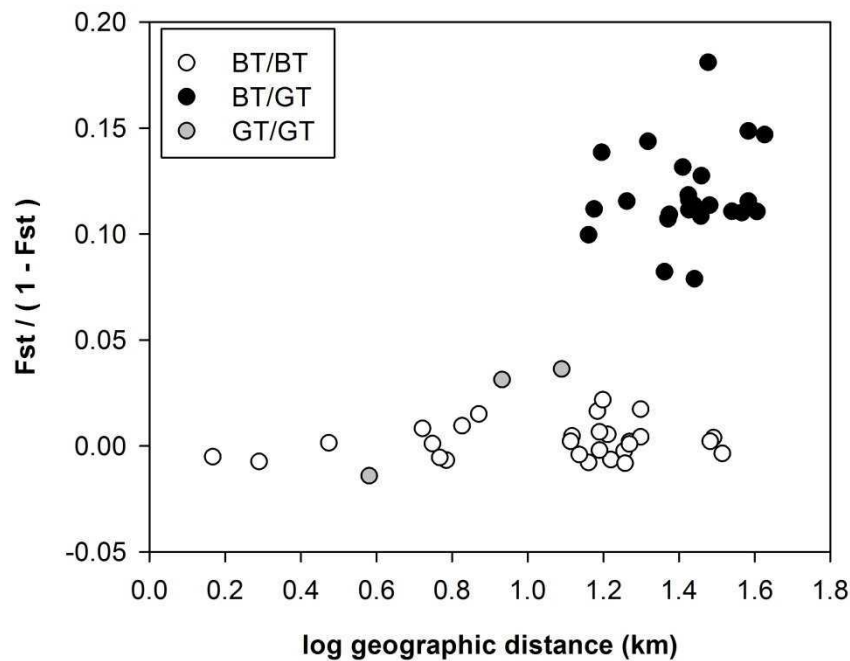
		Montserrat (M)			Guadeloupe (G)								Dominica (D)						
					Grande-Terre (GT)			Basse-Terre (BT)											
		M1	M2	M3	GT1	GT2	GT3	BT1	BT2	BT3	BT4	BT5	BT6	BT7	BT8	D1	D2	D3	
M	M1		0.013	-0.004	0.396	0.394	0.392	0.221	0.220	0.218	0.244	0.301	0.238	0.213	0.240	0.712	0.778	0.711	
	M2	0.006		0.026	0.362	0.357	0.372	0.218	0.218	0.213	0.192	0.270	0.222	0.201	0.240	0.730	0.796	0.719	
	M3	-0.004	0.013		0.399	0.401	0.389	0.225	0.203	0.229	0.240	0.304	0.223	0.226	0.230	0.709	0.778	0.712	
G	GT	GT1	0.243	0.213	0.250		-0.028	0.061	0.234	0.221	0.216	0.213	0.158	0.200	0.203	0.243	0.648	0.682	0.606
		GT2	0.228	0.190	0.231	-0.014		0.056	0.241	0.215	0.220	0.200	0.158	0.202	0.206	0.255	0.660	0.695	0.631
		GT3	0.247	0.206	0.252	0.035	0.030		0.202	0.213	0.186	0.187	0.158	0.195	0.191	0.229	0.563	0.622	0.547
G	BT	BT1	0.124	0.106	0.122	0.113	0.116	0.126		0.009	-0.022	0.004	0.038	0.004	-0.013	0.001	0.706	0.744	0.669
		BT2	0.129	0.111	0.119	0.102	0.098	0.122	0.005		0.002	0.004	0.024	-0.010	0.010	0.000	0.717	0.744	0.682
		BT3	0.117	0.096	0.116	0.102	0.106	0.103	-0.008	0.001		-0.016	0.035	-0.018	-0.021	0.007	0.693	0.733	0.655
		BT4	0.132	0.092	0.125	0.100	0.097	0.100	0.002	0.001	-0.007		-0.009	-0.008	-0.006	0.013	0.717	0.762	0.693
		BT5	0.168	0.133	0.166	0.073	0.076	0.090	0.017	0.009	0.015	-0.005		0.004	0.041	0.045	0.686	0.724	0.664
		BT6	0.137	0.109	0.131	0.103	0.100	0.104	0.004	-0.002	-0.006	-0.004	0.002		-0.021	-0.011	0.740	0.773	0.713
		BT7	0.114	0.090	0.113	0.099	0.100	0.098	-0.004	0.004	-0.008	-0.002	0.016	-0.007		0.015	0.685	0.719	0.653
		BT8	0.157	0.140	0.151	0.128	0.129	0.153	0.002	0.001	0.005	0.006	0.021	-0.005	0.008		0.753	0.779	0.718
D	D1	0.481	0.474	0.494	0.440	0.405	0.365	0.368	0.382	0.354	0.361	0.385	0.388	0.329	0.418		0.002	0.042	
	D2	0.509	0.513	0.517	0.466	0.430	0.405	0.410	0.413	0.400	0.411	0.424	0.430	0.367	0.445	0.010		0.042	
	D3	0.453	0.446	0.462	0.401	0.379	0.341	0.350	0.361	0.336	0.347	0.362	0.366	0.313	0.389	0.025	0.026		

GT1/GT2 pair) to 0.517 (M3/D2 pair), whereas  $G'_{ST}$  ranged from -0.028 (GT1/GT2) to 0.796 (M2/D2 pair). Both estimators provided the same clear pattern (Table 2). Highest levels of differentiation were observed between inter-island population pairs involving Dominica ( $F_{ST}$  values from 0.313 to 0.517). Then, differentiation between Montserrat and Grande-Terre ( $F_{ST}$  values from 0.190 to 0.252) was stronger than differentiation between Montserrat and Basse-Terre ( $F_{ST}$  values from 0.090 to 0.168). Remarkably, levels of differentiation between the two Guadeloupian geographic zones ( $F_{ST}$  values from 0.073 to 0.153) had the same order of magnitude than levels of differentiation between Basse-Terre and Montserrat. Within-island and within zone levels of differentiation were very weak as the maximum  $F_{ST}$  values reached 0.035 (GT1/GT3 pair).

Isolation by distance was significant within Guadeloupe ( $r = 0.60$ ,  $p < 0.001$ ). However, the correlation between genetic and geographic distances was not significant when controlling for the geographic zone ( $r = 0.14$ ,  $p = 0.17$ ). Conversely, the correlation between genetic and zone distances was significant ( $r = 0.96$ ,  $p = 0.005$ ), even after controlling for geographic distances ( $r = 0.94$ ,  $p < 0.001$ ). When controlling for geographic distance, genetic differentiation is much higher for between-zone population pairs than for within-zone population pairs (Fig. 6). So, population structure within Guadeloupe is explained by a strong barrier to gene flow between Basse-Terre and Grande-Terre.

Genetic model-based clustering provided consistent results. Posterior probability of the data clearly showed that data were best described by a model with 4 clusters. Moreover, almost all individuals assigned to one cluster (corresponding to Basse-Terre) for  $K = 4$  were assigned more or less equally into two clusters for  $K = 5$  (Fig. 3), indicating that addition of a fifth cluster did not provide further information. Individuals' membership coefficient clearly showed that the four clusters identified correspond to the different islands and the two geographic zones in Guadeloupe (Fig. 3). The hierarchical splitting of clusters when  $K$

increases reflects the order of magnitude of differentiation levels: Dominica is first separated from other islands and the last division was between Grande-Terre and Basse-Terre. When running STRUCTURE independently for the three islands, no structure was found in Dominica and Montserrat, and nothing much than the two clusters previously identified in Guadeloupe was observed. When using the whole dataset, a few individuals from Basse-Terre showed a high assignment probability to the cluster from Grande-Terre (Fig. 3). It may be mistaking to consider these individuals as migrants or admixed individuals as they were fully assigned to Basse-Terre's cluster when using the LOCPRIOR option (not shown).



**Figure 6.** Relationship between genetic differentiation [estimated by  $F_{ST}/(1-F_{ST})$ ] and logarithms of geographical distances (km) in Guadeloupe. Population pairs are distinguished according to whether they involve a single geographic zone (BT/BT and GT/GT pairs) or both zones (BT/GT pairs). BT: Base-Terre, GT: Grande-Terre.

## Discussion

Using morphological traits and molecular markers, we found clear and concordant patterns of differentiation in the Forest thrush between islands though clustering analyses on phenotypes

failed to separate Montserrat from Guadeloupe. Dominica was by far the most differentiated entity, and in the same time, it had the poorest and the most original gene pool. More remarkably, we also found a striking divergence between two geographic zones within Guadeloupe at a very small spatial scale which is almost of the same order than divergence between Guadeloupe and Montserrat.

#### *Inter-island divergence and sub-species definition*

The Lesser Antilles island arc has a complex geologic history. It is composed of two volcanic arcs juxtaposed north of Martinique but intermixed to the south (Bouysse et al. 1990). The older (eastern) one was active from the beginning of Eocene (56 mybp) to mid-Oligocene (28 mybp) and gave rise amongst others to Grande-Terre, Martinique and Saint Lucia. The recent and still active (western) arc has been active since 22 mybp, and it contains large and complex islands made up of many coalesced volcanoes, including amongst others Saint Lucia, Martinique, Dominica, Basse-Terre and Montserrat. Up to now, most of these islands have been frequently modified by an intense volcanic activity. For example, landscape structure has been deeply transformed on two thirds of Montserrat Island by the last eruption of the Soufriere Hills in 1995. The point is that the four islands inhabited by the Forest thrush have never been connected, so that allopatry for this species occurred after dispersal events and not vicariance, though we have no element regarding the colonization history. The situation of Guadeloupe is particular as this island is composed of two entities having very different ages (Grande-Terre being much older than Basse-Terre).

It is widely accepted that speciation mostly arise through the accumulation of differences by genetic drift and/or selection in allopatry (Coyne & Orr 2004). Hence, our results are consistent with examples of divergence in birds in archipelagos, contrasting with the paucity of such differentiation within small islands (Filardi & Moyle 2005, Losos & Ricklefs 2009,

Kisel & Barraclough 2010, Sly et al. 2011). Distances between islands are moderate and probably below physical dispersal abilities of the Forest thrush. Yet, it has been shown that water can be a strong barrier to dispersal in birds even over very short distances (Moore et al 2008, Burney & Brumfield 2009, Kekkonen et al. 2011).

Although the general problem of species or sub-species definition is reinforced in islands because of the difficulty to test or measure the degree of reproductive isolation (Whittaker & Fernández Palacios 2007), levels of genetic differentiation between islands in the Forest thrush ( $F_{ST}$  from 0.090 to 0.517) were of the same order or higher than values reported for other avian subspecies using the same kind of molecular markers ( $F_{ST} = 0.014$  in *Melospiza melodia*, Chan & Arcese 2003;  $F_{ST} = 0.044$  in *Emberiza schoeniclus*, Grapputo et al. 1998;  $F_{ST} = 0.090$  in *Grus canadensis*, Jones et al. 2005;  $F_{ST} = 0.124$  in *Chlamydotis undulata*, Pitra et al. 2004;  $F_{ST} = 0.174$  in *Luscinia svecica*, Johnsen et al. 2006;  $F_{ST} = 0.362$  in *Charadrius alexandrius*, Funk et al. 2007;  $F_{ST} = 0.571$  in *Lanius ludovicianus*, Eggert et al. 2004). In addition, there was a significant morphological divergence between islands, especially when considering Dominica (Fig. 2). Finally, individuals from Dominica show sensible differences in colour from other birds. Brown upperparts are darker, belly is white and scaly pattern of underparts is smaller than in other islands where it goes from the breast to the upper belly of birds (Clement & Hathway 2000). Male song in Dominica sounds different as well (EA, personal observation). All these elements suggest that the three study islands are inhabited by incipient species, at least in Dominica. Although it was not possible to get samples from Saint Lucia because of the local rarity of the species, museum specimens may offer a valuable alternative to assess position of birds from this island (Wandeler et al. 2007).



*Within-island microallopatry*

The most significant result of our study is the strong genetic differentiation ( $F_{ST}$  values from 0.073 to 0.153) underlying morphological divergence between Basse-Terre and Grande-Terre in view of the small spatial scale considered (distances between closest sampling sites being 12 km only). Isolation of the two zones may have promoted the observed phenotypic divergence through genetic drift. Basse-Terre and Grande-Terre are connected by an isthmus which is covered by the western part of the main city of the island, namely Pointe-à-Pitre, as well as suburbs (Fig. 1). This urbanized area has expanded rapidly over the past 50 years, and the isthmus is now fully urbanized over half of its length (2 km) and its entire width (4 km). Although the Forest thrush is physically capable of flying from one zone to the other, this urbanized area may well represent a strong barrier to gene flow. It is now becoming clear that physical dispersal potential may be a poor predictor of realized gene flow in various taxa, even in the absence of obvious physical barrier to migration (Bergek & Björklund 2009, Burg & Martin 2012). Geographically close populations may be differentiated because of natural selection against immigrants (Nosil et al. 2005) or because of behavioral barriers (Harris & Reed 2002, Friesen et al. 2007). Recent works have on tropical birds shown a strong inhibition for crossing unsuitable habitats, even over very short distances (Van Houtan et al 2007, Moore et al. 2008, Burney & Brumfield 2009, Laurence et al. 2009). Linked to species' ecological features, this behavioral inhibition seems to be stronger in habitat specialist, understory-dwellers, tropical species, solitary species, and non-migratory species than in their ecological counterparts (Harris & Reed 2002). Current knowledge on the ecology of the Forest thrush (Bénito-Espinal & Hautcastel 2003) and an ongoing radio-tracking survey (unpublished data) suggest that this bird has the perfect profile of a poor disperser. Studies of small scale differentiation are important as the above-cited studies suggest that the ongoing habitat fragmentation in tropical forests may have deeper impact than previously thought on

avian population biology (Sekercio et al. 2002, Sodhi et al. 2004, Laurance 2010). They also suggest that we may underestimate within-species biodiversity (Milá et al. 2012).

*Possible role of selection in phenotypic divergence within Guadeloupe*

Although allopatric divergence through drift certainly occurred in Guadeloupe, we cannot reject other non-exclusive explanations for the observed morphologic divergence. Grande-Terre and Basse-Terre provide contrasted environmental conditions. Climate is more rainy and colder in Basse-Terre than in Grande-Terre, partly because of the higher elevation in the southern half of the island. Forest thrush lives in a continuous rain forest in Basse-Terre whereas it mainly occurs in coastal wet forests (often secondary growth and fragmented) in Grande-Terre. Hence, Forest thrush may be faced with divergent selective regimes in the two geographic zones driving divergence through phenotypic plasticity or local adaptation. Phenotypic plasticity is a plausible explanation as differences in resources availability and quality or sanitary conditions between Basse-Terre and Grande-Terre could influence development of dynamic traits such as feather length through individual body condition (Hamilton 1961, Faivre et al. 2003, Evans et al. 2009).

On the other hand, natural selection may have led to morphological differentiation between the two zones, as it has been reported in other species even at small spatial scale (*e.g.* Blondel et al. 1999, De León et al. 2010, Mila et al. 2010). Indeed, we measured morphological traits that may be linked to selective forces. Several studies have demonstrated the relationship between leg morphology and locomotion or foraging in birds (*e.g.* Zeffler et al. 2003, Moreno & Carrascal 1993). Other works also showed that different wing morphologies are favored in more or less open habitats (Schluter 1998). In addition, heritability of the same morphological traits has been previously reported in other bird species (Schluter & Smith 1986, Bears et al. 2008).

*Implications for conservation planning*

Forest thrush has been classified as vulnerable according to the IUCN Red List (IUCN 2012) because populations have seriously declined in the last years. One of the main cause is the loss of native habitats (notably rainforest) caused by activities of a dense and growing human population (Cincotta et al. 2000). Hence, there is a real need to gather information to guide population or habitat management. Our results provide a first conservation framework.

Because the limited resources allocated to organisms and habitats preservation contrast with the large and growing number of entities in need of preservation efforts, priorities have to be defined. For a given species, it implies identification of populations who's lost will greatly reduce the overall evolutionary potential of this species. Many criteria and methods have been proposed and discussed in such a context, and this topics still motivates a growing field of study (Rasplus et al. 2001, Palsbøll et al. 2006, Allendorf & Luikart 2007, Frankham et al. 2009, Richardson & Whittaker 2010).

One criterion may be the uniqueness of populations or groups of populations, whether it is defined according to genetic, morphologic, behavioural or ecological data. This idea led to the concept of the Evolutionary Significant Units (ESU; Moritz 1994) and is based on the hypothesis that such entities have unique adaptations (current or potential) to environment. Another common criterion is the level of genetic variability within populations, as this parameter is assumed to predict short-term viability and long-term evolutionary potential (Petit et al. 1998). As a population may receive different priority levels according to the chosen criteria, conservation recommendations based on several criteria are often more valuable (Rasplus et al. 2001). Indeed, focusing efforts on maintaining evolutionary potential in the Forest thrush would lead to preserve populations from Basse-Terre as it is the largest reservoir of genetic information. It is worth noting that forest in this zone is protected by the Guadeloupe National Park. On the other side, Dominica and Montserrat would receive little

consideration. However, birds from Dominica exhibit distinctive morphology and many private alleles. In addition, colour patterns as well as song are quite different on this island, what may suggest an incipient reproductive isolation. Additional data such as mtDNA-based phylogenies would be required for confirmation (Moritz 1994), but Dominica entity can probably be viewed as a distinct ESU. Although significantly differentiated (both morphologically and genetically), other entities are less divergent and further investigation is clearly needed to consider them as distinct ESUs. Our quantification of different levels of divergence between islands is relevant in this context. First, even if subspecies were assumed on each island, using this classification could misdirect conservation efforts (Zink 2004). Second, populations may have to be reinforced by transplantation of individuals captured on a different island. In this case, the large divergence of birds from Dominica would lead to their exclusion of such action in order to avoid loss of critical adaptive features or to compromise efficiency of the transplantation because of outbreeding depression (Crnokrak & Merilä 2002, McKay & Latta 2002). In summary, Basse-Terre and Dominica seems to be the two entities deserving the greatest attention for the Forest thrush conservation.

### **Acknowledgements**

Financial support for this work was provided by the Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS), the Fonds Européens de Développement Régional (FEDER), the Guadeloupe National Park (PNG), the Direction de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement de la Guadeloupe (DEAL 971), the Conseil Régional de Bourgogne and the Rotary Club of Burgundy. Bird sampling has been done with permits from several organizations: PNG (Autorisation n°10-11), DEAL (N°13616\*01), ONCFS (Autorisation N°2010-001), the Parc de la Valombreuse, Department of Environment of Montserrat and Ministry of Agriculture, Forestry in Commonwealth of Dominica and Forestry Department in Saint Lucia.

We thank E. Bénito-Espinal, A. Levesque, G. Leblond, J. Arlington, S. Durand, B. Jon Baptist, A. Dornelly, A. Toussaint, G. Gray, J. Daley and Stephen who shared their knowledge on the Forest thrush and its breeding sites, and provided help for fieldwork. Thanks to F. Duzon, I. Rivault, F. Omnès-Daeron, V. Guérineau, and M. Coco for their help.

## References

- Allendorf FW (1983) Isolation, gene flow and genetic differentiation among populations. In: *Genetics and Conservation: A Reference for Managing Wild Plant and Animal Populations* (eds Schonewald-Cox CM, Chambers SM, MacBryde B, Thomas WL), pp. 51-66. Benjamin/Cummings, New York.
- Allendorf FW, Luikart G (2007) *Conservation and the genetics of populations*. Blackwell Publishing, Malden, USA.
- Avise JC (2004) *Molecular markers, natural history, and evolution*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Barton NH, Hewitt GM (1985) Analysis of hybrid zone. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **16**, 113-148.
- Baylac M, Villemant C, Simbolotti G (2003) Combining geometric morphometrics with pattern recognition for the investigation of species complexes. *Biological Journal of the Linnean Society*, **80**, 89-98.
- Bears H, Drever MC, Martin K (2008) Comparative morphology of dark-eyed junco *Junco hyemalis* breeding at two elevations: a common aviary experiment. *Journal of Avian Biology*, **39**, 152-162.
- Bénito-Espinal E, Hautcastel P (2003) *Les oiseaux des Antilles et leur nid*. PLB Editions. Guadeloupe.

- Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Raufaste N, Bonhomme F (2001) GENETIX 4.02, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier.
- Bergek S, Björklund M (2009) Genetic and morphological divergence reveals local subdivision of perch (*Perca fluviatilis* L.). *Biological Journal of the Linnean Society*, **96**, 746-758.
- Blondel J, Dias PC, Perret P, Masitreand M, Lambrechts MM (1999) Selection-based biodiversity at a small spatial scale in a low-dispersing insular bird. *Science*, **285**, 1399-1402.
- Bolnick DI & Fitzpatrick BM (2007) Sympatric speciation: models and empirical evidence. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, **38**, 459-487.
- Bouysse P, Westercamp D, Andreieff P (1990) The Lesser Antilles island arc. *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results*, **110**, 29-44.
- Burg TM, Martin AB (2012) No Island hopping for Hawaiian petrels. *Heredity*, **109**, 4-5.
- Burney CW, Brumfield RT (2009) Ecology predicts levels of genetic differentiation in Neotropical birds. *The American Naturalist*, **174**, 358-368.
- Chan Y & Arcese P (2003) Morphological and microsatellite differentiation in *Melospiza melodia* (Aves) at a microgeographic scale. *Journal of Evolutionary Biology*, **16**, 939-947.
- Cincotta RP, Wisnewski J, ENgelman R (2000) Human population in the biodiversity hotspots. *Nature*, **404**, 990-992.
- Clement P, Hathway R (2000) *Thrushes*. Christopher Helm, London.
- Coyne JA & Orr HA (2004) *Speciation*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Coyne JA & Price TD (2000) Little evidence for sympatric speciation in islands birds. *Evolution*, **54**, 2166-2171.

- 
- Crandall KA, Bininda-Emonds ORP, Mace GM, Wayne RK (2000) Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution*, **15**, 290–295.
- Crawford NG (2010) SMOGD: software for the measurement of genetic diversity. *Molecular Ecology Resources*, **10**, 556-557.
- Crnokrak P, Merilä J (2002) Genetic population divergence: markers and traits. *Trends in Ecology and Evolution*, **17**, 501.
- De León LF, Bermingham E, Podos J, Hendry AP (2010) Divergence with gene flow as facilitated by ecological differences: within-island variation in Darwin's finches. *Philosophical Transaction of Royal Society B*, **365**:1041-1052.
- Eggert LS, Mundy NI, Woodruff DS (2004) Population structure of loggerhead shrikes in the California Channel Islands. *Molecular Ecology*, **13**, 2121-2133.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, **14**, 2511-2520.
- Evans KL, Gaston KJ, Sharp Sp, McGowanand A, Hatchwell BJ (2009) The effect of urbanization on avian morphology and latitudinal gradients in body size. *Oikos*, **118**, 251-259.
- Faivre B, Grégoire A, Prévault M, Cézilly F, Sorci G (2003) Immune activation rapidly mirrored in a secondary sexual trait. *Science*, **300**, 103.
- Filardi CE, Moyle RG (2005) Single origin a pan-Pacific bird group and upstream colonization of Australasia. *Nature*, **438**, 216-219.
- Fraley C, Raftery AE (1998) *How many clusters ? Which clustering method? Answers via model-based analysis*. Technical report no.329. Seattle: University of Washington, Department of Statistics.

- Fraley C, Raftery AE (1998) How many clusters? Which clustering method? Answers via model-based analysis. Technical report no. 329. Seattle: University of Washington, Department of Statistics.
- Fraley C, Raftery AE (2002) Model-based clustering, discriminant analysis, and density estimation. *Journal of the American Statistical Association*, **97**, 611-631.
- Fraley C, Raftery AE (2003) Enhanced model-based clustering, density estimation, and discriminant analysis software: MCLUST. *Journal of Classification*, **20**, 263-286.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2009) *Introduction to conservation genetics*. Cambridge University Press.
- Friedolfsson AK, Ellegren H (1999) A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *Journal of Avian Biology*, **30**, 116-121.
- Friesen VL, Burg TM, McCoy KD (2007) Mechanisms of population differentiation in seabirds. *Molecular Ecology*, **16**, 1765-1785.
- Funk WC, Mullins TD, Haig SM (2007) Conservation genetics of snowy plovers (*Charadrius alexandrinus*) in the Western Hemisphere: population genetic structure and delineation of subspecies. *Conservation Genetics*, **8**, 1287-1309.
- Garnier S, Alibert P, Audiot P, Prieur B, Rasplus J-Y (2004) Isolation by distance and sharp discontinuities in gene frequencies: implications for the phylogeography of an alpine insect species, *Carabus solieri*. *Molecular Ecology*, **13**, 1883-1897.
- Goudet J, Raymond M, de Meeüs T, Rousset F (1996) Testing differentiation in diploid populations. *Genetics*, **144**, 1933-1940.
- Grant PR (1998) *Evolution on islands*. Oxford University Press.
- Grapputo A, Pilastro A, Marin G (1998) Genetic variation and bill size dimorphism in a passerine bird, the reed bunting *Emberiza schoeniclus*. *Molecular Ecology*, **7**, 1173-1182.



- Hamilton TH (1961) The adaptive significances of intraspecific trends of variation in wing length and body size among bird species. *Evolution*, **15**, 180-195.
- Harris RJ, Reed JM (2002) Behavioral barriers to non-migratory movements of birds. *Annales Zoologici Fennici*, **39**, 275-290.
- Hedrick PW (2005) A standardized genetic differentiation measure. *Evolution*, **59**, 1633-1638.
- Hillis, DM, Moritz C, Mable BK (1996) *Molecular Systematics*. 2 edition. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Hubisz M, Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2009) Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, **9**, 1322-1332.
- IUCN (2012) IUCN Red List of Threatened Species (ver. 2012.1). Available at: <http://www.iucnredlist.org>.
- Johnsen A, Andersson S, Garcia Fernandez J, Kempnaers B, Pavel V, Questiau S, Raess M, Rindal E, Lifjeld JT (2006) Molecular and phenotypic divergence in the bluethroat (*Luscinia svecica*) subspecies complex. *Molecular Ecology*, **15**, 4033-4047.
- Jones KL, Krapu GL, Brandt DA, Ashley MV (2005) Population genetic structure in migratory sandhill cranes and the role of Pleistocene glaciations. *Molecular Ecology*, **14**, 2645-2657.
- Kalinowski ST (2004) Counting alleles with rarefaction: private alleles and hierarchical sampling designs. *Conservation Genetics*, **5**, 539-543.
- Kekkonen J, Seppä P, Hanski IK, Jensen H, Väisänen RA, Brommer JE (2011) Low genetic differentiation in a sedentary bird: house sparrow population genetics in a contiguous landscape. *Heredity*, **106**, 183-190.

- King TL, Eackles MS, Henderson AP, Bocetti CI, Currie D, Wunderle JR JM (2005) Microsatellite DNA markers for delineating population structure and kinship among the endangered Kirtland's warbler (*Dendroica kirtlandii*). *Molecular Ecology Notes*, **5**, 569-571.
- Kisel Y & Barrclough TG (2010) Speciation has a spatial scale that depends on levels of gene flow. *The American Naturalist*, **175**, 316-334.
- Laurence WF (2010) Habitat destruction: death by a thousand cuts. In *Conservation Biology for All* (eds Sodhi NS, Ehrlich PR), pp73-87. Oxford University Press, Oxford.
- Laurence WF, Goosem M, Laurance SGW (2009) Impacts of roads and linear clearings on tropical forests. *Trends in Ecology and Evolution*, **24**, 659-669.
- Losos JB, Ricklefs RE (2009) Adaptation and diversification on islands. *Nature*, **457**, 830-836.
- Losos JB & Schluter D (2000) Analysis of an evolutionary species-area relationship. *Nature*, **408**, 847-850.
- Mallet J (2001) The speciation revolution. *Journal of Evolutionary Biology*, **14**, 887-888.
- McKay JK, Latta RG (2002) Adaptive population divergence: markers, QTL and traits. *Trends in Ecology and Evolution*, **17**, 285-291.
- Milá B, Warren BH, Heeb P, Thébaud C (2010) The geographic scale of diversification on islands: genetic and morphological divergence at a very small spatial scale in the Mascarene grey white-eye (Aves: *Zosterops borbonicus*). *BMC Evolutionary Biology*, **10**, 158-171.
- Milá B, Tavares ES, Muñoz Saldaña A, Karubian J, Smith TB, Baker AJ (2012) A trans-Amazonian screening of mtDNA reveals deep intraspecific divergence in forest birds and suggests a vast underestimation of species diversity. *PloS ONE*, **7**, e40541.

- Molecular Ecology Resources Primer Development Consortium, Arias, M. C., Arnoux, E., Bell, J. J., Bernadou, A., Bino, G., Blatrix, R., Bourguet, D., Carrea, C., Clamens, A.-L., Cunha, H. A., D'alençon, E., Ding, Y., Djieto-Lordon, C., Dubois, M. P., Dumas, P., Eraud, C., Faivre, B., Francisco, F. O., Françoso, E., Garcia, M., Gardner, J. P. A., Garnier, S., Gimenez, S., Gold, J. R., Harris, D. J., HE, G., Hellemans, B., Hollenbeck, C. M., Jing, S., Kergoat, G. J., Liu, B., McDowell, J. R., McKey, D., Miller, T. L., Newton, E., Pagenkopp Lohan, K. M., Papetti, C., Paterson, I., Peccoud, J., Peng, X., Piatscheck, F., Ponsard, S., Reece, K. S., Reisser, C. M. O., Renshaw, M. A., Ruzzante, D. E., Sauve, M., Shields, J. D., Solé-Cava, A., Souche, E.L., Van Houdt, J.K.J., Vasconcellos, A., Volckaert, F. A. M., Wang, S., Xiao, J., Yu, H., Zané, L., Zannato, B., Zemplak, T. S., Zhang, C., Zhao, Y., Zhou, X. and Zhu, L. (2012), Permanent Genetic Resources added to Molecular Ecology Resources Database 1 December 2011 – 31 January 2012. *Molecular Ecology Resources*, 12: 570–572. doi: 10.1111/j.1755-0998.2012.03133.x
- Moreno E, Carrascal LM (1993) Leg morphology and feeding posture in four *Parus* species: an experimental ecomorphological approach. *Ecology*, **74**, 2037-2044.
- Moritz C (1994) Defining 'Evolutionary Significant Units' for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, **9**, 373-375.
- Moore RP, Robinson WD, Lovette IJ, Robinson TR (2008) Experimental evidence for extreme dispersal limitation in tropical forest birds. *Ecology Letters*, **11**, 960-968.
- Nosil P, Vinesand TH, Funk DJ (2005) Reproductive isolation caused by natural selection against immigrants from divergent habitats. *Evolution*, **59**, 705-719.
- Oksanen J, Blanchet G, Kindt R, Legendre P, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Henry M, Stevens H, Wagner H (2012) Vegan: community ecology package. R package version 2.0-4. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>

- 
- Palsbøll PJ, Bérubé M, Allendorf FW (2006) Identification of management units using population genetic data. *Trends in Ecology and Evolution*, **22**, 11-16.
- PetitRJ, El Mousadik A, Pons O, (1998) Identifying populations for conservation on the basis of genetic methods. *Conservation Biology*, **13**, 1507-1509.
- Pinho C, Hey J (2010) Divergence with Gene Flow: Models and Data. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, **41**, 215–30.
- Pitra C, D'Aloia M-A, Lieckfeldt D, Combreau O (2004) Genetic variation across the current range of the Asian houbara bustard (*Chlamydotis undulate macqueenii*). *Conservation Genetics*, **5**, 205-215.
- Price T (2008) *Speciation in birds*. Greenwood Village, Colorado: Roberts and Company.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**, 945-959.
- R Core Team (2012) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>
- Raffaele H, Wiley J, Garrido O, Keith A, Raffaele J (1998) *Birds of the West Indies*. Christopher Helm, London.
- Randi E (2007) Detecting hybridization between wild species and their domesticated relatives. *Molecular Ecology*, **17**, 285-293.
- Rasplus J-Y, Garnier S, Meusnier S, Piry S, Mondor G, Audiot P, Cornuet J-M (2001) Setting conservation priorities: the case study of *Carabus solieri* (Col. Carabidae). *Genetics, Selection, Evolution*, **33**, S141-S175.
- Rice WR., Hostert EE (1993) Laboratory Experiments and Speciation: What Have We Learned in 40 Years ? *Evolution*, **47**, 1637-1653.

- Richardson DM, Whittaker RJ (2010) Conservation biogeography – foundations, concepts and challenges. *Diversity and Distributions*, **16**, 313-320.
- Ricklefs RE, Bermingham E (2007) The causes of evolutionary radiations in archipelagos: passerine birds in the Lesser Antilles. *The American Naturalist*, **169**, 285-297.
- Rosenberg NA (2004) Distruct: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes*, **4**, 137-138.
- Rosindell J & Phillimore AB (2011) A unified model of island biogeography sheds light on the zone of radiation. *Ecology Letters*, **14**, 552-560.
- Rousset F (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics*, **145**, 1219-1228.
- Rousset F (2008) GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, **8**, 103-106.
- Ryan PG, Bloomer P, Moloney CL, Grant TJ, Delpont W (2007) Ecological speciation in South Atlantic island finches. *Science*, **315**, 1420-1423.
- Schluter D (1998) The evolution of finch communities on islands and continents: Kenya vs. Galapagos. *Ecological Monography*, **58**, 229-249.
- Schluter D (2001) Ecology and the origin of species. *Trends in Ecology and Evolution*, **16**, 372-380.
- Schluter D, Smith JNM (1986) Natural selection on beak and body size in the song sparrow. *Evolution*, **40**: 221-231.
- Sekercioglu CH, Ehrlich PR, Daily GC, Aygen D, Goehring D, Sandi RF (2002) Disappearance of insectivorous birds from tropical forest fragments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**, 263-267.
- Slatkin M (1981) Estimating levels of gene flow in natural populations. *Genetics*, **99**: 323-335.

- Sly ND, Townsend AK, Rimmer CC, Townsend JM, Latta SC, Lovette IJ (2011) Ancient islands and modern invasions: disparate phylogeographic histories among Hispaniola's endemic birds. *Molecular Ecology*, **20**, 5012-5024.
- Sodhi NS, Liow LH, Bazzaz FA (2004) Avian extinctions from tropical and subtropical forests. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **35**, 323-345.
- Sokal RR, Rohlf FJ (1995) *Biometry: the principles and practices of statistics in biological research*. WH Freeman and Company, New York.
- Szpiech ZA, Jakobsson M, Rosenberg NA (2008) ADZE: a rarefaction approach for counting alleles private to combinations of populations. *Genetics and population analysis*, **24**, 2498-2504.
- Van Houtan KS, Pimm SL, Halley JM, Bierregaard RO, Lovejoy TE (2007) Dispersal of Amazonian birds in continuous and fragmented forest. *Ecology Letters*, **10**, 219-229.
- Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P (2004) MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*. **4**, 535-538.
- Wandeler P, Hoeck PEA, Keller LF (2007) Back to the future: museum specimens in population genetics. *Trends in Ecology and Evolution*, **22**, 634,642.
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**, 1358-1370.
- Whittacker R, Fernández Palacios JM (2007) *Island Biogeography: Ecology, Evolution and Conservation*. Oxford University Press.
- Zeffer A, Johansson C, Marmebro A (2003) Functional correlation between habitat use and leg morphology in birds (Aves). *Biological Journal of the Linnean Society*, **79**, 461-484.

Zink RM (2004) The role of subspecies in obscuring avian biological diversity and misleading conservation policy. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **271**, 561-564.

## Supporting information

**Table S1.** Characteristics of the 10 microsatellite loci used. One of the two primers was fluorescently labelled with FAM, VIC, NED, or PET. T<sub>m</sub> is the annealing temperature in °C; range is the size of the smallest and the largest allele (in base pairs); Na is the total number of alleles found. As all loci were previously isolated in other species, references are given for the original publication of loci identification (but see Molecular Ecology Resources Primer Development Consortium et al. (2012) for more information).

Locus Name	Primer sequence (5' to 3')	T <sub>m</sub>	Range	Na	Reference
Ase40	FAM-CACTGCTCCAGGCACTCTG GTTTCTT-TCCAAGGCACACAAAGGTG	60	234-244	6	Richardson et al. 2000
Ase64	VIC-CCACCTTTCATACTGGGGAG GTTTCTTCAGCCAGTCAGTGTAGCC	52	379-464	19	Richardson et al. 2000
Asμ15	NED-AATAGATTCAGGTGCTTTTTCC GGTTTTTGAGAAAATTATACTTTCAG	49	106-138	9	Bulgin et al. 2003
Cuμ05	PET-ACCTCTAAATACCTGTGAGTGC GTTTCTTACTGTGGTATTCTTTACCTAGCA	48	154-188	14	Gibbs et al. 1999
Cuμ28	PET-GAGGCACAGAAATGTGAATT TAAGTAGAAGGACTTGATGGCT	48	154-169	5	Gibbs et al. 1999
DkiB119	VIC-CATACAACCTTCATGACTACCATAGCAC TCCATAGTGACATAGAACGAGCTG	50	233-239	6	Kings <i>et al.</i> 2005
PatMP2-43	PET-ACAGGTAGTCAGAAATGGAAAG GTATCCAGAGTCTTTGCTGATG	52	127-197	18	Otter <i>et al.</i> 1998
Tgu02	VIC-TGGATTACCTGTCTGAAAGACC TTCAGTGTCTAGTCCAACCCTGT	50	184-190	5	Replogle et al. 2008, Slate et al. 2007
Tgu07	PET-CTTCCTGCTATAAGGCACAGG AAGTGATCACATTTATTTGAATAT	50	100-114	8	Replogle et al. 2008, Slate et al. 2007



---

TG04-012	NED-TGAATTTAGATCCTCTGTTCTAGTGTC	49	146-162	5	Replogle et al. 2008
	TTACATGTTTACGGTATTTCTCTGG				

---

## References

- Bulgin NL, Gibbs HL, Vickery P, Baker AJ (2003) Ancestral polymorphisms in genetic markers obscure detection of evolutionarily distinct populations in the endangered Florida grasshopper sparrow (*Ammodramus seivannarum floridanus*). *Molecular Ecology*, **12**, 831-844.
- Gibbs HL, Tabak LM, Hobson K (1999). Characterization of microsatellite DNA loci for a neotropical migrant songbird, the Swainson's thrush (*Catharus ustulatus*). *Molecular Ecology*, **8**, 1551-1561.
- King TL, Eackles MS, Henderson AP, Bocetti CI, Currie D, Wunderle JR JM (2005) Microsatellite DNA markers for delineating population structure and kinship among the endangered Kirtland's warbler (*Dendroica kirtlandii*). *Molecular Ecology Notes*, **5**, 569-571.
- Otter K, Ratcliffe L, Michaud D, Boag PT (1998) Do female black-capped chickadees prefer high-ranking males as extra-pair partners? *Behavioural Ecology and Sociobiology*, **43**, 25-36.
- Replogle K, Arnold AP, Ball GF, Band M, Bensch S, Brenowitz EA, Dong S, Drnevich J, Ferris M, George JM, Gong G, Hasselquist D, Hernandez AG, Kim R, Lewin HA, Liu L, Lovell PV, Mello CV, Naurin S, Rodriguez-Zas S, Thimmapuram J, Wade J, Clayton DF (2008) The songbird neurogenomics (SoNG) initiative: community-based tools and strategies for study of brain gene function and evolution. *BMC Genomics*, **9**,131.
- Richardson DS, Jury FL, Dawson DA, Salgueiro P, Komdeur J, Burke T (2000) Fifty Seychelles warbler (*Acrocephalus sechellensis*) microsatellite loci polymorphic in Sylviidae species and their cross-species amplification in other passerine birds. *Molecular Ecology*, **9**, 2226-2231.
- Slate J, Hale MC, Birkhead TR (2007) Simple sequence repeats in zebra finch (*Taenopygia guttata*) expressed sequence tags: a new resource for evolutionary genetic studies of passerines. *BMC Genomics*, **8**, 52

**Table S2.** Factor loadings of the five morphological traits extracted from the PCA

---

<b>Locus Name</b>	<b>PC1</b>	<b>PC2</b>
Weight	-0.50	-0.21
Tarsus length	-0.04	-0.75
Wing length	-0.58	0.13
Head + Bill length	-0.35	-0.45
Tail length	-0.54	0.40

---



## **Chapitre III**

---

Evolution temporelle de la variabilité génétique  
des populations de Grives à pieds jaunes



## **Chapitre III Evolution temporelle de la variabilité génétique des populations de Grives à pieds jaunes**

La variabilité génétique d'une espèce conditionne en partie son potentiel adaptatif aux variations environnementales et diminue son risque d'extinction (Frankham 2005). Cette variabilité possède une structure spatiale dont l'étude est indispensable à la gestion de populations naturelles ; qu'il s'agisse de définir les populations à conserver en priorité, ou encore de déterminer les sources potentielles pour des opérations de renforcement des populations par l'introduction d'individus allochtones (Rasplus et al. 2001, Allendorf & Luikart 2007). La description des patrons spatiaux de variabilité n'est toutefois pas suffisante pour assurer une bonne orientation des actions menées en termes de conservation. La compréhension des processus à l'origine de la structure actuelle des populations s'avère cruciale à ce titre. Le développement relativement récent de certaines méthodes moléculaires ouvre depuis peu de nouvelles perspectives en permettant d'étudier et de comparer notamment les caractéristiques génétiques de spécimens anciens (structure et diversité) issus de collections des muséums avec celles des populations actuelles (Handt et al. 1994, Hauswirth et al. 1994, Horvath et al. 2005, Haig et al. 2011). Dans ce contexte les perspectives pour la Grive à pieds jaunes incluent la détection d'éventuels changements récents de diversité génétique, l'évaluation de son amplitude au cours du temps ou encore la structure des populations incluant des spécimens anciens de Sainte-Lucie.

Cette étude a été réalisée sur un sous-échantillon d'oiseaux capturés au cours des saisons 2010 et 2011 pour la période contemporaine et sur 37 échantillons issus des collections de différents musées nationaux et internationaux pour la période ancienne (cf manuscrit 4). Les opérations d'extraction et d'amplification de l'ADN ont été traitées dans le laboratoire

Biogéosciences (Dijon) pour l'ADN contemporain et sur la plateforme dédiée à l'ADN dégradé (LabEx CeMEB, Montpellier) pour les spécimens de musées afin d'éviter toutes contaminations. Les extraits d'ADN obtenus ont servi de support à l'amplification de deux types de marqueurs génétiques : le gène cytochrome b (Cytb) issu de l'ADN mitochondrial (mtDNA) et plusieurs loci microsatellites. Compte-tenu de l'état potentiel de dégradation des extraits d'ADN (fragments de longueur 150-200 paires de base [Bp]), seuls 4 loci ont été utilisés sur les 12 disponibles (manuscrit 1). Ces microsatellites sont *Asu15*, *Cuu28*, *Pat43* et *Tgu7*. Les marqueurs pour l'amplification de Cytb ont été définis pour la Grive à pieds jaunes à partir de séquences accessibles via la banque de données Genbank (*Turdus lherminieri*: EU154586, EU154584).

Les méthodologies d'analyses employées sont détaillées dans le manuscrit 4. Brièvement, les relations phylogénétiques entre les différentes sous-espèces ont été reconstruites à partir des haplotypes du gène Cytb et selon deux approches : l'une s'appuyant sur la méthodologie du maximum de vraisemblance (ML, Guindon et al. 2010), la seconde s'appuyant sur une inférence de type Bayésienne (BAYE, Ronquist et al. 2011). En complément, un second arbre phylogénétique a également été construit, basé cette fois sur la distance génétique évaluée à partir des données microsatellites. L'étude de la variabilité spatiale et temporelle associée aux caractéristiques génétiques des populations s'est appuyée dans un premier temps sur l'analyse des marqueurs de type loci microsatellites. A cet effet, Basse-Terre (Guadeloupe), Montserrat, la Dominique et Ste-Lucie ont été considérées comme autant d'entités géographiques. Leur richesse allélique ( $R_a$ ), leur diversité génétique ( $H_e$ ) ou encore leur niveau de différenciation (test  $F_{st}$ ) ont été évalués aux différentes périodes (1900, 2010) ainsi qu'au cours du temps pour la Basse-Terre et la Dominique. Une approche comparative identique a été opérée sur la base des données de Cytb. Les différentes séquences de Cytb ont été obtenues pour 27 échantillons récoltés sur la période 1883-1914 (Montserrat  $n = 1$ , Basse-

Terre n = 13, Dominique n = 8, Ste-Lucie n = 6), pour 7 échantillons récoltés en 1960 sur la Dominique ainsi que pour 60 échantillons contemporains (Montserrat n = 9, Basse-Terre n = 28, Grande-Terre n = 15, Dominique n = 11). Les éléments de comparaisons entre les différentes entités géographiques ou périodes (uniquement pour la Dominique et Basse-Terre dans ce dernier cas) incluaient le niveau de différenciation (test Fst), le nombre d'haplotype (nh), le nombre de sites polymorphes (S), le nombre moyen d'allèles (k) ainsi que la diversité nucléotidique (p) et haplotypique (h).

Notre étude révèle un déclin des diversités nucléotidiques, haplotypiques, et génétiques, ainsi que celui de la richesse allélique au sein des populations de la Guadeloupe (Basse-Terre) et de la Dominique. Ce résultat peut suggérer une réduction de la taille des populations depuis les années 1900, accompagnée d'une dérive génétique. Les phénomènes de goulot d'étranglement sont connus pour impacter de manière très significatives les composantes génétiques des populations, entraînant une perte en hétérozygotie (Nei et al. 1975) ou bien celle de certains allèles (Maruyama & Fuerst 1985). Nos résultats témoignent que de nombreux haplotypes et allèles ont effectivement disparus des populations de la Dominique et de Basse-Terre, alors qu'un phénomène de fixation de deux allèles est intervenu chez les oiseaux de la Dominique. De nouveau la fixation de ces allèles pourrait correspondre à une réduction de la taille des populations comme cela a été décrit par exemple chez l'Esturgeon (*Acipenser sturio*, Ludwig et al. 2000). L'hypothèse d'un changement dans la démographie des populations est également supportée par la perte importante d'allèles microsatellites entre 1900 et 2010. Les processus d'apparition d'allèles « fantômes » sont en effet généralement attribués soit à une dérive génétique rapide ou à des changements démographiques majeurs impliquant notamment des goulots d'étranglement ou encore des cycles d'extinction/recolonisation (Wright 1940, Slatkin 1977, Wade & McCauley 1988). En



l'absence de suivis des effectifs implémentés sur le long terme, il nous est difficile de mesurer l'ampleur du déclin au sein des différentes populations de Grives à pieds jaunes. L'ensemble de nos résultats supportent toutefois l'idée que les effectifs des populations de Basse-Terre et de la Dominique se montrent plus réduits aujourd'hui que par le passé.

L'étude des séquences du gène Cytochrome b et de 4 marqueurs microsatellites confirment la forte différenciation des populations de Grive à pieds jaunes déjà mise en lumière par l'étude approfondie de 10 loci microsatellites (manuscrit 3). Un des apports originaux réside dans l'utilisation de spécimens anciens à partir desquels il nous a été possible d'évaluer le niveau de différenciation de la sous-espèce *T.l. sanctae luciae*, faute de disposer d'échantillons contemporains compte-tenu de l'inquiétante rareté actuelle des oiseaux sur l'île de Sainte-Lucie. La Grive à pieds jaunes a récemment été rattachée au genre *Turdus* après que les séquences d'ADN mitochondriale de la sous espèce *T.l.dominicensis* aient été comparées avec celles d'autres espèces de la famille des *Turdidae* (Voelker et al. 2007). A ce jour cependant, les relations phylogénétiques entre les différentes sous-espèces décrites dans l'Arc des Petites Antilles n'avaient jamais fait l'objet d'une évaluation. Quelque soit l'approche utilisée pour reconstruire les arbres phylogénétiques (i.e. ML vs. BAYE), nos résultats convergent vers l'identification de 3 clades : le premier comprenant les oiseaux rattachés à *T. l. dominicensis*, le second comprenant les représentants de *T. l. sancta luciae* et le troisième formé d'un groupe monophylétique associant les oiseaux de la Guadeloupe et ceux de Montserrat. De manière intéressante, ce dernier clade ne concorde pas avec le rattachement des oiseaux de ces deux îles à deux sous-espèces distinctes (i.e. *T. l. lherminieri* et *T. l. lawrenci*) sur la base de critères morphologiques et de plumage (Clement & Hathway 2000). Une telle divergence pourrait s'expliquer par une différenciation évolutive plus rapide des caractères morphologiques comparés à celle de l'ADN mitochondrial. De tels exemples

ont été mis en évidence chez d'autres espèces d'oiseaux comme la Gorgebleue à miroir (*Luscinia svecica*, Johnsen et al. 2006) ou la Bergeronnette printanière (*Motacilla flava*, Ödeen & Björklund 2003). Quoiqu'il en soit, la structuration génétique des populations mise en évidence par nos résultats permet d'identifier 3 unités significatives de gestion (i.e. Evolutionary Significant Unit ; Ryder 1986, Moritz, 1994) à l'échelle desquelles une gestion et une évaluation de l'état de conservation des populations devrait être déclinées. L'une de ces unités regroupant les oiseaux de Guadeloupe et de Montserrat, impliquerait notamment qu'une attention particulière soit portée sur la population de la Basse-Terre compte-tenu des effectifs et de l'importante diversité génétique qu'elle renferme. L'estimation des niveaux de différenciation des populations conduite d'après l'analyse des séquences du gène Cytochrome b met encore une fois en lumière l'extrême originalité des oiseaux de la Dominique. Le niveau de différenciation avec les autres populations (i.e. mtDNA:  $F_{st}$ moyen = 0.96) se révèle cependant beaucoup plus élevé que les valeurs habituellement mesurées entre des sous-espèces d'oiseaux (e.g. Cincle plongeur *Cinclus cinclus* Lauga et al. 2005, Chevalier gambette *Tringa totanus* Ottvall et al. 2005). Par ailleurs, les oiseaux de la Dominique ne partagent aucun haplotype avec les autres populations et leur morphologie se montre également singulière. Cette combinaison de caractères génétiques et morphologiques originaux pourrait refléter la mise en place d'un isolement reproductif (Haig et al. 2006, Garnett & Christidis 2007), soulevant légitimement l'hypothèse de considérer *T. l. dominicensis* comme une espèce à part entière. Faute d'être en mesure de démontrer l'incapacité des oiseaux de la Dominique à engendrer des descendants féconds avec des représentants des autres sous-espèces, il nous est impossible d'affirmer ou infirmer cette hypothèse. Cependant, le fait que nous ayons constaté l'absence de réponse des oiseaux de la Dominique lors de la diffusion de séquences de chants d'oiseaux Guadeloupéens supporterait l'hypothèse d'une mise en place de mécanismes d'isolement reproducteur.



# Manuscrit 4

**Spatial and temporal pattern of genetic structure and diversity in the  
vulnerable Forest Thrush *Turdus lherminieri*  
assessed from historical and contemporary DNA analyses.**

Emilie Arnoux, Christelle Tougard, Cyril Eraud,

Bruno Faivre, Stéphane Garnier

En préparation



**Spatial and temporal pattern of genetic structure and diversity in the  
vulnerable Forest Thrush *Turdus lherminieri*  
assessed from historical and contemporary DNA analyses**

Emilie Arnoux<sup>1</sup>, Christelle Tougard<sup>3</sup>, Cyril Eraud<sup>2</sup>,  
Bruno Faivre<sup>1</sup> and Stéphane Garnier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UMR CNRS 6282-Biogéosciences, Equipe Biome, 6 bd Gabriel, 21000 Dijon, France

<sup>2</sup>Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, CNERA Avifaune migratrice, Station  
biologique de Chizé, Carrefour de la Canauderie, 79360 Villiers en Bois, France

<sup>3</sup>Institut des Sciences de l'Evolution, UMR CNRS 5554, Université de Montpellier II, Place E.  
Bataillon - CC065, 34095 Montpellier

Corresponding author: Emilie ARNOUX

Current address: Equipe Biome, UMR CNRS 6282 - Biogéosciences, 6 boulevard Gabriel,  
21000 DIJON, France

E-mail: [emilie.arnoux@u-bourgogne.fr](mailto:emilie.arnoux@u-bourgogne.fr)

## Introduction

Knowledge of genetic variability is essential for issues of natural populations (Haig 1998). Endangered species are often associated to a reduced genetic variation (Frankham 1995) and this pattern is usually interpreted as resulting from either a recent bottleneck in population size (Frankham et al. 2002, Avise 2004) or geological events like islands formation, glacial-interglacial cycles (Paxinos et al. 2002, Chan et al. 2005). In addition, it is well established that populations with a reduced genetic variability display a lower evolutionary potential to respond to environmental changes and consequently a higher risk of extinction (Frankham 2005, Evans & Sheldon 2008). Because genetic variability is spatially structured, knowledge on this structure is of primordial importance for assessing connectivity and gene flow among populations. While studies of contemporary genetic variation are undeniably valuable in this regard, in many situations it can be difficult to separate out events that might affect population health, such as population fragmentation (Segelbacher et al. 2003), human density and environmental modification (Dalsgaard et al. 2007). Hence, focus was recently put for integrating a temporal dimension in the study of genetic variability (Segelbacher et al. 2003, Reding et al. 2010, Draheim et al. 2012). Indeed, comparisons between contemporary and past populations may enable to detect recent changes in population structure and diversity (Segelbacher et al. 2008, Draheim et al. 2012) and this information may prove useful for designing guidelines and implementing decision rules for population management, *e.g.* definition of populations having priority in conservation, recognition of differentiated entities, identification of potential source populations for supplemental translocations (Rasplus et al. 2001, Allendorff & Luikart 2007, Palsbøll et al. 2007).

In this context, the biological material afforded by museum specimens took a large importance in studies aiming to assess evolutionary changes through time (Taylor et al. 1994, Ruzzante et al. 2001, Hartley et al. 2006, Martinez-Cruz et al. 2007). For instance, DNA extracted from museum specimens was used to bring missing knowledge given the difficulty of accessing to contemporary DNA due to the rarity or disappearance of some species (Austin & Melville 2006). Studies based on museum specimens have also proved useful in revealing historical distribution of species, phylogeny, as well as historical population structure and genetic diversity (Roy et al. 1994, Didham 2006, Wandeler et al. 2007, Segelbacher et al. 2008). Hence, natural history collections provide a unique opportunity to examine the genetic structure of past populations and to detect subtle changes that might be overlooked by examining contemporary data alone (Wandeler et al. 2007), especially in threatened species, or with conservation concerns such as endemic species (Barnett et al. 2006, Boessenkool et al. 2010). Endemic species usually have small population size and restricted distribution area (Pimm 1991). For this reason, they are more prone to local extinction because of several stochastic factors (e.g. demographic, environmental, catastrophic and genetic, Gaston 1994). In addition, endemic populations are often jeopardized because of other factors having an anthropic origin which are exacerbated in the context of insularity (e.g. increase in density of humans, Davies et al. 2006; loss or fragmentation of habitats, Beissinger 2000; climate changes, Forester & Machlis 1996; introduction of exotic species, Fritts & Rodda 1998).

In the current study, we assessed spatial and temporal pattern of genetic structure and diversity in a vulnerable bird species, the Forest Thrush *Turdus lherminieri*. This species belonging to the *Turdus* genus (Voelker et al. 2007) is endemic of the Lesser Antilles where its distribution range encompasses four islands (Guadeloupe, Montserrat, Saint Lucia and Dominica), each one being assumed to hold a subspecies according to plumage and



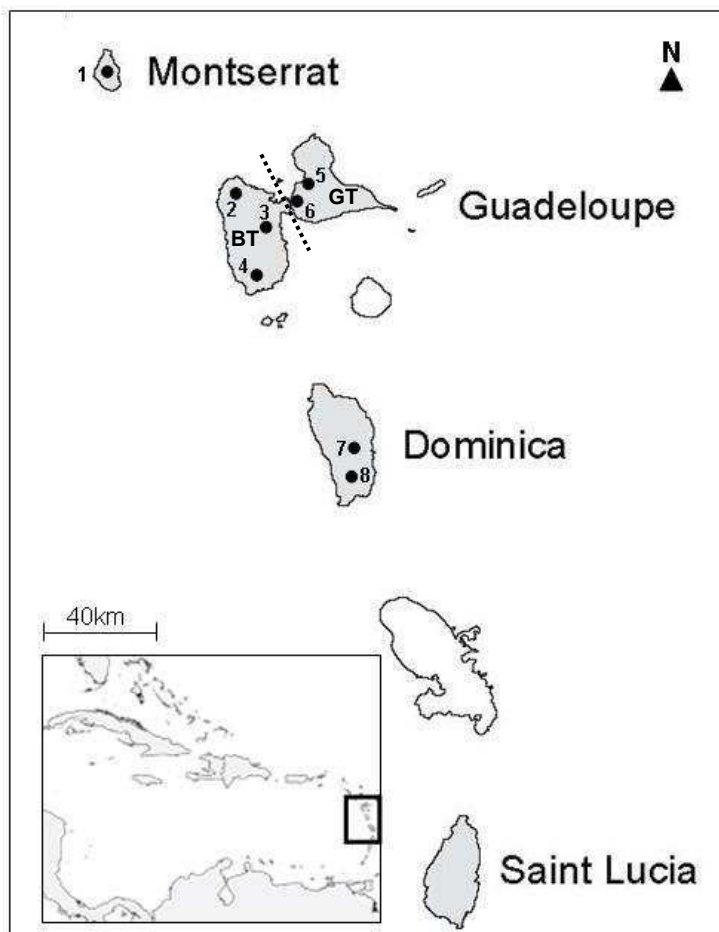
morphological criteria (Montserrat: *T. l. lawrenci*, Guadeloupe: *T. l. lherminieri*, Dominica: *T.l. dominicensis*, Saint Lucia: *T. l. sancta luciae*; Clement & Hathway 2000). While the species can occur in dry forested areas, it inhabits mainly moist tropical forest at elevation ranging from 100 to 900 m. It is thought that populations have suffered a severe decline for 15 years, leading to the classification as “Vulnerable” according to the IUCN Red List. Recently, the Saint Lucia subspecies was listed as “Endangered” by the US Federal Register (Agency of Fish and Wildlife Service, 2010) and our own surveys during one month has confirmed the rarity of the species on this island (manuscript 3). Several factors are hypothesized having caused population decline, including illegal hunting, habitat loss and fragmentation (Federal Register 2010, Birdlife International 2012).

While relevant questions about the management of this species have been raised (Federal Register 2010, Durand & Baptiste 2010), we still lack fundamental information regarding the patterns of genetic structure and diversity, both in space and through time. In this study we investigated the current and past genetic structure across the Forest thrush’s subspecies and, whether current genetic diversity resulted from loss of diversity through time. Using both mitochondrial DNA and microsatellite markers, we based our analyses on contemporary samples and on museum specimens collected by the end of the 19<sup>th</sup> century.

## Materials and methods

### Sampling

Contemporary samples of Forest thrushes were collected in 2010-2011 from three islands: Montserrat ( $n = 21$ ), Guadeloupe ( $n = 105$ ) and Dominica ( $n = 33$ ). In Guadeloupe, individuals belonged to two distinct geographical entities: Basse-Terre ( $n = 61$ ) and Grande-Terre ( $n = 41$ ; Fig. 1). Birds were caught in several sites on each island using mist-nets and audio playback (Fig. 1). A blood pellet was sampled from the brachial vein and stored in Queen Lysis Buffer at room temperature until extraction. Museum samples of Forest thrushes were kindly provided by several museums (Supplementary material, Tab S1). The collections comprised birds collected from 1890 to 1914 on each island (Fig. 1): Montserrat ( $n = 1$ ), Basse-Terre ( $n = 14$ ), Dominica ( $n = 15$ ) and Saint Lucia ( $n = 7$ ). For birds belonging to the *T. t. dominicensis* subspecies (i.e. Dominica), seven individuals collected in 1960 were also included in our analyses (Tab S1).



**Figure 1.** Map of Lesser Antilles showing the sampling sites in Montserrat, Guadeloupe, Dominica and Saint Lucia. Inset represents the position of Lesser Antilles. Sites numeroted from 1 to 8 represents extant samples. *Montserrat* 1: Woodland; *Basse-Terre* (BT) 2: Sofaia, 3: Parc de la Valombreuse, 4: Soufrière; *Grande-Terre* (GT) 5: Petit-Canal, 6: Geffrier; *Dominica* 7: Emerald Pool, 8: Middleham Fall. Museum samples were collected on islands colored in grey: Montserrat, Guadeloupe, Dominica and Saint Lucia.

### General procedure for laboratory analyses

DNA analyses issued from museum and actual samples have been manipulated in two distinct laboratories to avoid cross contamination. All analyses on contemporary samples were performed in a genetic laboratory dedicated to modern DNA (Biogéosciences, Dijon, France) whereas analyses of museum samples were performed in a laboratory dedicated to degraded DNA pre-PCR experiments (Platform of degraded DNA, LabEx CeMEB, Montpellier, France).

We used two genetic markers that were amplified successively: the cytochrome *b* gene (*cytb*) from mitochondrial DNA (mtDNA) and microsatellite loci markers. As museum DNA was highly degraded (fragments of 150-200 bp), we used only four short microsatellites (*Asu15*, *Cuu28*, *Pat43*, *Tgu7*. Tab.1) among those available for the Forest thrush (Arnoux *et al.* 2012). Regarding mitochondrial DNA, six pairs of primers were designed from DNA sequences deposited in Genbank to ensure the amplification of *cytb* 100 bp-long fragments (Tab. 1).

**Table 1.** List of primers used for the amplification of *cytb* (TICB1 to TICB6) and microsatellite loci (*Asu15*, *Tgu7*, *PatMP2-43*, *Cuu28*).

Primer name	Primer F	Primer R	Tm
<b>TICB1</b>	CTAGCCACGCATTACACAGCAG	TCTTTGTTGAGGTATGAGCCG	62
<b>TICB2</b>	TGCAAAYGGAGCCTCACTATT	TTGCTGAAAATAGGTTGGTGA	62
<b>TICB3</b>	CCATTCGTCATCGCAGGACT	CCGAGTGCATTGGGGGAGAAT	62
<b>TICB4</b>	ACTCCACAAAAGACATCCTAGG	CGAAGGATGGCGTATGCGAAT	62
<b>TICB5</b>	AAACAAACTAGGAGGAGTACTA	GTGAGGATTAGGAGGTTTRGCT	62
<b>TICB6</b>	CCTACACAAATCAAAAACAACGC	GAATGATTGTGAAGTAGGAGA	62
<b><i>Asu15</i></b>	<b>NED</b> -AATAGATTCAGGTGCTTTTTCC	GGTTTTTGAGAAAATTATACTTTTCAG	49
<b><i>Tgu7</i></b>	<b>PET</b> -CTTCCTGCTATAAGGCACAGG	AAGTGATCACATTTATTTGAATAT	50
<b><i>PatMP2-43</i></b>	<b>VIC</b> -ACAGGTAGTCAGAAATGGAAAG	GTATCCAGAGTCTTTGCTGATG	52
<b><i>Cuu28</i></b>	<b>FAM</b> -GAGGCACAGAAATGTGAATT	TAAGTAGAAGGACTTGATGGCT	48

Tm corresponds to the annealing temperature in Celsius degrees. Primers for *cytb* amplification were defined from sequences deposited in Genbank: *Turdus ilherminieri* (EU154586, EU154584), *Turdus merula* (EU154637, EU154638) and *Turdus philomelos* (EU154655). Microsatellites were determined from cross-species amplification (Arnoux *et al.* 2012). NED, PET, VIC, FAM are fluorescent markers.

*Extraction and amplification of modern DNA*

DNA extraction from contemporary samples was performed following a standard phenol/chloroform method (modified from Hillis *et al.* 1996). Microsatellite loci and *cytb* were amplified in 10 $\mu$ l reactions consisting of 1X GoTaq Flexi Buffer, 2mM of MgCl<sub>2</sub>, 200 $\mu$ M of each dNTP, 0.1U of *Taq* polymerase (Promega), 0.4 $\mu$ M of each primer with a forward primer labelled fluorescently in 5' (microsatellite loci) or 0.4 $\mu$ M of each pair of primer (*cytb*). Amplification was performed by using a Dyad thermal cycler (Bio-Rad) and according to the following procedure: denaturation at 94°C for 3 min, 30 cycles consisting of 30 s of denaturation at 94°C, 30 s of annealing temperature specific to each pair of microsatellite and mtDNA primers (Tab.1), and 40 s of elongation at 72°C, and a final extension at 72°C for 5 min.

*Extraction and amplification of ancient DNA*

The ancient DNA was extracted from dried toe pad (Horváth *et al.* 2005) using a commercial kit "DNA Blood and Tissue kit" (Qiagen, Hilden, Germany). To avoid cross-contamination, we extracted only ten samples at the same time and we controlled for contamination with blanks during extraction and PCR. The DNA quantity was verified using Nanodrop (Nanodrop technologies Inc., 2006) before performing PCR analyses (Morin *et al.* 2001).

Microsatellite loci and mtDNA from ancient DNA were amplified in 25 $\mu$ l reactions consisting of 0.4X Buffer, 1mM of MgCl<sub>2</sub>, 200 $\mu$ M of dNTP, 25 $\mu$ g/ml of Bovine Serum Albumine, 0.2U of *Taq* polymerase (AmpliTaqGold), 2.5 $\mu$ l of DNA, 0.2 $\mu$ M of each primer with forward primer labelled fluorescently in 5' (microsatellite) or 0.2 $\mu$ M of each pair of primers (*cytb*). Amplification was performed using a Mastercycler (Eppendorff) and according to the following procedure: denaturation at 95°C for 10 min, 40 cycles consisting of 30 s of denaturation at 95°C, 30 s of annealing temperature specific to each pair of microsatellite and

mtDNA primers (Tab. 1), and 30 s of elongation at 72°C, and a final extension at 72°C for 10 min.

#### *Genotyping and sequencing*

PCR products of microsatellites loci were sequenced in an automated sequencer by Geneservice (Lifetechnologies, Nottingham) and the genotype of individuals was determined by using Genemapper 3.0 software (Applied Biosystems). PCR products of *cytb* were sequenced in both directions to confirm polymorphic sites and sequences were manually aligned using MEGA 3.0 (Tamura et al. 2011). Sequencing of PCR products of *cytb* from modern DNA was performed by Macrogen Inc. (Amsterdam, Netherlands), whereas PCR products of *cytb* from ancient DNA were sequenced by LabEx CeMEB (Montpellier, France).

#### *Phylogenetic approach*

Phylogenetic relationships between the Forest thrush subspecies were assessed using both a maximum-likelihood method (ML) and a Bayesian inference (BI). Analyses were respectively carried out with PhyML 4.2 (Guindon et al. 2010) and with MrBayes 3.2 (Ronquist et al. 2011). The best-fitting model of sequence evolution was identified with the Akaike Information Criterion (AIC) using MrModeltest (Nylander et al. 2004). The appropriate substitution model for Forest thrush phylogenetic tree with ancient and extant samples was the General Time-Reversible (GTR) model with a proportion of invariable sites (I=0.55) and a gamma distribution (G=0.30) In the ML approach, nodal robustness was estimated by bootstrap percentages (BP) after 1000 pseudo-replicates. For the BI estimation, five Markov chain Monte Carlo were simultaneously run for three million generations. Bayesian posterior probabilities (PP) were obtained from the 50% majority rule consensus of trees sampled every 100<sup>th</sup> generation, and after removing the first 37,000 trees as burn-in stage. Two other species

of Turdidae, *Turdus merula* (EU 154637, EU154638) and *Turdus philomelos* (EU154655) were used as outgroup for phylogenetic reconstructions.

#### *Spatial and temporal study from microsatellite dataset*

In a previous study (manuscript 3) we found no evidence for a significance genetic differentiation inside Basse-Terre (sites 2-4), Montserrat and Dominica. For analyses, each island was therefore considered as the sampling unit after grouping their respective samples. The mean number of alleles per locus was calculated to assess microsatellite loci polymorphism. Hardy-Weinberg (HW), and linkage equilibrium were tested for each locus using GenePop version 4.0 (Raymond & Rousset, 1995) and significance values for multiple comparisons were adjusted by Bonferroni correction (Rice 1989). Inbreeding coefficient ( $F_{is}$ ) were calculated for each locus.

Genetic differentiation ( $F_{st}$ ) between islands and inside Guadeloupe (Weir & Cockerham, 1984) was estimated using FSTAT version 2.9.3 (Goudet 2001). All p-values associated with  $F_{st}$  were adjusted for multiple comparisons within a given analysis using a sequential Bonferroni correction (Rice 1989). Intraspecific relationships were estimated in building phylogenetic tree with genetic distances in including islands and time collection ( $D_s$ ; Nei 1972).

To further investigate the genetic patterns characterizing Forest thrushes' populations, we assessed the genetic diversity among islands in 1900 and 2010 and between these two time periods. This latter analysis was only performed for the birds of Dominica and Guadeloupe, for which both current and ancient samples were available. As measures of genetic diversity, we calculated genetic diversity ( $H_e$ ) and allelic richness ( $R_a$ ) corrected for sample size (Kalinowski 2004), and corresponding values were compared among islands and through time for each locus.

---

*Spatial and temporal study using cytochrome b gene sequences*

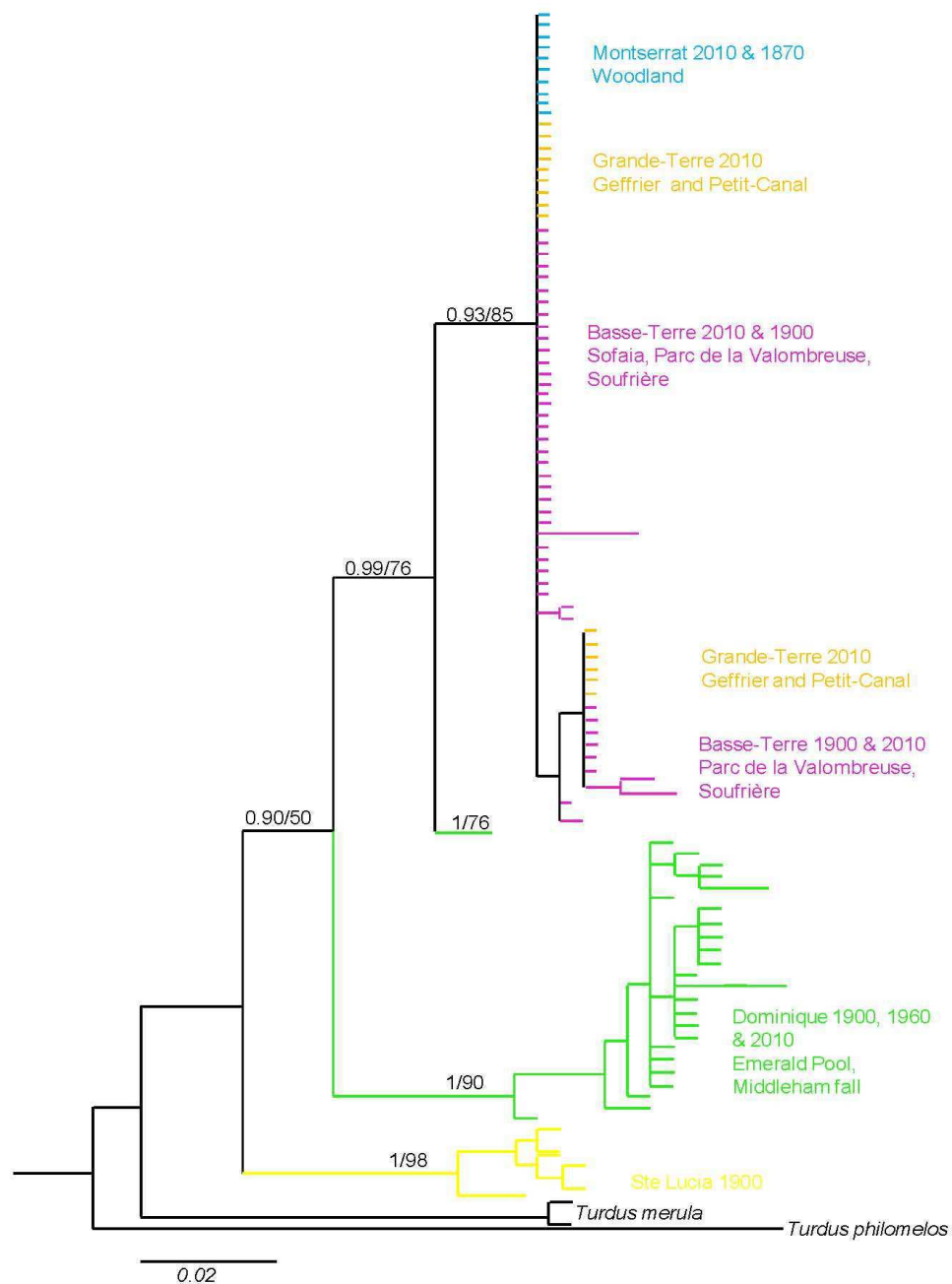
Sequences of *cytb* were obtained for 27 ancient samples collected in 1900 (Montserrat  $N = 1$ , Basse-Terre  $N = 13$ , Dominica  $N = 8$  and Saint Lucia  $N = 6$ ), eight ancient samples collected in 1960 (Dominica  $N = 7$ ) and for 63 contemporary samples (Montserrat  $N = 9$ , Grande-Terre  $N = 15$ , Basse-Terre  $N = 28$ , Dominica  $N = 11$ ). Museum sample from Montserrat has been excluded analyses excepted of phylogenetic reconstruction. Genetic differentiation among populations was assessed from  $F_{st}$  indices (Hudson et al. 1992) calculated using DnaSP 5.0 5 (Librado et Rozas, 2009) and from a median-joining network constructed with NETWORK 4.6 (Bandelt *et al.* 1999). A similar approach was used to assess temporal changes (i.e. 1900 vs. 2010) in the birds of Dominica and Guadeloupe (see above). To assess spatial and temporal pattern of genetic structure and diversity, we used the following variables calculated using DnaSP 5.0: the haplotype number ( $nh$ ), polymorphic sites ( $S$ ), allele mean number ( $k$ ), nucleotide ( $\pi$ ) and haplotype ( $h$ ) diversities. Analyses were performed using DnaSP version 5 (Librado et Rozas, 2009).

## II. Results

*Phylogenetic approach*

The alignment of *cytb* sequences was 1069 nucleotides long (72 phylogenetically informative sites). All new sequences were deposited in the EMBL database under accession numbers XXX-XXX. Phylogenetic analyses using ML and BI approaches provided congruent tree topologies (Fig. 2). Saint Lucia clade was basal to two clades described below and was highly supported (BP=98%, PP=1.00). The Dominica clade was basal to the clade including Montserrat birds, Guadeloupe birds and one bird from Dominica (BP=90%, PP=1.00). One bird of Dominica attached to a sister clade of Montserrat and Guadeloupe clade (BP=76%,

PP=1.00). Individuals from Montserrat and Guadeloupe belonged to the same clade (BP=85%, PP=0.93).



**Figure 2.** Bayesian tree reconstructed from cytochrome *b* gene haplotypes of the Forest thrush subspecies. Left numbers at node refer to the posterior probabilities ( $\geq 0.80$ ) and right numbers to ML bootstrap values ( $\geq 50\%$ ). Colors represent the insular origin of birds: blue for Montserrat, orange for Grande-Terre, pink for Basse-Terre, green for Dominica and yellow for Saint Lucia.



*Spatial and temporal study using microsatellite markers*

All populations were in Hardy-Weinberg equilibrium and we found no evidence for linkage disequilibrium (Tab.2). Overall, fifty-two alleles were identified for the period 1900-2010. Among them, 13 were identified in ancient samples but not in actual. Conversely, 15 alleles present in actual samples were absent from ancient samples (Supplementary material, Tab. S2). In Dominica, alleles of loci *Cuu28* and *Pat 43* were fixed in 2010. However, it was not the case for the locus *Cuu28* in 1900 and for the locus *Pat23* in 1960 (Tab. 4). In 1900, genetic diversity and allelic richness were higher in Santa Lucia and Guadeloupe than in Dominica. In 2010, a similar broad pattern was observed with a Dominican population ranked last (Tab. 3). We found evidence for a loss of genetic diversity through time. In Dominica,  $H_e$  decreased by 52% between 1900 and 2010, whereas in Guadeloupe this loss achieved only 10% (Tab.3). Declining values for diversity was perceptible at each locus in Dominica but not in Guadeloupe (Tab. 4). Allelic richness followed the same pattern than genetic diversity with a decrease through time (Tab.4). We also found evidence that heterozygosity was higher in the past than in the present-day populations both in Guadeloupe and Dominica (Tab.2).

**Table 2.** Inbreeding coefficient ( $F_{is}$ ) and p-value obtained in Montserrat (M), Grande-Terre (GT), Basse-Terre (BT), Dominica (D) and Saint Lucia (L) for each locus through time (1900, 1960, 2010).

Locus		1900			1960	2010			
		BT	D	L	D	M	GT	BT	D
Tgu7	$F_{is}$	-0.0048	0.348	0.467	0.127	-0.008	-0.09	-0.151	-0.015
	$p$	0.7887	0.207	0.1149	0.6207	0.87	0.08	0.65	0.35
Asu15	$F_{is}$	0.057	-0.254	-0.304	0.111	-0.0127	0.118	-0.057	-0.067
	$p$	0.6865	0.4007	1	0.6221	0.911	0.283	0.52	1
Pat43	$F_{is}$	0.27	0.5	0.28	–	0.066	–	0.021	–
	$p$	0.067	0.0824	0.2134	–	0.772	–	0.021	–
Cuu28	$F_{is}$	0.2079	–	1	–	–	0.009	-0.013	–
	$p$	0.6168	–	0.661	–	–	0.269	1	–

**Table 3.** Genetic diversity (He) and allelic richness (Ra) means for each island (Montserrat = M, Grande-Terre = GT, Basse-Terre = BT, Dominica = D and Saint Lucia = L) in 1900, 1960 and 2010.

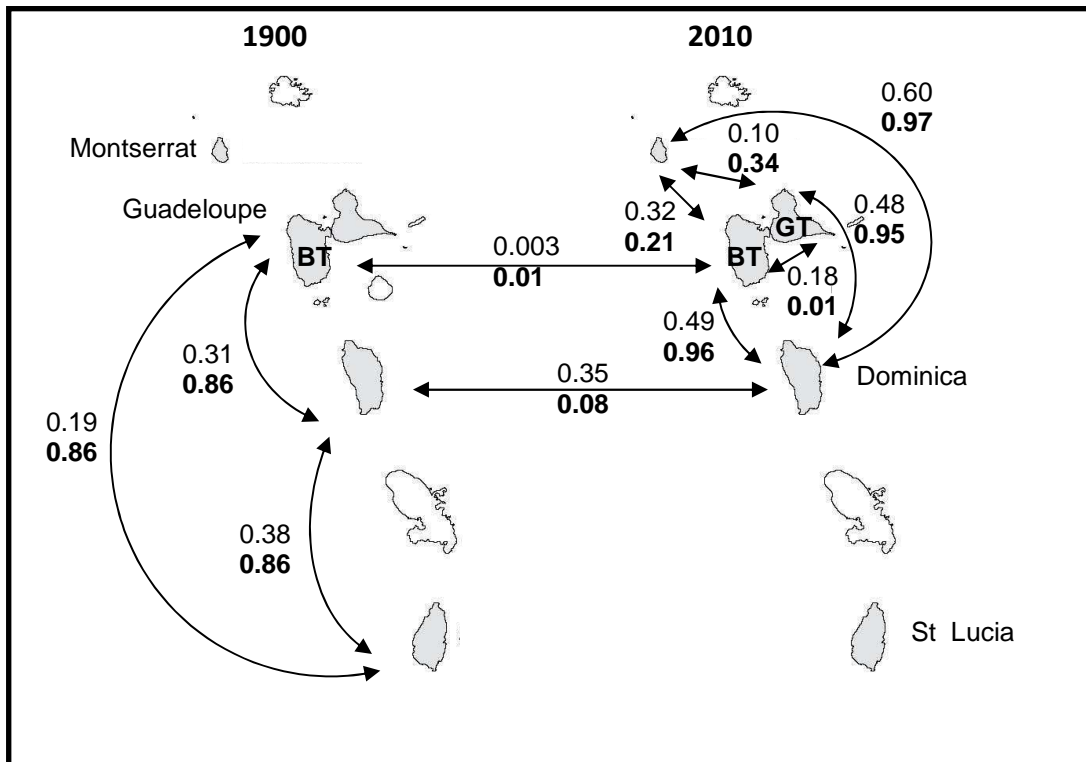
	1900			1960	2010			
	BT	D	L	D	M	GT	BT	D
He	0.667	0.499	0.778	0.393	0.496	0.4905	0.596	0.236
Ra	2.52	1.9	2.52	2.09	1.98	2.03	2.33	1.5

He and Ra means were calculated using four loci (Asu15, Tgu7, Cuu28, Pat43). Size-sample used to estimate allelic richness with rarefaction method was 3.

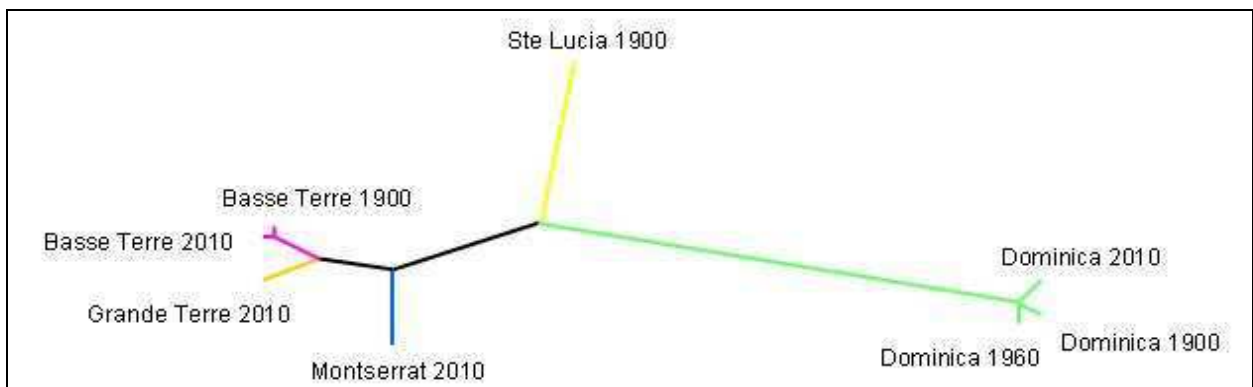
**Table 4.** Evolution of genetic diversity and allelic richness through time (1900, 1960, 2010) in Dominica and Basse-Terre for each locus (Asu15, Tgu7, Cuu28, Pat43).

Diversity	Loci	Dominique			Basse-Terre	
		1900	1960	2010	1900	2010
He	Cuu28	0.143	0	0	0.459	0.34
	Pat43	0.286	0.167	0	0.843	0.67
	Asu15	0.798	0.75	0.227	0.795	0.775
	Tgu7	0.768	0.655	0.716	0.569	0.598
Ra	Cuu28	1	1.32	1	1.91	1.67
	Pat43	1.33	1.64	1	3.11	2.56
	Asu15	2.59	3.15	1.47	2.84	2.8
	Tgu7	2.38	2.72	2.55	2.22	2.31

Our set of genetic markers reveals significant evidence of population structure between islands (Fig. 3). We observed a gradient of  $F_{st}$  indices among islands, ranging from 0.19 to 0.38 in 1900 and from 0.10 to 0.60 in 2010. In all cases and whatever the sampling period, the highest  $F_{st}$  indices were related to pairwise comparisons with birds from Dominica. In more, a differentiation exists between Basse-Terre and Grande-Terre with a value of 0.18. Microsatellite data revealed no evidence for a temporal change in genetic differentiation for Guadeloupean birds. Conversely, genetic differentiation reached 35% for Dominican birds, maybe due to the fixation of two loci in Dominica since the late 19<sup>th</sup> century. Four groups corresponding to each island were identified from the genetic tree (Fig.4). For each island, ancient samples were classed on the same branch than contemporary samples.



**Figure 3.** Genetic structure among islands in 1900 and 2010 and through time (110 years). Values represent Fst for differentiation structure using microsatellite markers. Bold values represent Fst for mitochondrial DNA (cytb). The distribution range of Forest thrushes is indicated by grey islands. Guadeloupe is composed of two zones: Basse-Terre (BT) and Grande-Terre (GT).



**Figure 4.** Phylogenetic tree using microsatellite data based on the neighbour-joining method. Four islands were clustered on this tree: Montserrat, Guadeloupe (Grande-Terre, Basse-Terre), Dominica and Saint Lucia for several sampling dates 1900, 1960, 2010.

*Spatial and temporal study using cytochrome b gene sequences*

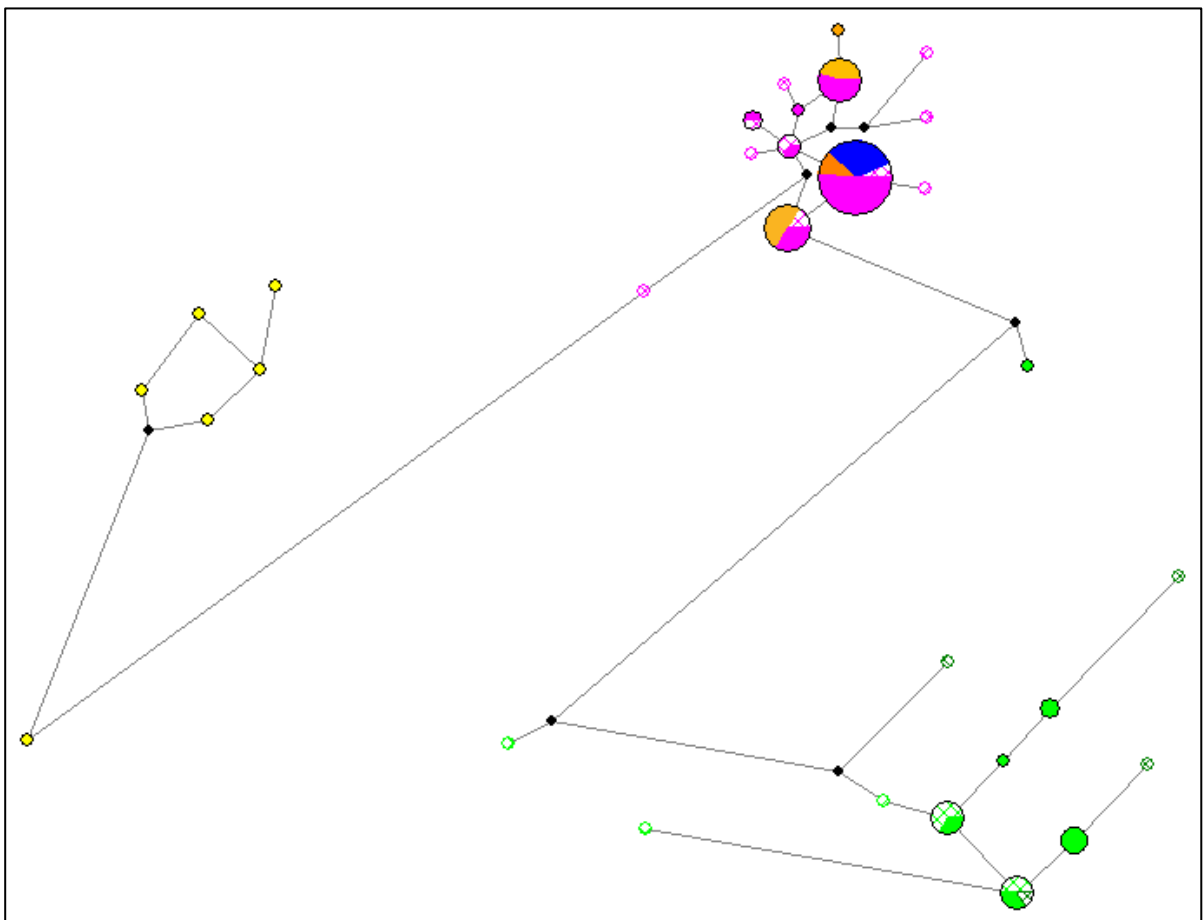
12 haplotypes were identified among contemporary samples. Among them, five were found in Dominica and seven in Guadeloupe and Montserrat. Only Dominica owned unique haplotypes. Ancient samples yielded 21 haplotypes among which six were found in Saint Lucia, five in Dominica and ten in Guadeloupe (Basse-Terre). Only Montserrat and Guadeloupe shared one haplotype. In Dominica, two haplotypes present in 1900 and one in 1960 have persisted nowadays (Supplementary material Tab. S3). Four ancient haplotypes from Guadeloupe were also found in actual samples of Basse-Terre, one in Grande-Terre and one in Montserrat.

Haplotype diversity and nucleotide diversity in 1900 ranged respectively from 0.962 to 1 and from 0.006 to 0.009 (Tab. 5). At each period, haplotype diversity and nucleotide diversity varied slightly among islands. (Tab.5). However, these two indices decreased slightly through time for Basse-Terre and Dominica. For other variables including the mean number of alleles ( $k$ ) between sequences and polymorphic sites ( $S$ ), the decline was stronger. The number of polymorphic sites was between 16 to 24 in 1900 on three islands, whereas this number was only equal to 5 in actual samples. Allele mean number was comprised between 4.54 and 7.33 in 1900 compared to 1.52 to 2.36 in 2010 (Tab.5).

**Table 5.** Haplotype numbers ( $nh$ ), polymorphic sites ( $S$ ), allele mean number ( $k$ ), haplotype diversity ( $Hd$ ) and nucleotide diversity ( $\pi$ ) for each island (Montserrat M, Grande Terre GT, Basse Terre BT, Dominica D, Saint Lucia L) at three periods 1900, 1960 and 2010. N is number of samples

	1900			1960	2010			
	BT	D	L	D	M	GT	BT	D
N	13	8	6	7	9	15	28	11
nh	10	5	6	6	1	4	6	5
S	24	19	16	42	0	5	5	5
k	4.54	7.33	7.01	15.05	0	1.52	2.19	2.36
Hd	0.962	0.857	1	0.952	0	0.667	0.733	0.836
$\pi$	0.006	0.009	0.009	0.021	0	0.003	0.002	0.003

A strong differentiation was observed between Basse-Terre, Dominica and Saint Lucia in 1900 with  $F_{st}$  equal to 0.86 (Fig.3). The structure observed in 2010 separated clearly Dominica individuals from those of Guadeloupe and Montserrat. Montserrat and Guadeloupe were differentiated but the pattern was less contrasted with  $F_{st}$  values ranging from 0.10 to 0.31. Genetic differentiation observed between Basse-Terre and Grande-Terre with microsatellite markers was strengthened with the mitochondrial markers. Interestingly, the differentiation was more pronounced between Grande-Terre and Basse-Terre than between Guadeloupe and Montserrat. The haplotype network for data collected on different islands and for different periods showed three distinct groups (lineages) corresponding to Santa Lucia, Dominica and a group clustering birds from Guadeloupe and Montserrat (Fig. 5).



**Figure 5.** Median-joining network illustrating the relationships between haplotypes. Each circle represents a unique haplotype. Circle sizes reflect the number of sequences with a given haplotype. Blue is for the Montserrat population, orange for the Grande-Terre population, pink for the Basse-Terre population, green for the Dominica population, yellow for the Saint Lucia population. Plain colour represents contemporary samples (2010), while cross diagonal ancient samples (1900, 1960)

Despite the genetic differentiation observed between Montserrat and Guadeloupe, birds from these two islands shared common haplotypes.

## **Discussion**

### *Phylogeny*

In this study, we compared ancient and actual genetic samples of Forest Thrush to understand the relationships between subspecies across the Lesser Antilles. Phylogenetic analyses provide a congruent tree typology formed by three clades: a first one including birds from Saint Lucia (*T. l. sancta luciae*), a second including birds from Dominica (*T. l. dominicensis*) and a monophyletic group clustering birds from Montserrat and Guadeloupe (respectively *T. l. lawrenci* & *T. l. lherminieri*). Interestingly, this later clade is not concordant with the previous classification of subspecies based on plumage and morphological criteria (Clement & Hathway 2000, Arnoux et al. in prep). Such discrepancies could be explained by a faster evolutionary divergence of the morphological characters than for mtDNA possibly due to phenotypic plasticity or sexual selection. Similar results were found in Bluethroat (*Luscinia svecica*) and Yellow wagtail (*Motacilla flava*), for which , clear morphologically distinct subspecies did not concord to mtDNA differences, a pattern most likely created by sexual selection on breeding plumage (Johnsen et al. 2006, Ödeen & Björklund 2003). In Forest thrushes, morphological differences correspond to different selection pressures caused by contrasted environmental factors.

If the model of biogeography for Lesser Antillean birds developed by Ricklefs and Cox (1972) appears as a relevant candidate for explaining the distribution of the four subspecies, the scenario for the colonization pattern remains speculative. Several of our results tend to suggest that Southern islands could have been colonized first, from which birds could have reached northern islands in successive steps In particular, phylogenetic trees identified birds

from Saint Lucia as the oldest, followed by birds from Dominica and by those from Guadeloupe and Montserrat. In addition, our results revealed that a unique sequence from *T. l. dominicensis* was also shared by Guadeloupian birds, providing strong support for a Dominican origin of Guadeloupian birds.

### *Population differentiation*

From both mtDNA sequences and microsatellite markers, Forest thrushes exhibit high levels of genetic differentiation at both large and regional scale. This is in agreement with a previous work based on 10 microsatellites markers and revealing a significant differentiation both at large (*i.e* among Montserrat, Guadeloupe and Dominica) and fine scale (*i.e* within Guadeloupe) (Arnoux et al. in prep). Interestingly, this genetic differentiation notably between Dominica and Basse-Terre (Guadeloupe) was reinforced over time suggesting a strong geographic isolation. A similar result was shown in the endangered bumble bees *Bombus pensylvanicus*, for which the genetic structure was reinforced over time contrary to its homologous non-threatened *Bombus impatiens* (Lozier & Cameron 2009). Environment modification has been proposed with this result in relation with limiting gene flow.

In Guadeloupe, low gene flow between Basse-Terre and Grande-Terre could result from habitat fragmentation caused by the human population expansion across the isthmus separating these two entities (INSEE 2001). Despite a strong differentiation found between these two geographical entities, both haplotype sequences and alleles suggest that birds inhabiting in Grande-Terre would be a sub-population of Basse-Terre. Hence, we may hypothesize that in the past, the two entities were more connected but we have not been able to verify a potential gene flow before anthropisation due to the lack of museum samples from Grande-Terre.

In Forest thrushes, the strongest genetic differentiation was obtained between Dominican birds and those originating from other islands (Microsatellite  $F_{st_{mean}} = 0.55$ , *mtDNA*:  $F_{st_{mean}} = 0.96$ ). These values were high compared to the level of genetic differentiation usually observed among avian subspecies (Lauga et al. 2005, Ottvall et al. 2005). In addition, Guadeloupe and Dominica did not share similar haplotypes and in a previous work, we have shown that the morphology of Dominican birds was clearly different from that of the other islands (Arnoux et al. in prep). Also, we found evidence during our field work that Dominican birds did not respond to Play-back of Guadeloupian male song. Overall, the sum of differences measured in a large array of traits (i.e. genetic, phenotypic and behavioural) supports the view that a reproductive isolation could exist between Dominican birds and those inhabiting Montserrat and Guadeloupe (Haig et al. 2006, Garnett & Christidis 2007).

When many variables like plumage, morphology, egg coloration, song, *mtDNA* haplotypes, behaviour have strong divergence between subspecies, it is suggested that subspecies should be recognized as full species (Alström et al. 2008, Cadena & Cuervo 2010). However, before considering *T. l. dominicensis* as a full species, further studies are needed to investigate whether Dominican birds can interbreed with relatives originating from other islands.

#### *Genetic diversity over time*

Our results clearly emphasize that for the two populations under study, haplotype and nucleotide diversities have declined through time. Martinez-Cruz et al. (2007) observed the same pattern in endangered Spanish imperial eagle (*Aquila adalberti*). The patterns of haplotype and nucleotide diversity are consistent with a recent reduction in population size and subsequent evolution of the Forest thrush population by genetic drift (Glenn et al. 1999, Rosenbaum et al. 2000, Draheim et al. 2002). Population bottleneck can have significant genetic effects such as a loss of heterozygosity (Nei et al. 1975) and a loss of alleles



(Maruyama & Fuerst 1985). Actual populations in Dominica and Basse-Terre lost respectively seven and six haplotypes. Study of Whooping Crane (*Grus americana*) showed a loss of haplotypes after a severe reduction of population to 15 adults (Glenn et al. 1999). Other studies led to the same results in Least Terns (*Sternula antillarum*) (Draheim et al. 2012) and in North Atlantic right whale *Eubalaena glacialis* (Rosenbaum et al. 2000). To conclude, the loss of diversity is often in relation with decline of population size.

The decline of population can be inferred by the temporal variation from some genetic components. For example, Groombridge et al. (2000) have shown that a loss of genetic diversity in the Mauritius kestrel *Falco punctatus* was provoked by a reduction of population to less than 50 birds due to the widespread use of pesticides. However, the fact to recover high diversity is rare and Evans & Sheldon (2008) suggested that smaller population sizes of threatened species were associated with significant decline in mean heterozygosity provoking an increase of extinction risk. Ludwig et al. (2000) have described that the diminution of population size can lead to the fixation of particular alleles in the populations of surviving individuals. In another case, some alleles can be missing in actual population named “ghost” alleles (Bouzat et al. 1998, Groombridge et al. 2000, Harper et al. 2006). This process can be attributed to rapid drift via one or several major demographic changes, such as bottlenecks or cycles of population extinction and recolonization (Wright 1940, Slatkin 1977, Wade & McCauley 1988). Many of these genetic modifications described above are present in Forest thrush, strengthening the idea that Forest thrush populations could have suffered a severe population decline since the end of the 19<sup>th</sup>.

### *Conservation implications*

Phylogenetic analyses of mtDNA sequences indicated three groups with high genetic differentiation. Clearly, the three populations have a separated evolutive way advocating independent management. From the standpoint of conservation biology, we identified three evolutionarily significant units (ESUs; Ryder 1986; Moritz, 1994) within Forest thrushes on the basis of genetic and phenotypic differences (manuscript 3). These tree ESUs are Dominica, Saint Lucia and a last one including Guadeloupe and Montserrat. Concerning Saint Lucia units, its status is critical. No birds were observed in Saint Lucia since three years implying that birds are threatened of extinction or even already extinct. So management of *T.l. sanctae luciae* seems compromised but a survey should be envisaged on this island. *T.l. dominicensis* including Dominica unit have got a lost of diversity and have the lowest diversity. However it is a population with original characteristic on phenotypic and genetic criteria that it implies a particular attention to give to this subspecies. To finish, the last unit presents higher population size. Basse-Terre has higher genetic diversity compared the other islands and alleles present both in Grande-Terre and Montserrat. This unit is really important to manage to conserve population including many resources.

### **References**

- Allendorf FW & Luikart G (2007) *Conservation and the Genetics of Populations*. Blackwell, Malden, Massachusetts.
- Alström P, Olsson U, Lei F, Wang H, Gao W, Sundberg P (2008) Phylogeny and classification of the Old World Emberizini (Aves, Passeriformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. **47**:960-973.
- Austin JJ & Melville J (2006) Incorporating historical museum specimens into molecular systematic and conservation genetics. *Molecular Ecology Notes*. **6**:1089:1092.

- 
- Awise JC (2004) *Molecular Markers, Natural History, and Evolution*. Sinauer Associates, Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts.
- Bandelt HJ, Forsters P, Rohl A (1999) Median joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*. **16**:37-48.
- Barnett R, Yamaguchi N, Barnes I, Cooper A (2006) Lost populations and preserving genetic diversity in the lion *Panthera leo*: Implications for its ex situ conservation. *Conservation Genetics*. **7**:507-514.
- Beissinger, S.R. (2000). Ecological mechanisms of extinction. *PNAS*. **97**:11688-11689.
- Bellinger MR, Johnson JA, Toepfer F, Dunn P (2003) Loss of genetic variation in Greater Prairie Chickens following a population bottleneck in Wisconsin, USA. *Conservation Biology*. **17**:717-724.
- Birdlife International (2012) Forest thrush, *Turdus lherminieri*, <http://www.birdlife.org/datazone/speciesfactsheet.php?id=6343>
- Boessenkool S, Star B, Seddon PJ, Waters JM (2010) Temporal genetic samples indicate small effective population size of the endangered yellow-eyed penguin. *Conservation Genetics*. **11**:539-546.
- Bouzat JL, Lewin HA, Paige KN (1998) The ghost of genetic diversity past: historical DNA analysis of the greater prairie chicken. *American Naturalist* **153**: 1–6.
- Cadena CD & Cuervo AM (2010) Molecules, ecology, morphology, and songs in concert: how many species is *Arremon torquatus* (Aves: *Emberizidae*). *Biological Journal of the Linnean Society*. **99**:152-176.
- Chan YL, Lacey EA, Pearson OP, Hadly EA (2005) Ancient DNA reveals Holocene loss of genetic diversity in a South American rodent. *Biology Letters*. **1**:423-426.
- Clement P & Hathway R (2000) *Thrushes*. Christopher Helm, London.

- Crandall KA, Robison HW, Buhay JE (2009) Avoidance of extinction through nonexistence: the use of museum specimens and molecular genetics to determine the taxonomic status of an endangered freshwater crayfish. *Conservation Genetics*. **10**:177-189.
- Dalsgaard B, Hilton GM, Gray GAL, Aymer L, Boatswain J, Daley J, Fenton C, Martin J, Martin L, Murrain P, Arendt WJ, Gibbons DW, Olesen JM (2007) Impacts of a volcanic eruption on the forest bird community of Montserrat, Lesser Antilles. *IBIS*, **149**, 298-312.
- Davies RG, Orme CDL, Olson V, ThomasGH, Ross SG, Ding T-S, Rasmussen PC, Stattersfield AJ, Bennett PM, Blackburn TM, Owens IPF, Gaston KJ (2006) Human impacts and the global distribution of extinction risk. *Proc.R.Soc.Lond.B*. **273**: 2127-2133.
- Didham RK (2006) The use of museum specimens for post hoc genetic analysis of recent evolutionary divergence in invertebrate populations. *The Weta*. **32**:1-6.
- Draheim HM, Baird P, Haig SM (2012) Temporal analysis of MtDNA variation reveals decreased genetic diversity in least terns. *The Condor*. **114**:145-154.
- Durand S & Baptist BJ (2010) Dominica. Important Bird Areas in the Caribbean. 150-156p.
- Evans SR, Sheldon BC (2008) Interspecific patterns of genetic diversity in birds: correlations with extinction risk. *Conservation Biology*. **22**:1016-1025.
- Forester DJ & Machlis, G.E. (1996). Modeling human factors that affect the loss of biodiversity. *Conservation Biology* **10**:1253-1263.
- Frankham R (1995) Inbreeding and Extinction: A Threshold Effect. *Conservation Biology*. **9**: 792-799.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2002) *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Frankham R (2005). Genetics and extinction. *Biological Conservation*. **126**:131-140.

- Fritts TH & Rodda GH (1998). The role of introduced species in the degradation of island ecosystems: A case History of Guam. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **19**:113-140
- Garnett ST, Christidis L (2007) Implications of changing species definitions for conservation purposes. *Bird Conservation International*. **17**:187-195.
- Gaston, K.J. (1994) *Rarity*. Chapman & Hall, London.
- Glenn TC, Stephan W, Braun MJ (1999) Effects of a population bottleneck on Whooping Crane Mitochondrial DNA variation. *Conservation Biology*. **13**:1907-1107.
- Goudet, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.
- Groombridge JJ, Jones CG, Bruford MW, Nichols RA (2000) Conservation biology: "Ghost" alleles of the Mauritius Kestrel. *Nature*. **403**:616-622.
- Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W, Gascuel O (2010) PhyML 3.0: "New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0." *Systematic Biology*. **59**:307-321.
- Haig SM (1998) Molecular contribution to conservation. *Ecology*. **79**:413-425.
- Haig SM, Beever EA, Chambers SM, Draheim HM, Dugger BD, Dunham S, Elliott-Smith E, Fontaine JB, Kesler DC, Knaus BJ, Lopes IF, Loschl P, Mullins TD, Sheffield LM (2006) Taxonomic considerations in Listing subspecies under the US Endangered Species Act. *Conservation Biology*. **20**:1584-1594.
- Harper GL, Macclean N, Goulson D (2006) Analysis of museum specimens suggests extreme genetic drift in the Adonis blue butterfly (*Polyommatus bellargus*). *Biological Journal of the Linnean Society*. **88**:447-452.
- Hartley CJ, Newcomb RD, Russell RJ, Yong CG, Stevens JR, yeates DK, La Salle J, Oakshott JG ( 2006) Amplification of DNA from preserved specimen shows blowflies were preadapted for the rapid evolution of insecticide resistance. *PNAS* **23**:8757-8762.

- 
- Horváth MB, Martínez-Cruz B, Negro JJ, Kalmár L and Godoy JA (2005) An overlooked DNA source for non-invasive genetic analysis in birds. *Journal of Avian Biology*. **36**:84-88.
- Hudson RR, Slatkin M, Maddison WP (1992) Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. *Genetics*. **132**:2583-2589.
- Johnsen A, Andersson S, Garcia Fernandez J, Kempnaers B, Pavel V, Questiau S, Raess M, Rindal E, Lifjeld JT (2006) Molecular and phenotypic divergence in the bluethroat (*Luscinia svecica*) subspecies complex. *Molecular Ecology*. **15**:4033-4047.
- Johnson JA, Toepfer JE, Dunn PO (2003) Contrasting patterns of mitochondrial and microsatellite population structure in fragmented populations of greater prairie-chickens. *Molecular Ecology*. **12**:3335-3347.
- Johnson JA, Bellinger MR, Toepfer JE, Dunn P (2004) Temporal changes in allele frequencies and low effective population size in greater prairie-chickens. *Molecular Ecology*. **13**:2617-2630.
- Kalinowski ST (2005) HP-RARE 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. *Molecular Ecology Notes*, **5**, 187-189.
- Lauga B, Cagnon C, D'Amico F, Karama S, Mouchès C (2005) Phylogeography of the white-throated dipper *Cinclus cinclus* in Europe. *Journal of Ornithology*. **146**:257-262.
- Librado P, Rozas J (2009) Dnasp v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*. **25**:1451-1452.
- Lozier JD, Cameron SA (2009) Comparative genetic analyses of historical and contemporary collections highlight contrasting demographic histories for the bumble bees *Bombus pensylvanicus* and *B. impatiens* in Illinois. *Molecular Ecology*. **18**:1875-1886.

- 
- Ludwig AN, Jenneckens I, Debus L, Ludwig A, Becker J, Kirschbaum F (2000) Genetic analyses of archival specimens of the Atlantic sturgeon *Acipenser sturio* L., 1758. *Boletin Instituto Espanol de Oceanografia*. **16**:181-190.
- Martínez-Cruz B, Godoy JA, Negro JJ (2007) Population fragmentation leads to spatial and temporal genetic structure in the endangered Spanish imperial eagle. *Molecular Ecology*. **16**:477-486.
- Maruyama, T, and P. A. Fuerst, 1985. Population Bottlenecks and Non-Equilibrium Models in Population Genetics. II. Number of Alleles in a Small Population that was formed by a Recent Bottleneck. *Genetics* **111**: 675-689.
- Miller MP, Haig SM, Gratto-Trevor CL, Mullins TD (2010) Subspecies status and population genetic structure in Piping Plover (*Chlaradius melodus*). *The Auk*. **127**: 57-71.
- Morin PA, Chambers KE, Boesch C, Vigilant I (2001) quantitative polymerase chain reaction analysis of DNA from noninvasive samples for accurate micorsatellite genotyping of wil chimpanzees (*Pan troglodytes verus*). *Molecular Ecology*. **10**:1835-1844.
- Moritz C (1994) Defining “Evolutionarily Significant Units” for conservation. *TREE*. **9**:373-375
- Nei M (1972) Genetic distance between populations. *American Naturalist*. **106**:283-292.
- Nei M (1975) *Molecular population genetics and evolution*. North Holland, Amsterdam and New-York.
- Newman D & Pilson D (1997). Increased probability of extinction due to decreased genetic effective population size, experimental populations of *Clarkia pulchella*. *Evolution* **51**:354–362.
- Nylander JAA, Ronquist F, Huelsenbeck JP, Aldrey JLN (2004) MrModeltest v2. Bayesian phylogenetic analysis of combined data. *Systematic Biology*. **53**:47-67.

- Ödeen A, Björklund M (2003) Dynamics in the evolution of sexual traits: losses and gains, radiation and convergence in yellow wagtails (*Motacilla flava*). *Molecular Ecology*. **12**:2113-2130.
- Ottvall R, Höglund J, Bensch S, Larsson K (2005) Population differentiation in the redshank (*Tringa totanus*) as revealed by mitochondrial DNA and amplified fragment length polymorphism markers. *Conservation Genetics*. **6**:321-331.
- Palsbøll PJ, Bérubé M, Allendorf FW (2007) Identification of management units using population genetics data. *Trends in Ecology and Evolution* **22**:11-16.
- Paxinos EE, James HF, Olson SL, Ballou JD, Leonard JA, Fleischer RC (2002) Prehistoric decline of genetic diversity in the Nene. *Science*. **296**:1827.
- Pimm S (1991) *The balance of nature*. University of Chicago Press, Chicago.
- Rasplus, J.Y. et al. (2001). Setting conservation priorities: the case study of *Carabus solieri* (Col. Carabidae). *Genetics, Selection and Evolution* **33**: S141-S175.
- Raymond M, Rousset F (1995) GenePop version 1.2.: population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, **86**, 248–249.
- Rice WR (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, **43**, 223-225.
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres D, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA and Huelsenbeck JP (2011) MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*. **61**:2010-2013.
- Rasplus JY, Garnier S, Meusnier S, Piry S, Mondor G, Audiot P, Cornuet JM (2001) Setting conservation priorities: the case study of *Carabus solieri* (Col. Carabidae). *Genetics, Selection and Evolution* **33**:S141-S175.



- Reding DM, Freed LA, Cann RL, Fleischer RC (2010) Spatial and temporal patterns of genetic diversity in an endangered Hawaiian honeycreeper, the Hawaii Akepa (*Loxops coccineus coccineus*). *Conservation Genetics*. **11**:225-240.
- Reed DH, Frankham R (2003) Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology*. **17**:230-237.
- Rosenbaum HC, Egan MG, Clapham PJ, Brownell JR. RL, Malik S, Brown MW, White BN, Walsh P, Desalle R (2000) Utility of North Atlantic Right Whale Museum Specimens for Assessing Changes in Genetic Diversity. *Conservation Biology*. **14**:1837-1842.
- Roy MS, Girman DJ, Taylor AC, Wayne RK (1994) The use of museum specimens to reconstruct the genetic variability and relationships of extinct populations. *Experientia*. **50**:551-557.
- Ruzzante DE, Taggart CT, Doyle RW, Cook D (2001) Stability in the historical pattern of genetic structure of Newfoundland cod (*Gadus morhua*) despite the catastrophic decline in population size from 1964 to 1994. *Conservation Genetics*. **2**:257-269.
- Ricklefs RE, Cox GW (1972) Taxon cycles in the west indian avifauna. *The American Naturalist*. **106**:195-203.
- Ryder OA (1986) Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution*, **1**: 9–10.
- Segelbacher G, Höglund J, Storch I (2003) From connectivity to isolation: genetic consequences of population fragmentation in capercaillie across Europe. *Molecular Ecology*. **12**:1773-1780.
- Segelbacher G, Manel S, Tomiuks J (2008) Temporal and spatial analyses disclose consequences of habitat fragmentation on the genetic diversity in capercaillie (*Tetrao urogallus*). *Molecular Ecology*. **17**:2356-2637.

- 
- Slatkin M (1977) Gene flow and genetic drift in a species subject to frequent local extinctions. *Theoretical Population Biology*. **12**:253-262.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, and Kumar S (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* **28**: 2731-2739.
- Taylor AC, Scherwin WB, Wayne RK (1994) Genetic variation of microsatellite loci in a bottlenecked species: the northern hairy-nosed wombat *Lasiornhinus krefftii*. *Molecular Ecology*. **3**:277-290.
- Voelker G, Rohwer S, Bowie RCK, Outlaw DC (2007) Molecular systematics of a speciose, cosmopolitan songbird genus: Defining the limits of, and relationships among, the *Turdus thrushes*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. **42**:422-434.
- Wade MJ, Mc Cauley DE (1988) Extinction and recolonization: Their effects on the genetic differentiation of local populations. *Evolution* **42**:995- 1005.
- Wandeler P, Hoeck EA, Keller LF (2007) Back to the future: museum specimens in population genetics. *TRENDS in Ecology and Evolution*. **22**:634-642.
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**:1358-1370.
- Wright S (1940) Breeding structure of populations in relation to speciation. *American Naturalist*. **7**:4 232-248

**Table S1.** List of Forest thrush specimen sampled in several museums

<b>Voucher</b>	<b>Year</b>	<b>Island</b>	<b>Museum</b>
71633	1960	Dominica	LSUMZ
71634	1960	Dominica	LSUMZ
71635	1960	Dominica	LSUMZ
71636	1960	Dominica	LSUMZ
71637	1960	Dominica	LSUMZ
71640	1960	Dominica	LSUMZ
124868	1904	Dominica	FMNH
124869	1904	Dominica	FMNH
26745	1883	Dominica	FMNH
124867	1904	Dominica	FMNH
124870	1904	Dominica	FMNH
503683	1899	Dominica	AMNH
503684	1899	Dominica	AMNH
503685	1899	Dominica	AMNH
570779	1951	Dominica	NRM
CM111562	1914	Guadeloupe	CMNH
503679	1902	Guadeloupe	AMNH
503676	1902	Guadeloupe	AMNH
503678	1902	Guadeloupe	AMNH
503677	1902	Guadeloupe	AMNH
503680	1902	Guadeloupe	AMNH
26753	1890	Guadeloupe	FMNH
56831	1914	Guadeloupe	FMNH
56830	1914	Guadeloupe	FMNH
503681	1902	Guadeloupe	AMNH
26755	1890	Guadeloupe	FMNH
1889629	1850	Guadeloupe	MNHN
CM111563	1914	Guadeloupe	CMNH
26756	1890	Guadeloupe	FMNH
26752	1870 -1879	Montserrat	FMNH
503682	1902	Saint Lucia	AMNH
26750	1892	Saint Lucia	FMNH
26747	1892	Saint Lucia	FMNH
26748	1892	Saint Lucia	FMNH
26746	1892	Saint Lucia	FMNH
26749	1892	Saint Lucia	FMNH
1850182	1850	Saint Lucia	MNHN

LSUMZ : Louisiana State University Museum of Zoology Baton rouge - FMNH: Field Museum of Natural History Chicago - AMNH: American Museum of Natural History New-York – NRM: Naturhistoriska riksmuseet Stockholm - CMNH: Carnegie Museum of Natural History Pittsburg, MNHN: Museum national d'Histoire Naturelle Paris.

**Table S2.** Allelic frequencies for each locus (Tgu7, Asu 15, Pat43, Cuu28) following sampling sites (Montserrat (M), Grande-Terre (GT), Basse-Terre (BT), Dominica (D) and Saint Lucia (L)) in 1900, 1960 and 2010. Sampling size (N) was indicated for each island.

Locus	1900				1960	2010			
	A	BT	D	L	D	M	GT	BT	D
<b>Tgu7</b>		N=14	N=5	N=8	N=7	N=21	N=47	N=61	N=33
98		0	0.4	0	0				
100		0.036	0.2	0.313	0	0	0.032	0.033	0.136
102		0.143	0	0.313	0.143	0	0	0.074	0.333
104		0.071	0.4	0.4	0.071	0.333	0	0.057	0.076
106		0.107	0	0	0.571	0	0.628	0.164	0.394
108		0.643	0	0	0.214	0.571	0.223	0.607	0.061
110						0.095	0.117	0.025	0
112						0	0	0.025	0
114						0	0	0.016	0
<b>Asu15</b>		N=12	N=7	N=6	N=6	N=21	N=47	N=61	N=33
102		0	0.071	0	0				
106		0.292	0	0	0	0.119	0.021	0.131	0
108						0	0	0	0.015
110		0.333	0	0	0	0.071	0.096	0.32	0
116		0	0	0.083	0				
118		0	0	0.25	0				
120		0	0	0.417	0				
122		0	0	0.167	0.167				
124		0.083	0.143	0	0.083	0	0	0.008	0.03
126		0.083	0.286	0	0.333	0.333	0.223	0.082	0.045
128		0.167	0.357	0	0.417	0.476	0.277	0.311	0.879
130		0.042	0.071	0	0	0	0.149	0.049	0.015
132		0	0.071	0.056	0	0	0.074	0.057	0.015
138						0	0.16	0.041	0
<b>Pat43</b>		N=13	N=7	N=7	N=6	N=20	N=47	N=61	N=33
127		0.077	0.857	0.143	0.917	0	0	0	1
141		0.385	0.071	0.643	0.083	0.325	0.989	0.557	0
143		0	0	0.071	0				
145		0	0	0.143	0				
147		0.038	0.071	0	0	0	0	0.016	0
149		0.115	0	0	0	0	0	0.066	0
151						0	0	0.057	0
153		0.115	0	0	0	0	0	0.098	0
157		0.077	0	0	0	0	0	0.041	0
159		0.038	0	0	0	0	0	0.025	0
173		0.077	0	0	0	0	0.011	0.057	0
175						0	0	0.016	0
177		0.038	0	0	0	0	0	0.008	0
179		0.038	0	0	0	0	0	0.016	0
183						0.275	0	0	0
185						0	0	0.033	0
187						0	0	0.008	0
195						0.375	0	0	0
197						0.025	0	0	0
<b>Cuu28</b>		N=11	N=7	N=3	N=4	N=16	N=44	N=61	N=31
139		0.045	0	0	0				
153		0.0045	0	0	0				
154						0	0.08	0.066	0
158		0	0.071	0	0				
161						0	0	0.008	0
163		0.727	0	0.333	0	0.969	0.42	0.803	0
165		0	0	0	0				
167		0.182	0.929	0.333	1	0.031	0.5	0.115	1
169						0	0	0.008	0
177		0	0	0.333	0				

Grey colors represents alleles present only in 1900, 1960 or 2010.



## **Chapitre IV**

---

Etude de la structure spatiale des ectoparasites et des  
endoparasites chez la Grive à Pieds Jaunes



## **Chapitre IV Etude de la structure spatiale des ectoparasites et des endoparasites chez la Grive à Pieds Jaunes**

### **Introduction**

Si elle a longtemps été sous-estimée, l'importance écologique des parasites est désormais totalement reconnue (Poulin 1998, Combes 2001). En effet, de par leur diversité globale (de Meeûs & Renaud 2002, Combes 2001) et l'intimité des liens qui les associent généralement à leurs hôtes, ils représentent une pression écologique majeure dont les conséquences démographiques et évolutives, ainsi que les enjeux associés, suscitent un intérêt toujours vif (Thomas et al. 2007). Même s'il ne s'agit pas de l'enjeu sociétal majeur associé à la compréhension des interactions hôtes-parasites, la conservation de certaines espèces est une problématique qui doit parfois ce type d'interactions pour mieux cerner des problèmes et faire émerger des propositions (Van Ripper et al. 1986, Daszak et al. 2000).

Comme toutes les espèces, les parasites présentent des distributions hétérogènes au sein de leur aire de répartition ; les prévalences et intensités variant spatialement (Combes 2001). Ceci est décrit à diverses échelles (Goüy de Bellocq et al. 2002, Latta & Ricklefs 2010, Ricklefs et al. 2011). La compréhension des distributions parasitaires suppose d'intégrer un certain nombre de facteurs et contraintes, parfois évoqués en termes de filtres successifs (Rapport et al 2002). Tout d'abord des facteurs historiques (filtre historique) liés à la colonisation d'une aire géographique et qui dépendent en particulier de la configuration biogéographique de l'aire considérée (Carney & Dick 2000, Rohde 2002, Poulin & Morand 2004). Ensuite, de multiples facteurs environnementaux (filtres environnementaux et filtres de dispersion) globalement indépendants de l'espèce hôte, intégrant aussi bien l'environnement abiotique que des éléments de structure paysagère ou encore la densité des vecteurs. Ces



précédents facteurs conditionnent les possibilités de survie, de reproduction et de dispersion du parasite (Ostfeld et al. 2005, Archie et al. 2009, Biek & Real 2010). Enfin d'autres facteurs environnementaux, à une autre échelle celle de l'hôte lui-même (densité, comportements, ...), contrôlent également les possibilités de survie, reproduction et dispersion du parasite (Anderson & May 1982, Rosà & Pugliese 2002).

La diversité génétique figure parmi les caractéristiques propres à l'espèce hôte qui peuvent influencer sa réceptivité aux parasites, et donc la prévalence de ceux-ci. Plusieurs travaux récents ont montré l'influence des niveaux d'hétérozygotie sur la probabilité d'être parasité à l'échelle individuelle ou la résistance à des infections (Paterson et al. 1998, Wegner et al. 2003, Hawley et al. 2005). Ainsi, une prévalence élevée au sein d'une population hôte peut témoigner d'une moindre capacité des individus à gérer le risque infectieux. De manière plus générale cela peut être une illustration fonctionnelle d'un moindre potentiel évolutif de la population hôte face à des pressions environnementales. Ceci étant, au vu du niveau d'intrication des relations hôtes-parasites, la configuration évoquée précédemment peut aussi illustrer la confrontation de l'hôte avec un parasite particulièrement virulent, et donc son exposition à un risque aux conséquences démographiques potentiellement sévères. En effet, à travers leur pathogénicité, ils peuvent être impliqués au-delà qu'en tant que facteurs de régulation classique des populations hôtes, et même identifiés comme une cause d'extinction. Des exemples marquants existent chez les oiseaux où l'effet pathogène, par ailleurs reconnu, de certains Hémosporidés (Atkinson et al. 1986, Cardona et al. 2002, Merino et al. 2000, Valkiūnas et al. 2006) a conduit à l'extinction de certaines espèces insulaires nouvellement confrontées au parasite comme ce fut le cas à Hawaï (Atkinson et al. 1995, 2000, 2001, Yorinks & Atkinson 2000).

Des configurations de forte virulence du parasite, ou de faible résistance d'une espèce hôte à statut déjà précaire, peuvent accentuer les préoccupations en termes de conservation (Torchin et al. 2002, Cleaveland et al. 2002). Les espèces insulaires et endémiques peuvent apparaître très sensibles aux pathogènes comme ça a été étudié pour certains oiseaux des îles Hawaii et Galápagos (van Riper et al. 1986, Atkinson et al. 2000, Padilla et al. 2004, Santiago-Alarcon et al. 2008, 2010). A cause de la plus faible diversité génétique qui les caractérisent, et qui se traduit notamment par leurs plus hauts taux d'extinction que les oiseaux continentaux (Frankham & Ralls 1998), les oiseaux insulaires offrent un terrain favorable pour de telles situations où le parasite peut devenir un acteur déterminant de l'extinction.

Ce chapitre présente une analyse encore préliminaire des prévalences parasitaires chez la Grive à pieds jaunes. L'implantation insulaire de ses populations peut conduire à des contrastes forts de prévalences sous l'action de filtres historiques et environnementaux qui ont pu contraindre la dispersion et la colonisation d'espaces précis par certains parasites, et ceci à plusieurs échelles spatiales. Par ailleurs, une dimension intéressante tient du fait que la Grive à pieds jaunes présente des niveaux de diversité génétique variables d'une île à l'autre, mais également au sein même de la Guadeloupe. Cette situation laisse attendre des contrastes parasitaires pouvant être confrontés aux attendus liés aux effets de la diversité génétique des hôtes sur leurs interactions avec les parasites. Nous considérerons les hémosporeidés (*Haemoproteus* et *Plasmodium*) dont les effets négatifs chez les oiseaux sont documentés (voir plus haut), mais aussi les ectoparasites (mallophages et acariens). Les réels effets de ces derniers sur leurs hôtes sont plus discutés. Néanmoins, en dégradant la structure des plumes, ils peuvent altérer leurs propriétés (protection et portance notamment) et impacter la condition de l'hôte (Booth et al. 1993). Suivant une approche encore rudimentaire, les variations de prévalences seront donc décrites et confrontés à ce que nous connaissons maintenant de la

variabilité génétique de l'hôte. Pour la Guadeloupe plus spécifiquement, quelques variables environnementales (liées au climat et à l'habitat) seront prises en compte dans l'analyse des prévalences.

## Matériels et méthodes

### *Sites d'échantillonnage*

L'échantillonnage des parasites de la Grive à pieds Jaunes a été réalisé sur les différents sites décrits dans le chapitre 1. Pour mémoire, 3 sites ont été échantillonnés sur Montserrat ( $n = 59$ ), 11 sites en Guadeloupe dont 3 sur Grande-Terre ( $n = 60$ ) et 8 sites sur Basse-Terre ( $n = 172$ ), et 3 sites à la Dominique ( $n = 43$ ). Les paramètres environnementaux tels que le climat, le relief et la diversité des habitats sont assez proches (Tab. 4). Toutefois, les habitats ont largement été transformés en Guadeloupe sous la forte pression anthropique, et à Montserrat suite à une récente éruption volcanique d'envergure. En revanche, ils apparaissent dans un état plus naturel à la Dominique. La Grive à pieds jaunes vit dans les forêts humides présentes sur chacune des îles sur les versants "arrosés", ainsi qu'en l'état dans une configuration marécageuse en ce qui concerne Grande-Terre.

**Tableau 4.** Descripteurs environnementaux des sites de captures sur Montserrat, la Guadeloupe (Grande-Terre et Basse-Terre) et la Dominique.

<b>Iles</b>	<b>A</b>	<b>Altitude</b>	<b>P</b>	<b>T</b>	<b>Forêts</b>	<b>Connectivité</b>
Montserrat	102	160-360	1475-2000	24.5	Tropicale humide	Massif forestier
Grande-Terre	586	10-23	1400-2000	25.7	Marécageuse	Bande littorale
Basse-Terre	848	120-830	2300-4000	23.5	Tropicale humide	Massif forestier
Dominique	754	150-900	5000-9000	22.5	Tropicale humide	Massif forestier

**A** : superficie (km<sup>2</sup>), **P** : précipitation annuelle (mm), **T** : température (°C). Les données climatiques représentent des moyennes annuelles calculées de 1950 à 2000.

Pour la Guadeloupe, plus spécifiquement, la densité forestière déterminée à partir de la base de données topographiques (BD TOPO, Institut Géographique National, 2008) varie de 0.57 à

0.99 (voir chapitre 1 pour plus d'informations), et la qualité de l'habitat, estimée à partir de la modélisation de sa niche écologique à l'aide de variables topo-climatiques et paysagères, varie de 62 à 97 sur les sites échantillonnés (0: habitat défavorable, 100: habitat optimal).

*Les ectoparasites: acariens et mallophages*

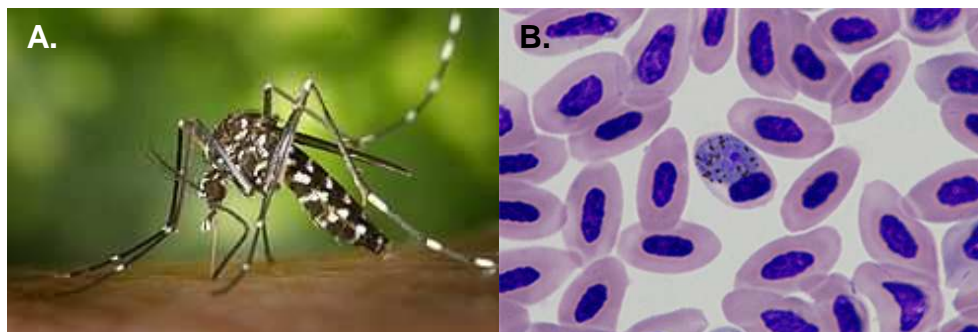
Un examen externe des oiseaux capturés a été réalisé afin de recenser les ectoparasites présents. A quelques exceptions près, seuls des mallophages et des acariens ont été observés sous les rémiges (Fig 26A.). Ces parasites peu mobiles se nourrissent principalement de la kératine des plumes, de débris d'épiderme et parfois de sang au niveau de lésions. Ils n'ont pas été identifiés plus précisément par manque de compétence. Leur abondance a été estimée à travers le nombre de rémiges de l'aile gauche qui portaient ces parasites, en se focalisant sur les 16 premières rémiges primaires et secondaires (en partant de l'extrémité distale de l'aile). Ainsi, nous obtenions une valeur comprise entre 0 et 16 avec 0 si aucune plume n'était parasitée et 16 pour toutes les plumes parasitées. D'autres organismes d'aspect globuleux et nacré et fixés sur le plumage autour des yeux, ont été envisagés en tant que parasites (Fig 26B), mais dans la mesure où ils sont restés indéterminés, ils ne sont pas considérés ici.



**Figure 25.** Les ectoparasites identifiés chez les Grives à pieds jaunes **A.** Acariens et **B.** Mallophages sur la face inférieure des rémiges **C.** "Parasites" nacrés et globuleux autour des yeux

*Les parasites sanguins: Plasmodium et Haemoproteus*

Les parasites sanguins des oiseaux comptent quatre genres de protozoaires: *Plasmodium*, *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* et *Trypanosoma* (Fig.27). Dans notre étude, nous nous sommes uniquement intéressés au genre *Plasmodium* et *Haemoproteus*. Ces deux hémosporeidés sont transmis aux oiseaux par l'intermédiaire d'un arthropode. Chez *Plasmodium*, le vecteur est un moustique (*Culex*, *Aedes*, *Culiseta* ...). C'est au sein de ce vecteur que se déroule la reproduction sexuée du parasite. Lors d'un repas sanguin, le moustique transmet alors le parasite aux oiseaux dans le sang desquels il se développe et se multiplie de manière asexuée. *Haemoproteus*, quant-à lui est transmis par d'autres vecteurs tels que les *Ceratopogonidae*, *Hippoboscidae* (Valkiūnas 2005). Ces parasites se développent dans d'autres tissus que le sang où ils se retrouvent lors de leur phase mature et peuvent être absorbés par les vecteurs et boucler leur cycle. Ils peuvent entrer en latence en quittant le sang pour d'autres tissus pour une période indéfinie (Jarvi et al. 2002, 2003).



**Figure 26.** Vecteurs et parasites sanguins. **A.** Moustique tigre (*Aedes*), **B.** *Plasmodium* au stade gamétocytes

L'identification du statut parasitaire de chaque oiseau a été réalisée grâce à des techniques moléculaires appliquées sur du sang des oiseaux conservé dans un tampon de lyse (Waldenström et al. 2004). Dans un premier temps, l'ADN a été extrait grâce à une méthode standard phénol/chloroforme (modifié de Hillis *et al.* 1996). Un fragment du cytochrome b du parasite (478pb) a été amplifié utilisant une technique de PCR nichée (Waldenström et al. 2004). Les produits d'amplification ont alors été déposés sur gel d'agarose afin de s'assurer

qu'une bande amplifiée de taille attendue était bien présente. Pour confirmer le statut parasitaire de l'oiseau, l'ensemble des PCR a été dupliqué pour chacun des oiseaux. La présence d'une bande sur le gel d'agarose a démontré l'infection de l'oiseau par *Plasmodium* ou *Haemoproteus*. Pour déterminer la lignée précise, les produits d'amplification ont été séquencés (par Macrogen Europe). Les séquences ont été alignées manuellement à l'aide du logiciel Méga et ont été comparées par la suite dans Genbank afin d'identifier si l'oiseau était contaminé par *Haemoproteus* ou *Plasmodium*. Les séquences des parasites *Haemoproteus* ou *Plasmodium* peuvent différer entre elles de quelques bases entre lignées. Ainsi chaque groupe de séquences a été incrémenté d'une lettre de A à F pour repérer de probables lignées différentes.

#### *Analyses statistiques*

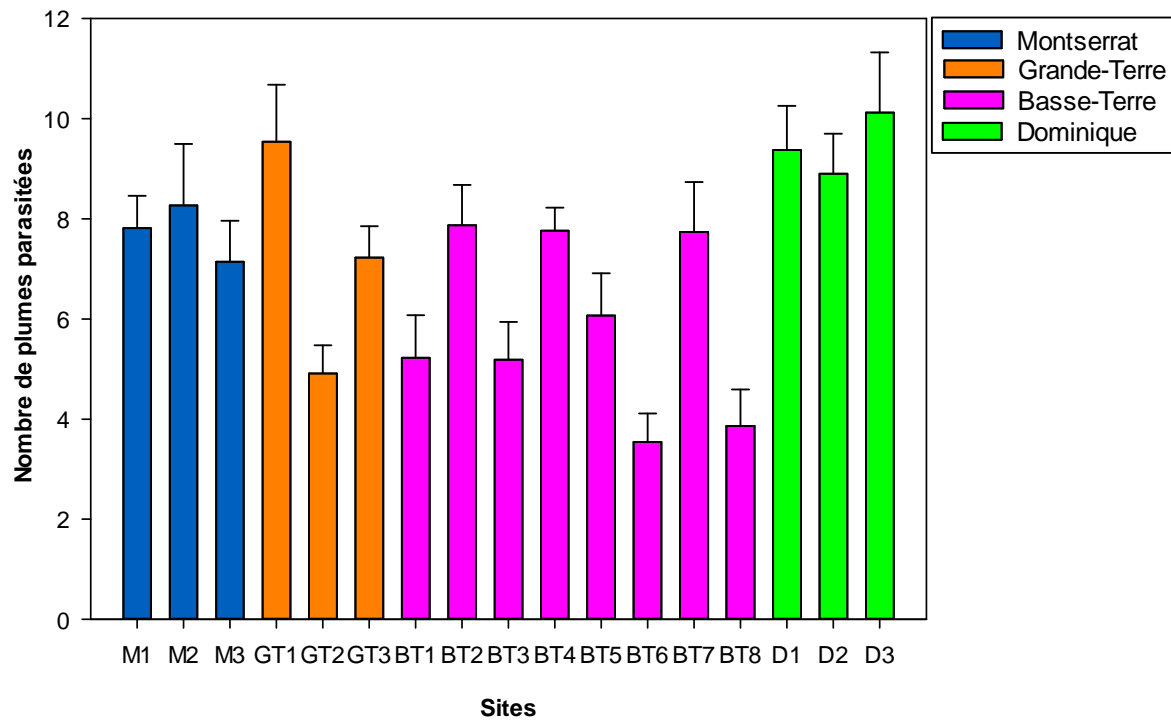
Le nombre de rémiges parasitées par des ectoparasites a été comparé entre les îles et au sein de la Guadeloupe grâce à une ANOVA à un facteur. En ce qui concerne les endoparasites, la prévalence en *Plasmodium* et en *Haemoproteus* a été calculée pour chaque site. Une comparaison de cette prévalence a été réalisée entre les îles et au sein de la Guadeloupe avec un test du  $X^2$ . La corrélation entre le nombre de lignées et la prévalence en parasites sanguins par site a également été testée. Au sein de la Guadeloupe, la prévalence parasitaire en parasites sanguins ainsi que le nombre de plumes parasitées a été mis en relation avec les variables environnementales pour lesquelles nous disposons de mesures telles que l'altitude (m), les précipitations annuelles (mm), la température moyenne annuelle (°C), la densité forestière et la qualité de l'habitat dans le but d'estimer l'influence éventuelle de chacune de ses variables sur les prévalence parasitaires. Un modèle linéaire généralisé selon l'approche de Wilson & Hardy (2002) a été utilisé avec comme dénominateur binomial les individus sains *versus* les individus infectés. Chaque variable environnementale a été testée

indépendamment utilisant le logiciel R, version 2.14.1. Toutes les autres analyses ont été réalisées avec le logiciel JMP 6.0.

## **Résultats**

### *Ectoparasites*

Les mallophages et les acariens ont été traités de manière groupée dans les analyses du fait de la difficulté à dénombrer les parasites sur les plumes et d'un manque de connaissances sur les parasites lors de premières captures. Les oiseaux de la Dominique concédaient  $9.7 \pm 0.5$  rémiges parasitées (moyenne  $\pm$  se) contre respectivement  $7.1 \pm 0.5$  et  $6 \pm 0.3$  pour ceux de Montserrat et de la Guadeloupe (*ANOVA*  $F_{2,332} = 13.33$ ,  $p < 0.001$ , Fig. 28). Au sein de la Dominique et de Montserrat, une faible variabilité de l'intensité parasitaire est observée entre les sites contrairement à la Guadeloupe où l'hétérogénéité est plus forte avec des variations de 3 à 9 rémiges parasitées en moyenne entre les sites. On ne trouve cependant pas de différence significative entre la Basse-Terre et la Grande-Terre (*ANOVA*  $F_{11,221} = 1.57$ ,  $p = 0.21$ ).



**Figure 27.** Nombre moyen ( $\pm$ se) de rémiges parasitées sur les différents sites des trois îles en séparant Basse Terre et Grande Terre pour la Guadeloupe.

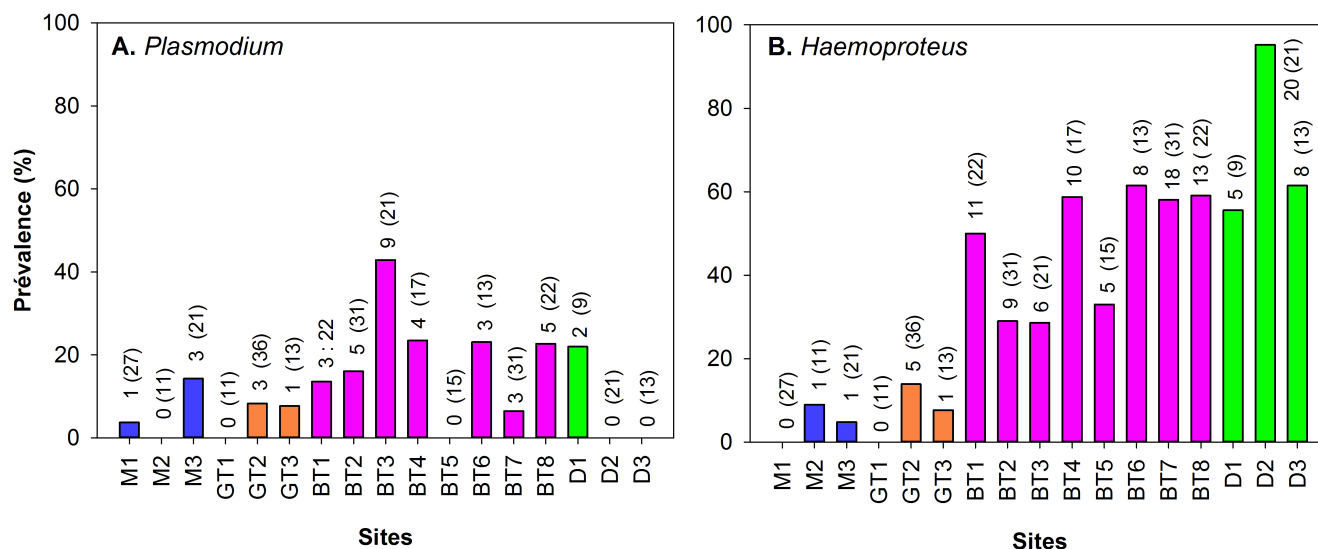
### *Parasites sanguins*

La prévalence en parasites sanguins est significativement différente entre les îles ( $\chi_{1,2} = 7.34$ ,  $p=0.03$ ). 78% des oiseaux sont parasités à la Dominique, contre 62.5% en Guadeloupe et 10.2% à Montserrat. A l'échelle de la Guadeloupe, la prévalence en Hémosporidés se révèle plus importante en Basse-Terre comparé à Grande-Terre (*i.e.* respectivement 73.8% *vs.* 30% des individus). De ce fait, la prévalence est plus variable en Guadeloupe que sur les deux autres îles.

Sur les 188 oiseaux parasités au total, 121 étaient infectés par *Haemoproteus* (59.2%), 42 par *Plasmodium* (20.4%) et 25 étaient des parasites sanguins appartenant à l'un de ces deux genres, mais restés indéterminés du fait d'une séquence non lisible. Aucune co-infection n'a été observée dans notre échantillon (Fig. 29). D'un point de vue spatial *Haemoproteus* est le parasite majoritaire sur toutes les îles bien qu'il soit absent sur un site à Montserrat et un site

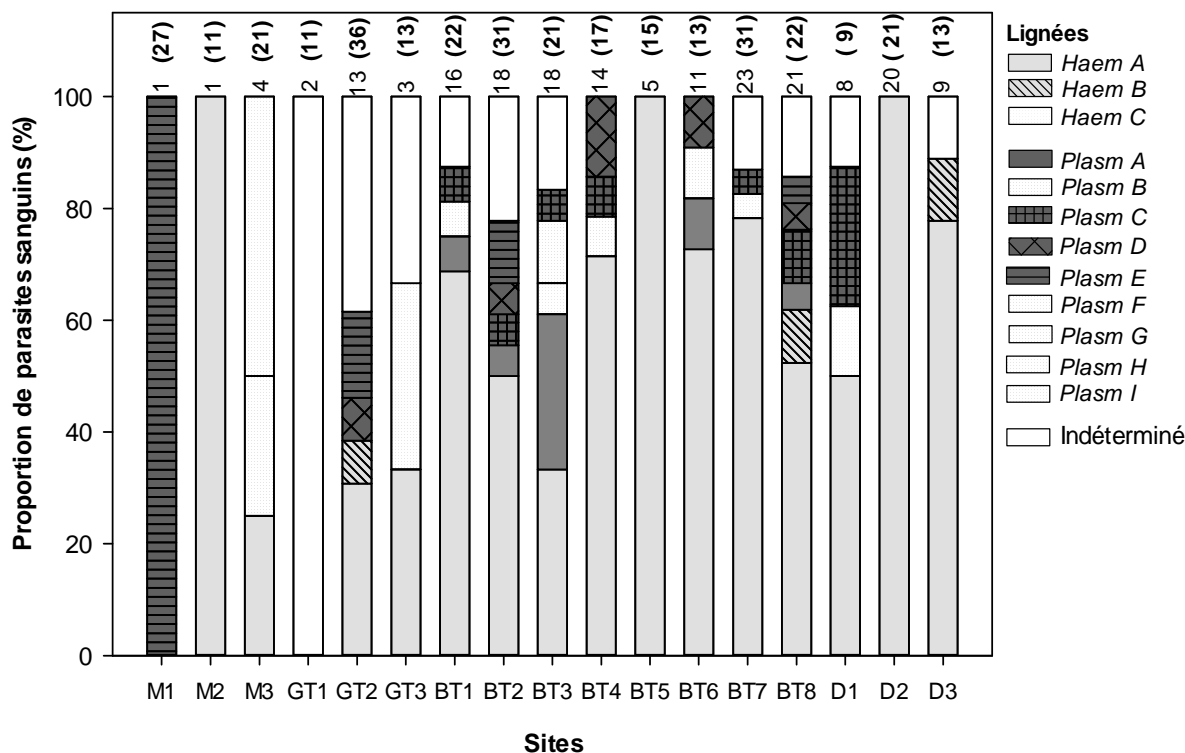


en Grande-Terre (Fig. 29). *Plasmodium* quant-à lui est quasi absent de la Dominique (hormis sur un site) et peu présent sur les autres îles (Fig.29).



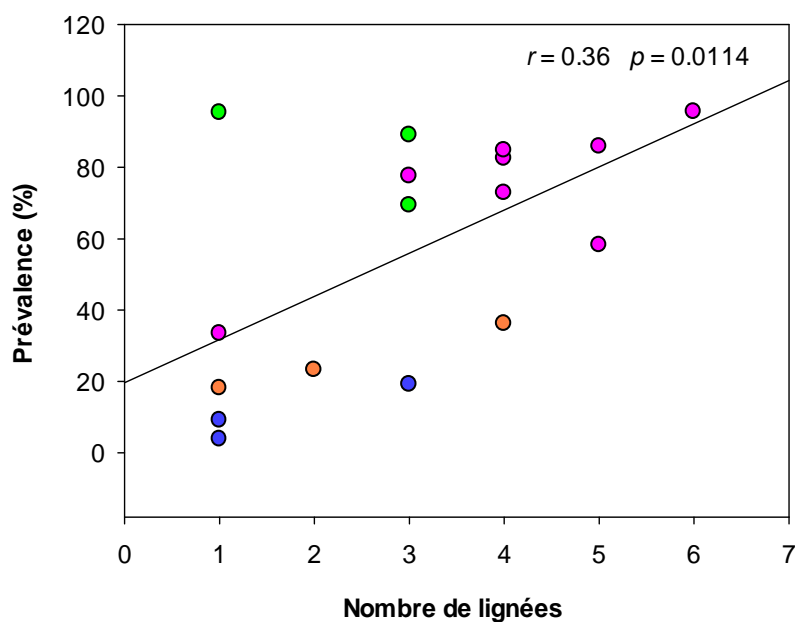
**Figure 28.** Prévalence pour **A. Plasmodium** et **B. Haemoproteus** chez la Grive à pieds jaunes entre les différents sites de capture. En bleu, Montserrat (M1 à M3), en orange Grande-Terre (GT1 à GT3), en rose Basse-Terre (BT1 à BT3) et en vert: la Dominique (D1 à D3). Les valeurs au dessus des barres correspondent au nombre d'individus parasités et entre parenthèses au nombre total d'individus.

Seulement 3 lignées d'*Haemoproteus* ont été détectées chez les grives avec une lignée A ubiquiste recensée sur 16 des 17 sites, et deux lignées B et C uniquement présentes sur 3 sites (GT2, BT8, D3) pour la lignée B et un seul site (D1) pour la lignée C (Fig.30). La diversité pour *Plasmodium* est plus élevée avec 9 lignées identifiées. Quatre d'entre-elles ne sont présentes que sur un ou deux sites et les autres sont réparties sur 4 à 7 sites (Fig.30).



**Figure 29.** Proportion des différentes lignées de parasites sanguins présents chez les grives infectées par *Haemoproteus*, *Plasmodium* ou des parasites indéterminés. *Haemoproteus*, apparaît en gris clair, *Plasmodium* en gris foncé, et les indéterminés en blanc. En haut des barres est indiqué le nombre d'individus parasités et entre parenthèse, le nombre d'individus échantillonnés sur chaque site.

La prévalence est associée positivement au nombre de lignées détectées ( $r = 0.36, p = 0.0114$ , Fig.31).



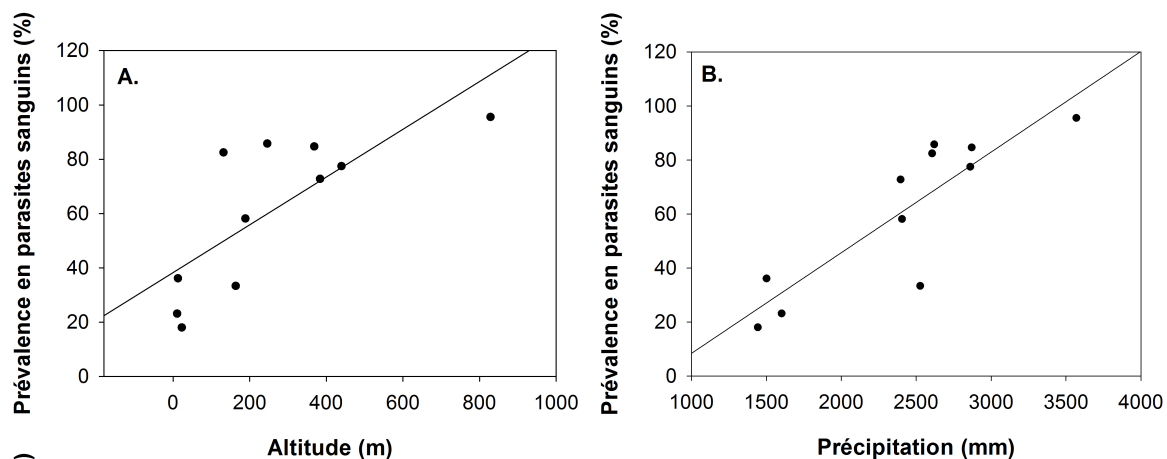
**Figure 30.** Relation entre la prévalence en parasites sanguins exprimée en pourcentage et le nombre de lignées identifiées par site d'échantillonnage. En Bleu, Montserrat ; en orange, Grande-Terre ; en rose, Basse-Terre ; en vert, la Dominique.

*Lien environnement-parasites en Guadeloupe*

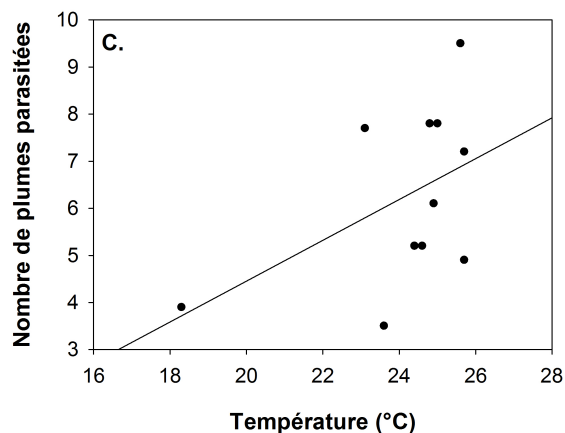
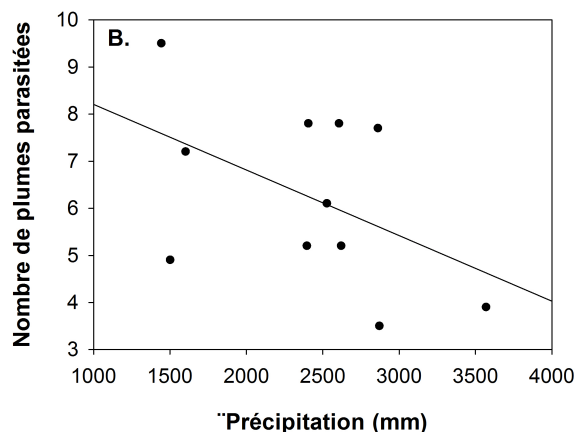
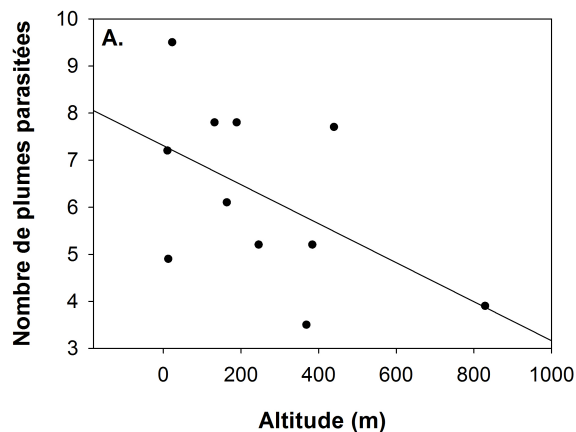
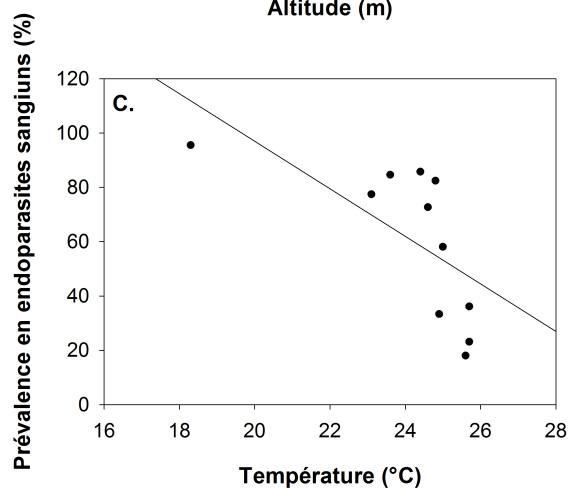
Seules les "grandes variables" liées au climat sont corrélées à la prévalence en Hémospodés en Guadeloupe. En effet, la prévalence est corrélée positivement à l'altitude et à la pluviométrie moyenne annuelle, et négativement à la température moyenne annuelle (Fig. 32). Les variables liées à l'habitat ne semblent pas influencer la présence de parasites sanguins (Tab. 5). Concernant les ectoparasites, aucun des descripteurs environnementaux retenus ne semble affecter leur abondance (exprimée par le nombre de rémiges parasitées) même si une tendance est constatée là encore vis à vis des "grandes variables" liées au climat, mais dans un schéma inverse à celui observé pour les Hémospodés (Fig. 33).

**Tableau 5.** Relations entre les variables environnementales et le nombre d'individus parasités testés à l'aide d'un modèle linéaire généralisée selon Wilson & Hardy (2002).

Facteurs	$F_{1,9}$	$P$
Altitude	21.609	<b>0.001</b>
Précipitation	27.94	<b>0.0005</b>
Température	13.77	<b>0.005</b>
Densité forestière	3.06	0.11
Qualité de l'habitat	0.63	0.44



**Figure 31.** Relation entre certains descripteurs environnementaux et la prévalence des Hémospodéschez la Grive à Pieds Jaunes en Guadeloupe. A. L'altitude, B. Les précipitations moyennes annuelles (50 dernières années). C. La température moyenne annuelle (50 dernières années).



**Figure 33.** Relation entre certains descripteurs environnementaux et l'abondance (nombre de rémiges parasitées) des ectoparasites (acariens + mallophages) chez la Grive à Pieds Jaunes en Guadeloupe. A. L'altitude, B. Les précipitations moyennes annuelles (50 dernières années). C. La température moyenne annuelle (50 dernières années).

## Discussion

Les résultats les plus saillants de cette première approche sont tout d'abord une présence plus marquée des parasites à la Dominique que sur les autres îles, que ce soit pour la prévalence des Hémosporidés ou l'abondance des ectoparasites. A l'inverse la présence d'Hémosporidés à Montserrat est presque anecdotique, et les deux entités guadeloupéennes se démarquent une fois de plus l'une de l'autre, avec une prévalence en parasites sanguins nettement plus faible en Grande Terre qu'en Basse-Terre. L'autre point remarquable est qu'une seule lignée d'*Haemoproteus* est impliquée dans la majorité, voire la totalité, des infections. Cette lignée est presque la seule présente à la Dominique alors que la diversité en Hémosporidés est plus élevée en Guadeloupe marquée par une diversification chez *Plasmodium*.

### *Variabilité spatiale des prévalences et abondances parasitaires*

La variation spatiale des infections parasitaires chez les oiseaux est connue et documentée, en particulier pour les parasites sanguins (Merilä et al. 1995, Freeman-Gallant et al. 2001, Fallon et al. 2003, Loiseau et al. 2010, Ricklefs et al. 2011). Nos résultats sur les Hémosporidés présentent cependant un caractère singulier, au moins à l'échelle de la région considérée. En effet, si différentes lignées montrent généralement des prévalences très fortes structurées géographiquement (Fallon et al 2003, Fallon et al. 2005), il n'en est pas de même pour la prévalence globale en Hémosporidés qui apparaît peu variable (voire stable) aux Petites Antilles. Par exemple, Fallon et al. (2003) ne détectent pas de variation significative de prévalence globale en Hémosporidés chez 4 espèces de petits passereaux échantillonnés sur 9 îles incluant celles étudiées ici. De même, Ricklefs et al. (2011) relèvent une variation de prévalence de 18 % à 31 % chez les oiseaux de Grenade, St Vincent et Ste Lucie. Or, notre étude fait état de contrastes beaucoup plus marqués avec une prévalence globale de l'ordre de 10 % à Montserrat, contre près de 90% à la Dominique. Nous ne disposons pas d'éléments

d'interprétation de cette différence, et le turnover au sein des communautés d'Hémosporidés aviaires ne paraît pas suffisant pour expliquer un tel écart par le simple décalage des périodes d'échantillonnage d'une étude à l'autre (Fallon et al 2004). Ce phénomène peut être imposé par la phylogéographie de l'hôte et l'histoire co-évolutive de ces parasites et de la Grive à pieds jaunes. Ceci étant une étude récente sur 3 espèces d'oiseaux de l'arc antillais suggère que la phylogéographie de l'hôte explique peu les communautés d'Hémosporidés (Svensson-Coelho & Ricklefs 2011).

Quoi qu'il en soit, la prévalence parasitaire à la Dominique apparaît sensiblement plus élevée que sur les deux autres îles, et ce pour les deux types de parasites considérés. Plusieurs hypothèses peuvent être envisagées. Elles ne méritent pas d'être développées de manière extensive à ce stade de l'analyse dans la mesure où aucun élément ne permet de privilégier l'une d'entre-elles. La première interprétation possible fait intervenir l'histoire de la colonisation et du maintien des parasites, des vecteurs et de l'hôte sur les différentes îles. Nous ne disposons pas d'éléments précis pour justifier un schéma d'implantation particulier à la Dominique, propre à expliquer un contexte parasitaire plus lourd. Ceci étant, la dispersion des Hémosporidés vers les Petites Antilles depuis les sources continentales et les grandes Antilles peut être apparemment assez rapide (Fallon et al. 2005), et il est difficile de concevoir la Dominique comme un espace particulièrement plus exposé des flux extérieurs que les autres îles. Un environnement plus favorable aux parasites et à leurs vecteurs à la Dominique pourrait expliquer la plus forte infestation de l'espèce hôte. Là encore nous ne disposons pas d'éléments clés à ce sujet. Le contexte climatique où se trouvent les sites de capture à la Dominique est assez proche de celui des secteurs échantillonnés à Basse-Terre (précipitations fortes et températures moins élevées) et qui est associé aux plus fortes prévalences en Haemosporidés pour la Guadeloupe. Ceci dit, la Guadeloupe montre une corrélation inverse entre ces mêmes facteurs climatiques et l'abondance des ectoparasites. Ces derniers devraient

donc avoir une abondance plus faible à la Dominique alors que l'inverse est observé. Enfin, des aspects plus propres aux populations hôtes pourraient expliquer que celle de la Dominique est plus parasitée. La densité de l'hôte est classiquement reconnue comme un facteur déterminant les possibilités de transmission du parasite et donc la prévalence (Anderson 1998, Poulin 1998, 1999), mais cela ne semble pas une explication pertinente dans notre cas car les densités de grives à pieds jaunes à la Dominique nous paraissent moins élevés qu'en Guadeloupe et même dans les secteurs forestiers de Montserrat. La diversité génétique au sein des populations hôtes comme à l'échelle individuelle est également mentionnée comme un élément déterminant des interactions hôtes parasites. Par exemple, Hawley et al. (2005) ont montré que chez le Roselin familier (*Carpodacus mexicanus*), la résistance des individus à une bactérie pathogène (*Mycoplasma gallisepticum*) était positivement corrélée au niveau d'hétérozygotie (évaluer sur la base 12 microsatellites). Une part au moins de l'explication repose sur un lien positif entre ce niveau d'hétérozygotie et certaines aptitudes immunitaires. D'autres études ont produit des résultats convergents pour différents modèles biologiques y compris à l'échelle populationnelle (Paterson et al 1998, Wegner et al 2003, Whithorn et al. 2010). Dans les conditions où la résistance au parasite conduit à son élimination cela peut se traduire par une prévalence réduite à l'échelle populationnelle. Chez la Grive à pieds jaunes, la Dominique est justement l'île où la diversité génétique est la plus faible et le phénomène précédent reste une explication recevable même si l'approche corrélatrice développée ici sur des marqueurs neutres n'est pas suffisante pour l'avérer.

Pratiquement tous les aspects évoqués ci-dessus, en tout cas la trajectoire historique et le contexte environnemental peuvent aussi être mobilisés pour expliquer la quasi-absence de parasites sanguins à Montserrat. Cette île étant nettement la plus petite des trois, les conséquences de l'insularité y sont sans doute plus marquées, y compris en ce qui concerne les parasites. Pour autant, cela devrait essentiellement agir sur la diversité parasitaire plus que

sur la prévalence globale. Notons cependant que pour cette île un évènement majeur, à savoir l'éruption volcanique de 1995 qui a touché les 2/4 de l'île et causer des réductions majeures d'effectifs pour bon nombre de populations naturelles (Daalsgaard et al. 2007).

Enfin, le contraste de prévalence en Hémosporidés entre Basse-Terre et Grande-Terre peut recevoir les mêmes lectures que précédemment. La présence de la Grive à pieds jaunes en forêts marécageuses est une particularité de cette zone qui peut contribuer aux faibles prévalences, mais le facteur proximal (lié aux parasites, aux vecteurs ou à l'hôte) reste à désigner. Néanmoins, en suivant le principe énoncé pour la Dominique, la plus faible diversité génétique observée chez la Grive en Grande-Terre devrait se traduire par une prévalence parasitaire plus forte. C'est l'inverse qui est constaté ici. Cette contradiction souligne d'autant l'intérêt d'étudier le lien entre diversité génétique chez l'hôte et prévalence ou intensité parasitaire en considérant des marqueurs plus pertinents associés à des gènes d'intérêt.

#### *Distribution des parasites et variabilité spatiale de la diversité parasitaire*

Plusieurs travaux ont porté sur la variabilité géographique des assemblages parasitaires, en particulier chez les Hémosporidés, chez les oiseaux de l'arc antillais, et en intégrant également la distribution géographique des différentes lignées de parasites (Apanius et al. 2000, Ricklefs & Fallon, 2002, Fallon et al. 2003, 2004, 2005, Svenson-Coelho & Ricklefs 2011, Ricklefs et al 2011). Parmi les aspects saillants de ces travaux, on trouve (i) un fort contraste de distribution entre les différentes lignées de parasites identifiées, avec certaines lignées inféodées à une île seulement et d'autres très répandues, (ii) pour des espèces hôtes identiques, la lignée de parasite dominante en terme de prévalence n'est pas la même d'une île à l'autre. Nos observations ne vérifient que la première partie du constat en s'écartant de la seconde. En effet, une lignée d'*Haemoproteus* (lignée A) est majoritaire dans les deux îles (Dominique et Guadeloupe) où le parasitisme est bien établi (en faisant abstraction de la très



faible prévalence totale ce serait d'ailleurs aussi le cas à Montserrat). En considérant séparément Basse-Terre et Grande-Terre, le constat reste identique, même s'il est moins franc (il apparaît si on se focalise sur les lignées déterminées). Même si les systèmes oiseaux-hémosporidés semblent évoluer de manières assez indépendantes dans l'arc antillais (Fallon et al 2003, Ricklefs et al. 2011), le succès assez uniforme de cette lignée trouve peut-être une part d'explication dans son histoire co-évolutive avec son espèce hôte.

En considérant cette fois la diversité en parasites sanguins au sein des populations de Grives à pieds jaunes, la Guadeloupe affiche des niveaux beaucoup plus élevés que la Dominique. La "forte" diversité guadeloupéenne peut s'expliquer par l'application de la théorie de la biogéographie insulaire classique : il s'agit de l'île la plus grande ce qui autorise des niveaux de richesses à l'équilibre plus élevés, y compris pour les parasites (Dritschilo et al. 1975, Poulin & Morand 2000). Ce processus peut d'ailleurs passer par une plus grande richesse des communautés d'oiseaux en Guadeloupe (73 espèces résidentes, source Birdlife International) qu'à la Dominique (66 espèces résidentes, source Birdlife International) qui offre un environnement plus varié propre à héberger une plus grande diversité de parasites. Les transferts de lignées d'hémosporidés d'une espèce d'oiseaux à une autre, semblant courants (Woolhouse et al. 2005, Fallon et al. 2005, Reullier et al. 2006). Ceci étant, le plus frappant dans la comparaison entre Dominique et Guadeloupe est l'extrême réduction de la diversité en hémosporidés. Quatre lignées sont identifiées (contre 9 en Guadeloupe) et surtout, une seule lignée (*Haemoproteus A*) représente près de 90 % des cas. Là encore la diversité génétique réduite de la population de Grive à pieds jaunes à la Dominique peut être un facteur explicatif. La perte conjointe d'allèles et d'espèces de parasites chez l'hôte lors d'évènements associés à des goulots d'étranglement, ou d'autres mécanismes encore, peuvent expliquer les corrélations positives entre la diversité génétique des populations hôtes et la diversité de leurs parasites, mises en lumière par certaines analyses comparatives (Pariselle 2001 extrait de

Combes 2001). Selon un tel schéma, la réduction de la diversité génétique au sein de la population hôte homogénéise l'environnement immédiat du parasite et favorise le maintien de la lignée la mieux adaptée à cet environnement (la lignée la plus compétitive envers les autres lignées qui se trouvent systématiquement excluent par exemple).

#### *Facteurs environnementaux et parasitisme*

L'importance des facteurs environnementaux tels que les grandes variables climatiques sur les prévalences et intensités parasitaires est fréquemment montrée (Super & Van Riper 1995, Seghal et al. 2001, Zamora-Vilchis et al 2012, ... ). Ces facteurs comme la température sont d'ailleurs pris en compte dans les modèles prédictifs d'extension de certaines infections comme la malaria, y compris chez les oiseaux (Seghal et al. 2001). Nos résultats confirment cette importance avec la particularité que les facteurs pris en compte n'agissent pas dans la même direction pour la prévalence des hémospodés et l'abondance des ectoparasites. L'importance de ces facteurs est avérée et ils contribuent sans doute à expliquer une part de la variabilité géographique du contexte parasitaire dans le cas de la Grive à pieds jaunes. Cependant, cet aspect ne sera pas développé ici, vu notre ignorance sur les modalités de leur action dans notre cas d'étude.

Au final, l'analyse grossière des contextes parasitaires fait une fois de plus ressortir la Dominique comme une situation particulière, avec une très forte abondance des ectoparasites, et une très forte prévalence des hémospodés reposant sur une très faible diversité parasitaire pour ces derniers. Une partie de cette originalité peut provenir de celle de la population hôte (faible diversité génétique notamment). Un gros effort complémentaire (études et analyses) serait nécessaire pour mieux cerner les processus en jeux et mieux identifier le risque que peuvent représenter les parasites dans une optique de conservation. L'échantillonnage des

parasites d'autres espèces d'oiseaux peuplant les mêmes sites permettrait de percevoir les dimensions co-évolutives et écologiques associées aux parasites de la Grive, même si apparemment la configuration des Hémospodés aviaires de l'arc antillais s'insère dans un schéma complexe d'interactions hôte-parasites relativement indépendantes d'un système à l'autre (Fallon et al 2003). La prise en compte de l'immunité en liaison avec la diversité génétique caractérisant les populations serait une démarche intéressante pour explorer plus avant le lien entre diversité génétique au sein de la population hôte et prévalence/intensité parasitaires. Cela pourrait se faire (i) en considérant la variabilité au niveau de gènes d'intérêt comme ceux contrôlant le CMH (ii) en estimant des niveaux de réponse immunitaire selon une démarche expérimentale par exemple. Enfin, une approche plus fine des facteurs environnementaux permettrait peut être de mieux comprendre l'hétérogénéité de la distribution des parasite à différentes échelles. Dans cette démarche, la prise en compte des perturbations d'origine anthropique qui influencent les interactions hôtes-parasites de manières variées (Chasar et al. 2009, Vidal-Martinez et al. 2010, Vittor et al 2009) mériteraient sans doute d'être considérées dans la mesure où la Dominique est visiblement l'île la moins perturbée.

## **Discussion et Perspectives**

---



## Discussion et Perspectives

### *Résumé des objectifs et des résultats clés*

Ce travail avait pour objectif d'explorer une composante majeure de la diversité, à savoir la différenciation spatiale en considérant le phénotype, le génotype, mais aussi les interactions hôtes-parasites. L'objet d'étude, la Grive à pieds jaunes, n'est pas un "simple" modèle biologique, mais est en lui-même un élément de la problématique puisque son statut de conservation est précaire, et qu'une partie au moins des territoires concernés par sa distribution sont en attente de repères objectifs pour tracer des orientations de gestion. L'utilisation de spécimens de musée nous a permis d'élargir l'analyse à la totalité de l'aire de distribution de l'espèce et aussi de donner une profondeur historique à l'analyse de la diversité génétique.

A l'échelle de la distribution toute entière, constituée de 4 îles des Petites Antilles, notre étude sur la Grive à pieds jaunes a permis de distinguer 3 clades (mise en évidence avec le cytb), et 4 îles très différenciées (mise en évidence avec les marqueurs microsatellites) à confronter aux 4 sous-espèces définies auparavant sur des critères morphologiques. A une échelle spatiale plus resserrée, la Guadeloupe seule, nous avons constaté des niveaux de différenciation peu communs (du moins chez les oiseaux) que nous pouvons mettre en regard aux niveaux de différenciation observés entre îles. Le contexte parasitaire semble lui aussi structuré spatialement et présente des éléments de congruence avec les structurations morphologiques et génétiques faisant ressortir des points d'originalité communs. Outre le fait que les mécanismes structurants impliqués restent à élucider, ces résultats conduisent à s'interroger sur les échelles pertinentes auxquelles on peut décliner les orientations de conservation et les stratégies envisageables.

*Structuration spatiale de la diversité de la Grive à pieds jaunes – Apports de nos résultats*

Des études comme celle qui vient d'être résumée ici peuvent préciser, voire recomposer, la vision que l'on peut avoir de la structuration spatiale, de la diversité intra-spécifique, et donc de la distinction et de la répartition d'unités taxonomiques précises dans l'espace. S'il n'est pas original dans sa démarche elle-même, notre travail permet cependant d'apporter des précisions concernant la Grive à pieds jaunes.

L'étude de l'ADN mitochondrial a permis la distinction de trois clades constitués de l'ensemble Guadeloupe - Montserrat, de la Dominique et de Sainte-Lucie. Ces trois clades sont à confronter aux 4 sous-espèces préalablement définies sur la base du plumage essentiellement. Chaque île s'est vu affecter une sous-espèce : *T.l. dominicensis* pour la Dominique, *T.l. sanctae luciae* pour Sainte-Lucie, *T.l. lherminieri* en Guadeloupe et *T.l. lawrencii* à Montserrat. La distinction d'une entité propre à Montserrat perd ici un critère de justification. A l'inverse, en quelque sorte, la Dominique apparaît comme une entité très singulière car ses populations possèdent les plus faibles diversités génétiques mais présentent la plus grande originalité par de nombreux allèles privés. Ceci est conforté par une particularité morphologique marquée également. Aucun aspect de la géographie actuelle de la distribution de la Grive à pieds jaunes ne permet d'expliquer pourquoi en se trouvant approximativement à la même distance de Basse-Terre qui détient le plus vaste pool de diversité, Montserrat n'en est qu'un "sous-échantillon" alors que la Dominique s'en singularise fortement.

Sans doute faut-il faire référence à l'histoire lointaine des sites et des populations pour étayer de quelconques réponses. Néanmoins, pour explorer plus loin la singularité de la population dominicaine, une perspective intéressante serait d'étudier la possibilité d'un isolement reproducteur entre les oiseaux de la Dominique et ceux des autres îles (ou de Guadeloupe au moins). Pour se faire, si l'on exclut, pour des raisons pratiques, logistiques et

réglementaires, de maintenir des oiseaux en captivité pour tenter des reproductions croisées entre individus de différentes îles, certaines approches expérimentales peuvent être développées sur le terrain. Nous avons par exemple, constaté que le chant des oiseaux de la Dominique semble différent de ceux de la Guadeloupe et Montserrat. Dans la mesure où le chant fait partie intégrante de la communication entre partenaires sexuels potentiels, et entre compétiteurs potentiels que sont les mâles, ce trait pourrait être pris en compte. Il serait dans un premier temps envisageable d'étudier les caractéristiques sonores de chants provenant de chacune des îles et de confronter la différenciation révélée par une description objective des vocalisations et la différenciation génétique et morphologique (Secondi et al. 2003a, 2003b). Dans un deuxième temps, la réactivité des mâles (voire des femelles) de chaque population à des chants d'origines diverses pourraient être mesurée en appliquant des protocoles bien éprouvés (Ferry & Deschaintre 1974, Catchpole & Leisler 1996, Secondi et al. 1999). Cela permettrait d'apprécier l'isolement reproducteur des différentes populations, avec selon les résultats, un certain nombre de prolongements envisageables en termes de gestion.

Une chose est claire en ce qui concerne la Dominique, le niveau de diversité génétique est très faible indépendamment des conséquences que cela peut avoir, et on peut s'interroger sur les causes de cet état de fait.

#### *La perte de diversité génétique et ses potentielles causes*

La diversité génétique est la première composante des possibilités de réponse adaptative des populations naturelles. La perte de cette diversité génétique diminue sévèrement la probabilité de survie à long-terme d'une population (Avisé 1995, Bouzat et al. 1998, Saccheri et al. 1998, Reed & Frankham 2003). La collecte et l'analyse de spécimens de musée nous a permis d'avoir jusqu'à 110 ans de recul sur la diversité génétique observée et d'avoir une idée de la tendance actuelle chez la Grive à pieds jaunes.



La forte baisse de la diversité génétique à la Dominique (de 52%) est un fait marquant de notre étude. Nous ne disposons de dénombrements standardisés et fiables de cette espèce au cours du temps, mais les effectifs ont baissé, d'après le ressenti des acteurs locaux. Ainsi, la réduction de la diversité génétique est peut-être une conséquence de cette tendance démographique (notons cependant qu'elle peut aussi en être une des causes). Plusieurs facteurs ont pu générer cette situation. En effet, les menaces sur la diversité sont nombreuses. Elles peuvent résulter de changements environnementaux comme la perte des habitats, les changements climatiques, les espèces invasives, la surexploitation ou encore le parasitisme (Pimm et al. 1995, Wilcove et al. 1998, Daszak et al. 2000, Jones et al. 2007). Dans le cas de la Grive à pieds jaunes, les pressions envisageables sont multiples, de la croissance démographique des populations humaines qui occupent et fragmentent l'espace jusqu'à des événements naturels catastrophiques comme l'éruption de la Soufrière de Montserrat. Si ces facteurs peuvent être clairement envisagés pour d'autres îles de son aire, la plupart est à exclure pour la Dominique. En effet, cette île est pour l'instant restée "sauvage" avec une faible pression humaine, de nombreux espaces protégés, pas de chasse et peu de prélèvements illégaux....

Parmi les facteurs énoncés plus haut, les parasites apparaissent comme un facteur capable d'avoir des effets négatifs sur les oiseaux. Or, la Dominique se singularise justement par des prévalences élevées pour les parasites recensés. Ce résultat peut s'interpréter de deux manières. Tout d'abord, les individus de la Dominique ont subi une réduction des effectifs suivie d'une diminution de la diversité génétique qui a pour conséquence une mauvaise résistance aux parasites d'où des niveaux plus élevés de parasites. Les populations insulaires sont souvent caractérisées par une relative uniformité génétique (Acevedo-Whitehouse et al. 2003) et plus susceptibles au parasitisme (Spielman et al. 2004). A l'inverse, on peut envisager que les individus sont très parasités, ce qui compromet leur survie et contribue à

réduire les effectifs des populations générant une baisse de diversité génétique. En effet, les parasites affectent la condition de l'hôte notamment quand les intensités d'infection sont élevées (Brown et al. 2000, Merino et al. 2000, Marzal et al. 2005). Nous pouvons bien sûr difficilement trancher ici. Plusieurs études relient le fort déclin ou l'extinction de certaines espèces d'oiseaux à l'apparition de parasites qu'elles n'ont pas su combattre. Par exemple, à Hawaï, les oiseaux amenés d'Europe ont apporté avec eux un *Plasmodium* aviaire (*Plasmodium relictum*) et la variole aviaire (*Poxvirus avium*). Du fait de l'isolement de la faune aviaire de cet archipel, les espèces endémiques ne possédaient pas de mécanismes de défenses contre ces maladies qui en décima plusieurs (Van Riper et al. 1986, 2002). Le même scénario semble actuellement agir après l'introduction du virus « West Nile » en Amérique du Nord en 1999, celui-ci ayant infecté plus de 70 espèces d'oiseaux (Enserink 2002).

L'hypothèse d'un déterminisme parasitaire à la régression de la Grive à pieds jaunes à la Dominique serait intéressante à explorer. Disposer de plus d'informations sur les parasites, et en particulier l'histoire de l'arrivée à la Dominique de l'hémosporidé qui est de loin le plus fréquent (*Haemoproteus A*) serait sans doute une étape clef pour mieux comprendre le contexte actuel (arrivée récente du parasite ou longue co-évolution) dans lequel se trouve la Grive à pieds jaunes vis-à-vis de ses principaux parasites. Enfin, la dimension "immunité de l'hôte" mériterait sans doute d'être étudiée. L'immunité met en jeu un système complexe d'effecteurs et de cellules dont il est illusoire de cerner le fonctionnement en particulier sur les espèces non modèles comme la plupart des oiseaux. On peut néanmoins estimer l'activité de certaines composantes et les mettre en relation avec la diversité génétique, la condition et le statut parasitaire des oiseaux. Des méthodes peu invasives existent (Matson et al. 2005, Davis et al. 2008, Tieleman et al. 2010, Boughton et al. 2011) qui sont applicables sur le terrain dans des protocoles descriptifs ou expérimentaux sur des oiseaux captifs (ce qui supposerait d'assurer un certain nombre de conditions) et elles sont donc envisageables dans le cas de la

Grive à pieds jaunes. Cela ne permettrait sans doute pas d'incriminer les parasites en tant que seule source du recul de l'espèce à la Dominique, mais offrirait alors une opportunité stimulante d'explorer le lien parasites – immunité – diversité génétique – conservation. Ceci serait d'autant plus intéressant que les contrastes (et potentiellement la perte) de diversité génétique se décline à plusieurs échelles, en particulier à l'échelle de la Guadeloupe et que l'on peut s'interroger sur son déterminisme et ses conséquences.

#### *Etude de la différenciation à fine échelle*

L'exemple de la Grive à pieds jaunes illustre très bien la possibilité, chez les oiseaux, d'observer une différenciation à petite échelle spatiale. Ce n'est pas le seul cas de figure de ce type et d'autres travaux ornithologiques montrent ce phénomène depuis que la dispersion chez les oiseaux n'a pas seulement été assimilée à leur capacité de vol. Par exemple, en Equateur, les populations de Bruant chingolo (*Zonotrichia capensis*) de la vallée des Andes sont séparées par seulement 25 km et présentent une structure génétique marquée ainsi qu'une phénologie de la reproduction (asynchronie de reproduction) et un répertoire vocal différents (Moore et al. 2005).

Le point remarquable ici est que nous obtenons des niveaux de différenciation génétiques exceptionnels chez les oiseaux pour des distances aussi faibles entre populations. Rappelons que l'utilisation de marqueurs microsatellites révèle une différenciation moyenne de 13% entre Grande-Terre et Basse-Terre pour des distances entre sites de l'ordre de 10 km (en tous cas pas au-delà de 35 km) en milieu terrestre. Cette valeur est surprenante car elle est du même ordre que celle observée entre Basse-Terre et Montserrat, zones séparées par environ 50 km de mer. Notre exemple soutient l'idée que les oiseaux des milieux forestiers et tropicaux offrent des situations propices pour constater de tels phénomènes, de par leur propension très restreinte à disperser hors de leur habitat (Harris & Reed 2002, Moore et al.

2008). Cela peut être dû au degré de spécialisation des espèces (Desrochers & Hannon 1997) et à la relative stabilité des milieux forestiers en zones inter-tropicales permettant par conséquent à un long parcours évolutif des espèces forestières dans des environnements très stables. Quoiqu'il en soit, ces espèces se trouvent très vite contraintes par des perturbations d'origines naturelles ou anthropiques qui réduisent et fragmentent leur habitat. Cela fait de ces populations des enjeux de conservation particulier dans un contexte de "fonte" des espaces forestiers. En effet, les faibles effectifs et la perte de diversité génétique associés à la réduction et à la fragmentation des habitats entament le potentiel adaptatif des populations concernées qui deviennent plus exposées aux risques d'extinction (Frankham 2005). Pour la Grive à pieds jaunes, l'explication la plus parcimonieuse de la situation observée repose sur l'activité de l'homme. En effet, les cartes du XIX<sup>ème</sup> siècle décrivent la jonction entre Basse-Terre et Grande-Terre comme étant couverte d'une forêt côtière continue bordée de mangroves et marais. Cette zone a été, assez tôt, fortement bouleversée par l'implantation et la croissance de Pointe à Pitre comme en témoigne, au-delà de leur lyrisme, les écrits de Boyer-Pereyleau (1826) : " les marais et les palétuviers firent successivement places à des constructions nouvelles et une autre Venise sortit du sein des eaux".

En tout état de cause, les phénomènes de différenciation spatiale à petite échelle suite à des configurations d'isolement d'origines naturelles ou anthropiques, soulèvent le fait que la distance géographique ne peut être considérée seule pour exprimer l'isolement. Il semble important d'intégrer la localisation des populations dans une matrice paysagère et de considérer la résistance des unités paysagères à traverser pour joindre deux secteurs forestiers (Ewers & Didham 2006, Laurance 2008, Prugh et al. 2008). Dans une étude sur l'Alapi à dos roux (*Myrmeciza exsul*), la résistance des zones déforestées est évoquée pour expliquer la structure génétique et le patron de différenciation observés à courte distance (quelques dizaines de Km) dans une région du Costa Rica (Woltmann et al. 2012). Ainsi, chez les

oiseaux, la capacité de dispersion à travers la matrice paysagère semble être un des facteurs les plus contraignants pour la persistance des espèces dans des milieux fragmentés (Antongiovanni & Metzger 2005). La prise en compte des caractéristiques des unités paysagères qui séparent deux espaces forestiers par exemple est en tout cas l'objectif explicite des travaux récents de génétique du paysage pour suppléer des "distances écologiques" aux simples distances géographiques tenant compte de la résistance et des frictions paysagères (Manel et al. 2003, Cushman et al. 2006, 2008, Lee-Yaw et al. 2009, Wang & Summers 2010). Plusieurs études sur des oiseaux tropicaux ont révélé que les oiseaux évitent les "trous d'habitats" comme les routes (Develey & Stouffer 2001, Laurance et al. 2004), et auront plus de facilité à sortir de leur environnement lorsque que la matrice est plus perméable (moindre friction) en étant composée de forêts secondaires ou de plantations d'arbres, plutôt que de pâtures par exemple (Gaston et al. 1999, Antongiovanni & Metzger 2005). Ainsi, estimer la différenciation de populations en intégrant le plus possible les composantes paysagères au-delà de leur simple organisation spatiale, mais également les caractéristiques des espèces seraient une perspective intéressante. Cela permettrait d'évaluer, notamment dans des contextes opérationnels, le sens concret des aménagements encouragés (voire obligatoires), comme les divers corridors, pour maintenir des niveaux de connectivité "suffisants" (Sekercioglu et al. 2002, Castellòn & Sieving 2006).

La dimension opérationnelle fait partie de la problématique associée à notre cas d'étude qu'est la Grive à pieds jaunes. Dans ce contexte, outre l'évaluation d'un mode de gestion de l'espace propre à réduire les ruptures de connectivité entre ensembles d'individus, il conviendrait également de définir des unités de gestion de l'espèce même de manière à mieux orienter les actions de conservation éventuellement développées.

*Vers une définition d'unités fondamentales de gestion : implications*

Disposer d'éléments d'appréciation sur les niveaux de différenciations morphologiques ou génétiques des populations, ainsi que sur la structuration spatiale de leur potentiel évolutif (i.e. diversité génétique, Avise 2004, Morgan et al. 2008) est un pré-requis indispensable à la définition d'unités de conservation et de gestion cohérentes des populations (Cegelski et al. 2003, Waple & Giaggiotti 2006). Cette définition se démarque comme une étape fondamentale à la préservation des processus générant de la biodiversité (Moritz 1999) et des variants localement adaptés (Schwartz et al. 2007), en particulier pour les espèces dont le statut de conservation est jugé défavorable (Schwartz et al. 2007, Matern et al. 2009, Straub & Doyle 2009).

Pour cela, il est important d'identifier les relations entre les populations pour définir des unités de gestions pertinentes et l'échelle géographique à laquelle la meilleure gestion peut s'appliquer (Cegelski et al. 2003, Waple & Giaggiotti 2006). Cette démarche est maintenant déclinée dans les circonstances opérationnelles. Par exemple, chez le Tuatara, reptile de Nouvelle-Zélande protégé depuis 1895, une seule espèce avait été décrite sous le nom de *Sphenodon punctatus*. Grâce à des analyses génétiques et morphologiques, au moins deux groupes taxonomiques ont été définis. Ceci a permis de définir une gestion séparée de ces deux groupes (Daugherty et al. 1990). Ignorer cette distinction pouvait laisser l'un des groupes s'éteindre sans intervention (car sans perception d'un ensemble particulier), ou bien conduire à une mauvaise gestion due à un mélange des deux populations par translocation. De même, chez les albatros (*Diomedea sp.*), le statut taxonomique des 4 sous-espèces décrites a été controversé et révisé de multiples fois pour aboutir à 4 espèces (Robertson & Nunn 1998). L'étude de Burg & Croxall (2004) a permis à l'aide d'outils moléculaires de définir seulement trois unités de conservation qui seront gérées de manière indépendante afin de maintenir, voire d'augmenter, les effectifs d'oiseaux en déclin depuis 40 ans (Croxall et al. 1998).

Bien qu'essentielle, l'identification d'unités de gestion cohérentes au plan géographique ne constitue toutefois qu'une étape préliminaire, à laquelle doit succéder une réflexion sur l'orientation des mesures de conservation qui doivent être entreprises. Faut-il par exemple concentrer les efforts sur les unités qui renferment les diversités génétiques les plus importantes, ou bien répartir ces efforts sur l'ensemble des unités identifiées afin de maximiser la diversité mais aussi l'originalité du patrimoine génétique ? Aucune réponse n'est universelle, et les mêmes choix ne sont pas forcément adéquats pour toutes les espèces car les moyens dont on dispose et l'état de conservation des populations concernées sont à intégrer en plus des unités de gestion. L'ambiguïté vient aussi du fait qu'il est difficile d'identifier de réels seuils à partir desquels deux unités peuvent être définies sans équivoque. Ceci étant, parmi les actions les plus "offensives et interventionnistes" figure la translocation et plusieurs programmes ont fait le choix de renforcer des unités de gestion en phase critique grâce à la translocation d'individus provenant d'unités avec des effectifs suffisants et une variabilité génétique conséquente et proche de l'unité à traiter. Par exemple, la Rousserolle des Seychelles (*Acrocephalus sechellensis*) était une espèce insulaire hautement menacée avec seulement 26 individus à l'état sauvage sur une des îles. Les efforts de conservation ont permis de porter les effectifs de la population à 300 individus grâce à des translocations d'oiseaux en provenance des îles voisines (Komdeur 1994).

La gestion des populations de grives à pieds jaunes à l'échelle des Petites Antilles peut être envisagée en considérant des unités de gestion qui se superposent aux trois clades définis par l'analyse phylogénétique. Cela suppose de prendre en compte séparément (i) la Dominique, (ii) Ste Lucie et (iii) l'ensemble Guadeloupe-Montserrat.

En ce qui concerne la population de Sainte-Lucie, nous ne disposons pas de données actuelles et il est difficile de savoir ce qu'il en est. L'oiseau n'a pas été observé depuis 3 ans, et nous n'en avons contacté aucun malgré des efforts de prospection non négligeables (15

jours) dans des milieux *a priori* encore favorables à l'espèce. Il semble bien que l'espèce soit quasiment éteinte sur cette île. Pour s'assurer du statut actuel de l'espèce, une des premières étapes est d'estimer le nombre d'oiseaux restants en utilisant les méthodes des points d'écoute (Blondel et al. 1970). En attendant cette estimation, toutes mesures de gestion semblent être vaines. La translocation pourrait être envisagée depuis la Guadeloupe, mais cela semble hasardeux car (i) nous méconnaissons la "population actuelle" (diversité et particularités génétiques, morphologiques etc) et (ii) encore faut-il s'assurer des capacités d'accueil des milieux récepteurs en termes de caractéristiques de l'habitat, ressources, ... au risque de voir échouer une telle démarche (Griffith et al. 1989, Lovegrove 1996, Sodhi & Brook 2006).

Les singularités des oiseaux de la Dominique imposent plutôt une gestion spécifique à cette population de manière à maintenir son originalité. Elle possède des noyaux encore densément peuplés et il est vraisemblable que la première vigilance sera de préserver les habitats. Néanmoins, l'identification des raisons l'ayant conduite à perdre de la diversité au cours du siècle dernier mériteront d'être mieux entrevues pour mieux étayer d'éventuelles propositions de gestion qui accompagneront peut être le déroulement du plan de recensements souhaités par les gestionnaires locaux (Durand & Jon Baptiste 2008).

Enfin, pour la dernière unité refermant les populations les plus abondantes, il est intéressant de constater que la Basse-Terre pourrait jouer le rôle de réservoir génétique en mesure d'alimenter les populations de Grande-Terre et de Montserrat. Ce réservoir devra d'ailleurs être l'objet d'attention et d'une gestion rationnelle (notamment en termes de prélèvements). Toutefois, au cas où l'idée de renforcement des populations de Grande-Terre et Montserrat émerge, il serait d'abord nécessaire d'en estimer la pertinence la plus large, notamment en s'assurant que les conditions d'accueil conformes aux exigences de l'espèce sont offertes. La population de Montserrat présente encore des effectifs non négligeables malgré l'importante perte de surface forestière imputable à la récente période d'éruptions



volcaniques. Il ne semble pas qu'il y ait de nécessité impérieuse à la renforcer. Celle de Grande-Terre se trouve dans une configuration plus critique dont les causes majeures probables sont la disparition et la fragmentation de son habitat. Les possibilités d'intervention paraissent restreintes surtout si on les confronte au dynamisme de l'urbanisation et de l'aménagement sur ce secteur.

Enfin, la dimension sociétale doit être prise en compte dans la définition des stratégies mises en place pour épargner la biodiversité. Par conséquent, pour qu'un plan de conservation ait quelques chances d'aboutir, il est important d'informer et d'impliquer les acteurs locaux et usagers des ressources naturelles sur la biodiversité présente sur leur île et sur l'intérêt de la maintenir. Au-delà de l'information, l'adhésion est nécessaire pour que les mesures mises en place soient acceptées et respectées. Ceci peut se faire grâce à des actions de communication et d'éducation auprès des différents publics et usagers, et doit sans doute se décliner différemment d'une île à l'autre.

## Références

---



- Acevedo-Whitehouse K, Gulland F, Greig D, Amos W (2003) Inbreeding: Disease susceptibility in California sea lions. *Nature*. **422**:35.
- Alcaide M, Serrano D, Negro JJ, Tella JL, Laaksonen T, Müller C, Gal A, Korpimäki E (2009) Population fragmentation leads to isolation by distance but not genetic impoverishment in the philopatric Lesser Kestrel: a comparison with the widespread and sympatric Eurasian Kestrel. *Heredity*. **102**:190-198.
- Allen JA (1880) *The Auk*. 3
- Allendorf F.W. & Luikart G. 2006. *Conservation and the Genetics of populations*. Blackwell Publishing, Massachusetts.
- Anderson RM & May RM (1982) Coevolution of hosts and parasites. *Parasitology*. **85**: 411-426.
- Anderson RM (1998) Complex dynamic behaviours in the interaction between parasite populations and the host's immune system. *International Journal for Parasitology*. **28**:551-566.
- Anderson RM. (1999). The epidemiology of infectious diseases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London: Biological Sciences*. **354**:689-690.
- Apanius V, Yorinks N, Bermingham E & Ricklefs RE (2000) Island and taxon effects in parasitism and resistance of Lesser Antillean Birds. *Ecology*. **81**:1959-1969.
- Archie EA, Luikart G, Ezenwa VO (2009) Infecting epidemiology with genetics: a new frontier in disease ecology. *Trends in Ecology and Evolution*. **24**:21-30.
- Arendt, W.J., Gibbons, D.W., Gray, G.1999. Status of the volcanically threatened Montserrat Oriole *Icterus oberi* and other forest birds in Montserrat, West Indies. *Bird Conservation International* **9**: 351-372.

- Atkinson E, Greiner C, Forrester DJ (1986) Pre-erythrocytic development and associated host responses to *Haemoproteus meleagridis* ( *Haemosporina: Haemoproteidae*) in experimentally infected domestic turkeys. *Journal of Protozoology*. **74**:228-239.
- Atkinson CT, Woods KL, Dusek RJ, Sileo LS, Iko WM (1995) Wildlife disease and conservation in Hawaii: Pathogenicity of avian malaria (*Plasmodium relictum*) in experimentally infected Iiwi (*Vestaria coccinea*). *Parasitology*. **111**:S59-S69.
- Atkinson CT, Dusek RJ, Woods KL, Iko WM (2000) Pathogenicity of avian malaria in experimentally-infected *Hawaii Amakihi*. *Journal of Wildlife Diseases*. **36**:197-204.
- Atkinson CT, Dusek RJ, Woods KL, Iko WM (2001) Pathogenicity, serological responses, and diagnosis of experimental and natural malarial infections in native Hawaiian thrushes. *Condor*. **103**:209-218.
- Austin JJ & Melville J (2006) Incorporating historical museum specimens into molecular systematic and conservation genetics. *Molecular Ecology Notes*. **6**:1089:1092.
- Avise JC (1995) Mitochondrial DNA polymorphism and a Connection Between Genetics and Demography of Relevance to Conservation. *Conservation Biology*. **9**:686-690.
- Avise JC (2004) *Molecular Markers, Natural History, and Evolution*. (Second Edition) Sinauer, Sunderland, MA.
- Barton NH (2001) Speciation. *Trends in Ecology and Evolution*. **16**:325.
- Bénito-Espinal E & Haucastel P (2003a) *Les oiseaux des Antilles et leur nid. Petites et Grandes Antilles*. PLB Editions, Abymes.
- Bénito-Espinal E & Haucastel P (2003b) *Annexes scientifiques. Les oiseaux des Antilles et leur nid. Petites et Grandes Antilles*. PLB Editions, Abymes.
- Bénito-Espinal E & Haucastel P (2007) *Les oiseaux de Guadeloupe*. PLB Editions, Abymes.

- Beaumont MA & Bruford MW (1999) *Microsatellites in conservation genetics*. In: *Microsatellites – Evolution and applications* (eds Goldstein DB & Schlotterer C), pp. 165-182. Oxford University Press, Oxford.
- Beheregaray LB, Ciofi C, Caccone A, Gibbs JP, Powell JR (2003) Genetic divergence, phylogeography, and conservation units of giant tortoises from Santa Cruz and Pinzon, Galapagos Islands. *Conservation Genetics*. **4**:31-46.
- Beissinger, SR (2000). Ecological mechanisms of extinction. *PNAS* **97**: 11688-11689.
- Biek R & Real RA (2010) The landscape genetics of infectious disease emergence and spread. *Molecular Ecology*. **19**:3515-3531.
- Birdlife International. (2010) *Hotspot de la biodiversité des îles Caraïbes*. 154p.
- BirdLife International (2012). *Species factsheet: Turdus lherminieri*. Downloaded from <http://www.birdlife.org> on 25/09/2012.
- Blondel J. *et al.* (1970). La méthode des indices ponctuels d'abondance (IPA) ou des relevés d'avifaune par "stations d'écoutes." *Alauda*. **41**: 63-84.
- Blondel J, Dias PC, Perret P, Maistre M, Lambrechts MM (1999) Selection-Based Biodiversity at a Small Spatial Scale in a Low-Dispersing Insular Bird. *Science*. **285**:1399-1402.
- Bonnin I, Prospero J-M, Olivieri I (1996) Genetic markers and quantitative genetic variation in *Medicago truncatula* (Leguminosae): a comparative analysis of population structure. *Genetics*. **143**:1795-1805.
- Boore JL (1999) Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids research*. **27**:1767-1780.
- Booth DT, Clayton DH, Block BA (1993) Experimental demonstration of the energetic cost of parasitism in free-ranging hosts. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*. **253**:125-129.
- Bonaparte (1854) *Compte-Rendu xxxviii*. Notes Orn. Coll. Delattre.

- Boughton RK, Joop G, Armitage SAO (2011) Outdoor immunology: methodological considerations for ecologists. *Functional Ecology*. **25**:81-100.
- Bouzat JL, Lawin HA, Paige KN (1998) The Ghost of Genetic Diversity Past: Historical DNA Analysis of the Greater Prairie Chicken. *American Naturalist*. **152**:1-6.
- Brace S, Barnes I, Powell A, Pearson R, Woolaver LG, Thomas MG, Turvey ST (2012) Population history of the Hispaniolan hutia, *Plagiodontia aedium* (Rodentia: Capromyidae): testing the model of ancient differentiation on a geotectonically complex Caribbean island. *Molecular Ecology*. **21**:2239-2253.
- Brown M, Loosli R, Schmid-Hempel P (2000) Condition-dependent expression of virulence in a trypanosome infecting bumblebees. *Oikos*. **91**:421-427
- Bruford MW & Wayne RK (1993) Microsatellites and their application to population genetic studies. *Current Opinion in Genetics and Development*. **3**: 939-943.
- Cardona CJ, Ihejirika A, McClellan L (2002) *Haemoproteus lophortyx* infection in bobwhite quail. *Avian diseases*. **46**:249-255.
- Carney JP & Dick TA (2000) Parasite biogeography: A review of the origins and ideas with specific examples from holarctic fishes. *Vie et milieu*. **50**: 221-243.
- Castric V, Bonney F, Bernatchez L (2001) Landscape structure and hierarchical genetic diversity in the brook char, *Salvelinus fontinalis*. *Evolution*. **55**:1016-1028.
- Catchpole CK, Leisler B (1996) Female aquatic warblers (*Acrocephalus paludicola*) are attracted by playback of longer and more complicated songs. *Behaviour*. **133**:1153-1164.
- Chan YL, Lacey EA, Pearson OP, Hadly EA (2005) Ancient DNA reveals Holocene loss of genetic diversity in a South American rodent. *Biology Letters*. **1**:423-426.
- Chasar A, Loiseau C, Valkiunas, Iezhova T, Smith TB, Sehgal RNM (2009) Prevalence and diversity patterns of avian blood parasites in degraded African rainforest habitats. *Molecular Ecology*. **18**:4121-4133.

- Cincotta RP, Wisnewski J, Engelman R (2000) Human population in the biodiversity hotspots. *Nature*. 404:990-992.
- Clement, P. & Hathway, R. (2000). *Thrushes*. Christopher Helm, London.
- Cleveland S, Hess GR, Dobson AP, Laurenson MK, McCallum HI, Roberts MG, Wooddroffe R (2002) *The role of pathogens in biological conservation*. Oxford, Oxford University Press, pp139-150.
- Coe R (2006). *Designing ecological and biodiversity sampling strategies*. Working Paper, 66, 33p.
- Cohen EB & Lindell CA (2005) Habitat use of adult White-throated Robins during the breeding season in a mosaic landscape in Costa Rica. *Journal of Field Ornithology*. 76:279–286.
- Combes C (2001). *L'art d'être parasite Les associations du vivant*. Champs Flammarion.
- Cory (1891) *Turdus lherminieri* Auk. 7
- Crnokrak P & Merilä J (2002) Genetic population divergence: markers and traits. *Trends in Ecology and Evolution*. 17:501.
- Colwell RK, Lees DC (2000) The mid-domain effect: geometric constraints on the geography of species richness. *Trends in Ecology and Evolution*. 15:288-289.
- Coyne JA & Orr HA (2004) *Speciation*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts USA.
- Dalsgaard B, Hilton GM, Gray GAL, Aymer L, Boatswain J, Daley J, Fenton C, Martin J, Martin L, Murrain P, Arendt WJ, Gibbons DW, Olesen JM (2007) Impacts of a volcanic eruption on the forest bird community of Montserrat, Lesser Antilles. *IBIS*, 149, 298-312.
- Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD (2000) Emerging infectious diseases of wildlife – threats to biodiversity and human health. *Science*. 287: 443-449.



- Davis AK, Maney DL, Maerz JC (2008) The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology*. 22:760-772.
- De Meeûs T & Renaud F (2002) Parasites within the new phylogeny of eukaryotes. *Trends in Parasitology*. 18:247-251.
- Dritschilo W, Cornell HH, Nafus DD (1975) Insular biogeography: of mice and mites. *Science*. 190:467-469.
- Enserink M (2002) West Nile's Surprisingly Swift Continental Sweep. *Science*. 297:1988-1989.
- Eraud C., Arnoux E. Levesque A., Van Laere G. & Magnin H. (2012). *Biologie des populations et statut de conservation des oiseaux endémiques des Antilles en Guadeloupe*. Rapport d'étude ONCFS-Parc National Guadeloupe.
- Fallon SM, Bermingham E, Ricklefs RE (2003) Island and taxon effects in parasitism revisited: avian malaria in the Lesser Antilles. *Evolution*. 57:606–615
- Fallon SM, Ricklefs RE, Latta SC, Bermingham E (2004) Temporal stability of insular avian malaria parasite communities. *Proceedings of Royal Society of London B*. 271:493-500.
- Fallon SM, Bermingham E, Ricklefs RE (2005) Host specialization and geographic localization of avian malaria parasites: a regional analysis in the Lesser Antilles. *American Naturalist*. 165:466-480.
- Federal register (2010) *Department of the Interior. Fish and Wildlife Service*.
- Fernando P, Polet G, Foad N, Ng LS, Pastorini J, Melnick DJ (2006) Genetic diversity, phylogeny and conservation of the Javan rhinoceros (*Rhinoceros ondaicus*). *Conservation Genetics*. 7:439-448.
- Ferry C, Deschaintre A (1974) Le chant, signal interspécifique chez *Hippolais icterina* et *polyglotta*. *Alauda*.

- Fong JJ, Parham JF, Shi H, Stuart BL, Carter RL (2007) A genetic survey of heavily exploited, endangered turtles: caveats on the conservation value of trade animals. *Animal Conservation*. 10:452-460.
- Forester DJ & Machlis GE (1996) Modeling human factors that affect the loss of biodiversity. *Conservation Biology*. 10: 1253–1263.
- Frankham R & Ralls K (1998) Conservation biology – inbreeding leads to extinction. *Nature*. 392:441-442.
- Frankham R (2005) Genetics and extinction. *Biological Conservation* 126:131–140
- Freeman-Gallant CR, O'Connor KD, Breuer ME (2001) Sexual selection and the geography of *Plasmodium* infection in Savannah sparrows (*Passerculus sandwichensis*). *Oecologia*. 127:517-521.
- Friedolfsson AK & Ellegren H (1999) A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *Journal of Avian Biology*. 30: 116-121.
- Fritts TH & Rodda GH (1998) The role of introduced species in the degradation of island ecosystems: A Case History of Guam. *Annual Review of Ecological Systems*. 19: 113-140.
- Garnett, S.T. & Christidis, L. (2007) Implications of changing species definitions for conservation purposes. *Bird Conservation International*. 17: 187-195.
- Gaston KJ (1994) *Rarity*. Chapman & Hall, London.
- Gaston KJ (1996) *Biodiversity : A biology of Numbers and Difference*. Blackwell Science Ltd.
- Gargominy O (2003) *Biodiversité et conservation dans les collectivités françaises d'outre-mer*. Collection Planète Nature. Comité français pour l'UICN, Paris.
- Goüy de Bellocq J, Morand S, Feliu C (2002) Patterns of parasite species richness of Western Palearctic micro-mammals: island effects. *Ecography*. 25:173-183.

- Grant BR & Grant PR (1989) *Evolutionary dynamics of a natural population: the large cactus finch of the Galapagos*. The University of Chicago Press, USA.
- Gravitol AD, Ballou JD, Fleischer RC (2001) Microsatellite variation within and among recently fragmented populations of the golden lion tamarin (*Leontopithecus rosalia*). *Conservation genetics*. 2:1-9.
- Guindon, S., Dufayard, J.F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W. & Gascuel, O. (2010) PhyML 3.0: "New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0." *Systematic Biology* 59: 307-321.
- Guschanski K, Olivieri G, Funk SM, Radespiel U (2007) MtDNA reveals strong genetic differentiation among geographically isolated populations of the golden brown mouse lemur, *Microcebus ravelobensis*. *Conservation Genetics*. 8:809-821.
- Haig SM, Beever EA, Chambers SM et al. (2006) Taxonomic considerations in Listing subspecies under the US Endangered Species Act. *Conservation Biology* 20: 1584-1594.
- Haig SM, Bronough WM, Crowhurst RS, D'Elia J, Eagles-Smith CA, Epps CW, Knaus B, Miller MP, Moses ML, Oyler-McCance S, Robinson WD, Sidlauskas B (2011) Genetic Applications in Avian Conservation. *The Auk*. 128:205-229.
- Handt O, Höss M, Krings M, Pääbo S (1994) Ancient DNA: Methodological challenges. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 50:524-529.
- Harris RJ, Reed JM (2002) Behavioral barriers to non-migratory movements of birds. *Annales Zoologici Fennici*. 39:275-290.
- Hauswirth WW (1994) Ancient DNA: an introduction. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 50:521-523.

- Hawley DM, Sydenstricker KV, Kollias GV, Dhondt AA (2005) Genetic diversity predicts pathogen resistance and cell-mediated immunocompetence in house finches. *Biology Letters*. 1:326-329.
- Hewitt G (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*. 405:907-913.
- Hillis, DM, Moritz C, Mable BK (1996) *Molecular Systematics*. 2edn. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.
- Hirzel A.H. et al. (2002) Ecological-niche factor analysis: How to compute habitat- suitability maps without absence data? *Ecology* 83: 2027-2036.
- Holiday SH (2009) *Montserrat. A Guide to the Center Hills*. West Indies Publishing Ltd, Antigua.
- Höglund J, Johansson T, Beintema A, Schekkerman H (2009) Phylogeography of the Black-tailed Godwit *Limosa limosa*: substructuring revealed by mtDNA control region sequences. *Journal of Ornithology*. 150:45-53.
- Horváth MB, Martínez-Cruz B, Negro JJ, Kalmár L and Godoy JA (2005) An overlooked DNA source for non-invasive genetic analysis in birds. *Journal of Avian Biology*. 36:84-88.
- Hudson RR, Slatkin M, Maddison WP (1992) Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. *Genetics*. 132:2583-2589.
- Hutchinson GE (1957) Concluding remarks. Cold Spring Harbour Symposium on *Quantitative Biology*. 22: 415-427.
- Hutson MA (1994) *Biological diversity: the coexistence of species*. Cambridge University Press.
- INSEE. (2001) Projections de population à l'horizon 2030. Antiane, 50, 20-23. [www.insee.fr](http://www.insee.fr).
- Irwin DE (2002) Phylogeographic breaks without geographic barriers to gene flow. *Evolution*. 56:2383-2394.

- Jarvi SI, Schultz JJ, Atkinson CT (2002) PCR diagnostics underestimate the prevalence of avian malaria (*Plasmodium relictum*) in experimentally-infected passerines. *Journal of Parasitology*. 88:153-158.
- Jarvi SI, Farias MEM, Baker H, Freifeld HB, Baker PE, Van Gelder E, Massey JG, Atkinson CT (2003) Detection of avian malaria (*Plasmodium spp.*) in native land birds of American Samoa. *Conservation Genetics*. 4:629-637.
- Johnsen, A., Andersson, S., Garcia Fernandez, J., Kempnaers, B., Pavel, V., Questiau, S., Raess M, Rindal E & Lifjeld JT (2006) Molecular and phenotypic divergence in the bluethroat (*Luscinia svecica*) subspecies complex. *Molecular Ecology* 15: 4033-4047.
- Jones GP, Srinivasan M, Almany GR (2007) Population connectivity and Conservation of Marine Biodiversity. *Oceanography*. 20:100-112.
- Keith A.R. (1997) *The birds of St Lucia, West Indies: an annotated checklist*. British Ornithologists Union, Tring, UK.
- Kenward R (1987) *Wildlife radio tagging: Equipment, field techniques, and data analysis*. Academic Press, London.
- Kocher TD (2004) Adaptive evolution and explosive speciation: the cichlid fish model. *Nature Reviews Genetics*. 5:288-298
- Lafresnaye (1844) *Turdus lherminieri*. *Rev. Zool*. 167
- Latta SC & Ricklefs RE (2010) Prevalence patterns of avian haemosporida on Hispaniola. *Journal of Avian Biology*. 41:25-33.
- Lauga B, Cagnon C, D'Amico F, Karama S, Mouches C (2005) Phylogeography of the white-throated dipper *Cinclus cinclus* in Europe. *Journal of Ornithology* 146:257-262.
- Lawrence (1879) Catalogue of a collection of birds obtained in Guadeloupe for the Smithsonian Institution, by Mr. Fred. A. Ober. *Proc. Nat. Mus.* 78:449

- Lees AC & Peres CA (2009) Gap-crossing movements predict species occupancy in Amazonian forest fragments. *Oikos*. 118:280-290.
- Levesque, A. & Mathurin, A. (2008). *Les Zones Importantes pour la Conservation des Oiseaux en Guadeloupe*. Rapport AMAZONA n°17.
- Loiseau C, Iezhova T, Valkiūnas G, Chasar A, Hutchinson A, Buermann W, Smith TB, Sehgal RNM (2010) Spatial Variation of Haemosporidian Parasite Infection in African Rainforest Bird Species. *The Journal of Parasitology*. 96:21-29.
- Ludwig AN, Jenneckens I, Debus L, Ludwig A, Becker J & Kirschbaum F (2000) Genetic analyses of archival specimens of the Atlantic sturgeon *Acipenser sturio* L., 1758. *Boletín Instituto Español de Oceanografía*. 16:181-190.
- Luo Z-X (2007) Transformation and diversification in early mammal evolution. *Nature*. 450:1011-1019.
- Mac Arthur RH, Wilson EO (1963). An equilibrium theory of insular zoogeography. *Evolution* 17:373– 83.
- Mac Arthur RH, Wilson EO (1967) *The theory of Island Biogeography*. *Monographs in Population Biology*. Princeton, New Jersey.
- Mac Cracken KG, Johnson WP, Sheldon FH (2001) Molecular population genetics, phylogeography, and conservation biology of the mottled duck (*Anas fulvigula*). *Conservation genetics*. 2:87-102.
- Magurran AE (1998) Population differentiation without speciation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*. 353:275-286.
- Maruyama T & Fuerst PA (1985) Population Bottlenecks and Non-Equilibrium Models in Population Genetics. II. Number of Alleles in a Small Population that was formed by a Recent Bottleneck. *Genetics* 111:675-689.
- Mallet J (2001) The speciation revolution. *Journal of Evolutionary Biology*. 14:887-888.

- Marzal A, de Lope F, Navarro C, Moller AP (2005) Malarial parasites decrease reproductive success: an experimental study in passerine bird. *Oecologia*. **142**:541-545.
- Matson KD, Ricklefs RE, Klasing KC (2005) A hemolysis-hemagglutination assay for characterizing constitutive innate humoral immunity in wild and domestic birds. *Developmental and Comparative Immunology*. **29**:275-286.
- Mendez M, Tella JL, Godoy JA (2011) Restricted gene flow and genetic drift in recently fragmented populations of an endangered steppe bird. *Biological Conservation*. **144**: 2615-2622.
- Merilä J, Bjorklund M, Bennett GF (1995) Geographic and individual variation in haematozoan infections in the greenfinch, *Carduelis chloris*. *Canadian Journal of Zoology*. **73**: 1798–1804.
- Merino S, Moreno J, Sanz JJ, Arriero E (2000) Are avian blood parasites pathogenic in the world ? A medication experiment in blue tits (*Parus caeruleus*). *Proceedings of the Royal Society of London Series B*. **267**: 2507-2510.
- Milà B, Wayne RK, Fitze P, Smith TB (2009) Divergence with gene flow and fine-scale phylogeographical structure in the wedge-billed woodcreeper, *Glyphorynchus spirurus*, a Neotropical rainforest bird. *Molecular Ecology*. **18**:2979-2995.
- Milà B, Warren BH, Heeb P, Thébaud C (2010) The geographic scale of diversification on islands: genetic and morphological divergence at a very small spatial scale in the Mascarene grey white-eye (Aves: *Zosterops borbonicus*). *BMC Evolutionary Biology*. **10**:158-165.
- Miner, B.G., Sultan, S.E., Morgan, S.G., Padilla, D.K. & Reylea, R.A. 2005. Ecological consequences of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology and Evolution*. **12**: 685–692.
- Moore RP, Robinson WD, Lovette IJ, Robinson TR (2008) Experimental evidence for extreme dispersal limitation in tropical forest birds. *Ecology Letters*. **11**:960-968.

- 
- Mora C, Tittensor DP, Adl S, Simpson AGB, Worm B (2011) How many species are there on earth and in the ocean ? *Plos Biology*. **9**:127-134.
- Moritz C (1994) Defining “Evolutionarily Significant Units” for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*. **9**: 373-375.
- Moritz C, Patton JL, Schneider CJ, Smith TB (2000) Diversification of Rainforest Faunas: An Integrated Molecular Approach. *Annual Review of Ecological Systems*. **31**:533-563.
- Myers N (1988) Threatened Biotas: “HotSpots” in Tropical Forests. *The Environmentalist*. **3**:187-208
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, da Fonseca GAB, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*. **403**:853-858.
- Neaves LE, Zenger KR, Prince RIT, Eldridge MDB, Cooper DW (2009) Landscape discontinuities influence gene flow and genetic structure in a large, vagile Australian mammal, *Macropus fuliginosus*. *Molecular Ecology*. **18**:3363-3378.
- Nei, M. (1975) *Molecular population genetics and evolution*. North Holland, Amsterdam and New-York.
- Nicholls JA & Goldizen AW (2006) Habitat type and density influence vocal signal design in satin bowerbirds. *Journal of Animal Ecology*. **75**:549–558.
- Nicholls JA, Austin JJ, Moritz C, Goldizen AW (2006) Genetic population structure and call variation in a passerine bird, the satin bowerbird, *Ptilonorhynchus violaceus*. *Evolution*. **60**:1279–1290.
- Nosil P, Vines TH, Funk DJ (2005) Reproductive isolation caused by natural selection against immigrants from divergent habitats. *Evolution* **59**:705-719.
- Ober (1878) Proc. U.S.N.M. p452.
- Ober (1895) *L'Histoire de la Faune et de la Flore de Guadeloupe*.



- Odeen A & Bjorklund M (2003) Dynamics in the evolution of sexual traits: losses and gains, radiation and convergence in yellow wagtails (*Motacilla flava*). *Molecular Ecology* **12**: 2113-2130.
- Ortega J, Aparicio JM, Calabuig G, Cordero PJ (2007) Risk of ectoparasitism and genetic diversity in a wild lesser kestrel population. *Molecular Ecology*. **16**:3712-3720.
- Ostfeld RS, Glass GE, Keesing F (2005) Spatial epidemiology: an emerging (or re-emerging) discipline. *TRENDS in Ecology and Evolution*. **20**:328-336.
- OTA (1987) US Congress Office of Technology Assessment
- Ottvall, R., Hoglund, J., Bensch, S. & Larsson, K. (2005). Population differentiation in the redshank (*Tringa totanus*) as revealed by mitochondrial DNA and amplified fragment length polymorphism markers. *Conservation Genetics* **6**: 321-331.
- Padilla IR, Santiago-Alarcon D, Merkel J, Miller E, Parker PG (2004) Survey for *Haemoproteus* spp, *Trichomonas gallinae*, *Chlamidophila psittaci*, and *Salmonella* spp. In the Galapagos Islands Columbiformes. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. **35**:60-64.
- Pariselle A (1997) *Diversité, spéciation et évolution des monogènes branchiaux de Cichlidae en Afrique de l'ouest*. Thèse de Doctorat, Université de Perpignan, France.
- Paterson S, Wilson K, Pemberton JM (1998) Major histocompatibility complex variation associated with juvenile survival and parasite resistance in a large unmanaged ungulate population (*Ovis aries* L.) *PNAS*. **95**:3714-3719.
- Paxinos EE, James HF, Olson SL, Ballou JD, Leonard JA, Fleischer RC (2002) Prehistoric decline of genetic diversity in the Nene. *Science*. **296**:1827.
- Pianka ER (1966) Latitudinal gradients in species diversity: a review of concepts. *American Naturalist*. **100**:33-46.
- Pigliucci M (2001) *Phenotypic Plasticity*. John Hopkins University Press, Baltimore.

- Pigliucci M. (2005) Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends in Ecology and Evolution*. **20**: 481–486.
- Pimm S (1991). *The balance of nature?* University of Chicago Press, Chicago.
- Pimm SL, Russell GJ, Gittleman JL, Brooks TM. (1994) *Science*. **269**: 347-350.
- Pinchon P (1976) *Faune des Antilles françaises: Les Oiseaux 2ème édition*, 324p.
- Pinho C & Hey J (2010) Divergence with Gene Flow: Models and Data. *Annuals review of Ecology Evolution and Systematics*. **41**:215-230.
- Postma, E. & Van Noordwijk, A.J. 2005. Genetic variation for clutch size in natural populations of birds from a reaction norm perspective. *Ecology* **86**: 2344–2357.
- Poulin R (1998) *Evolutionary ecology of parasites*. Chapman and Hall.
- Poulin R & Morand S (2000) The diversity of parasites. *Quarterly Review of Biology*. **75**:277–293.
- Poulin R & Morand S (2004) *Parasite Biodiversity*.
- Prugh LR, Hodges KE, Sinclair ARE, Brashares JS (2008) Effect of habitat area and isolation on fragmented animal populations. *PNAS*. **105**:20770-20775.
- Raffaele, H.A. *et al.* (1998). A guide to the birds of West Indies. Princeton University Press, Princeton.
- Rapport DJ, Howard J, Lannigan R, McMurtry R, Jones DL, Anjema CM, Bend JR (2002) Introducing ecosystem health into undergraduate medical education. In: *Conservation medicine. Ecological Health in Practice*, Oxford University Press, pp 345-360.
- Rasplus J-Y, Garnier S, Meusnier S, Piry S, Mondor G, Audiot P & Cornuet J-M (2001). Setting conservation priorities: the case study of *Carabus solieri* (Col. Carabidae). *Genetics, Selection and Evolution* **33**: S141-S175.
- Reed DH & Frankham R (2003) Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology*. **17**:230-237.

- Reullier J, Péreztris J, Bensch S, Secondi J (2006) Diversity, distribution and exchange of blood parasites meeting at an avian moving contact zone. *Molecular Ecology*. **15**: 753–763.
- Rice WR, Hostert EE (1993) Laboratory Experiments and Speciation: What Have We Learned in 40 Years ? *Evolution* **47**:1637-1653.
- Ricklefs RE, Cox GW (1972) Taxon cycles in the West Indian avifauna. *American Naturalist*. **106**:195-219.
- Ricklefs RE (1987) Community diversity: relative roles of local and regional processes. *Science* **235**: 167-171.
- Ricklefs RE & Fallon SM (2002) Diversification and host switching in avian malaria parasites. *Proceedings of Royal Society London B*. **269**:885–892.
- Ricklefs RE (2004) A comprehensive framework for global patterns in biodiversity. *Ecology Letters* **7**: 1-15.
- Ricklefs RE (2010) Evolutionary diversification, coevolution between populations and their antagonists, and the filling of niche space. *PNAS*. **107**:1265-1272.
- Ricklefs RE, Gray JD, Latta SC, Svensson-Coelho M (2011) Distribution anomalies in avian haemosporidian parasites in the southern Lesser Antilles. *Journal of Avian Biology*. **42**:570-584.
- Ridley M (2004) *Evolution*. Third Edition. Blackwell Science Ltd, UK.
- Ritchie ME, Olff H (1999) Spatial scaling laws yield a synthetic theory of biodiversity. *Nature*. **400**:557-560.
- Rohde K (1992) Latitudinal gradients in species diversity: the search for the primary cause. *Oikos*. **3**:514-527.
- Rohde K (2002) Ecology and biogeography of marine parasites. *Advances in Marine Biology*. **43**:1-83.

- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres D, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA & Huelsenbeck JP (2011) MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* **61**: 2010-2013.
- Rosà R. & Pugliese A (2002) Aggregation, stability and oscillations in different models for host–macroparasite interactions. *Theoretical Population Biology*. **61**: 319–334.
- Rousteau, A. (1996). *Ecological map of Guadeloupe*. National Forestry Service, University of Antilles Guyane, National Park of Guadeloupe, General Board of Guadeloupe, Jarry, Guadeloupe.
- Rundell RJ & Price TD (2009) Adaptive radiation, nonadaptive radiation, ecological speciation and nonecological speciation. *Trends in Ecology and Evolution*. **24**:394-399.
- Ryan PG, Bloomer P, Moloney CL, Grant TJ, Delport W (2007) Ecological speciation in South Atlantic island finches. *Science*. **315**:1420-1423.
- Ryder OA (1986) Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution* **1**: 9–10.
- Saccheri I, Kuussaari M, Kankare M, Vikmarr P, Fortelius W, Hanski I (1998) Inbreeding and extinction in a butterfly population. *Nature*. **392**:491-494.
- Santiago-Alarcon D, Whiteman NK, Parker PG, Ricklefs RE, Valkiunas G (2008) Patterns of parasite abundance and distribution in island populations of endemic Galapagos birds. *Journal of Parasitology*. **94**:584-590.
- Santiago-Alarcon D, Outlaw DC, Ricklefs RE, Parker PG (2010) Phylogenetic relationships of haemosporidian parasites in New World Columbiformes, with emphasis on the endemic Galapagos dove. *International Journal for Parasitology*. **40**: 463-470.

- Schluter D (2001) Ecology and the origin of species. *Trends in Ecology and Evolution*. 16:372-380.
- Sclater 1880 Proc. Zool. Soc. Lond. 335
- Secondi J, Cézilly F, Faivre B (1999) *Fonctions et évolution d'un signal ambivalent dans une zone d'hybridation : exemple du chant chez Hippolais polyglotta et H. icterina (Aves : passériformes)*. Thèse de doctorat à l'Université de Bourgogne, Dijon.
- Secondi J, Bretagnolle V, Compagnon C, Faivre B (2003) Species-specific song convergences in a moving hybrid zone between two passerines. *Biological Journal of the Linnean Society*. **80**:507-517.
- Secondi J, den Hartog P, ten Cate C (2003) To trill or not to trill ? Territorial response to a heterospecific vocal trait in male Collared doves, *Streptopelia decaocto*. *Behavioral Ecology* **14**: 694-701.
- Sehgal RN, Jones M, Smith TB (2001) Host specificity and incidence of *Trypanosoma* in some African rainforest birds: a molecular approach. *Molecular Ecology*. **10**: 2319-2327.
- Sekercioglu CH, Loarie SR, Oviedo Brenes F, Ehrlich PR, Daily GC (2007) Persistence of Forest Birds in the Costa Rican Agricultural Countryside. *Conservation Biology*. **21**: 482-494.
- Selkoe KA & Toonen RJ 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*. **9**: 615-629.
- Semper (1872) St Lucia. Proc. *US. Nat. Mus.* 268.
- Seutin G, White BN, Boag PT (1991) Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analyses. *Canadian Journal of Zoology*. **69**: 82-90.
- Sharpe (1854) *Cichlherminia herminieri*. Hand-list 116.

- Seutin G, White BN, Boag PT (1991) Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analyses. *Canadian Journal of Zoology*. **69**: 82-90.
- Slatkin M (1977) Gene flow and genetic drift in a species subject to frequent local extinctions. *Theoretical Population Biology* **12**: 253-262.
- Slatkin M (1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*. **236**:787-792.
- Smith RB, Schafer P, Kirshbaum DJ, Regina E (2009) Orographic Precipitation in the Tropics: Experiments in Dominica. *Journal of the Atmospheric Sciences*. **66**:1698-1716.
- Sodhi NS, Liow LH, Bazzaz FA (2004) Avian extinctions from tropical and subtropical forests. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. **35**:323-345.
- Spielman D, Brook BW & Frankham R (2004) Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **101**:15261–15264.
- Sorci G, Møller AP, Boulinier T (1997) Genetics of host-parasite interactions. *Trends in Ecology and Evolution*. **12**:196-200.
- Stearns SC & Hoekstra RF (2005) *Evolution: An introduction. Second Edition*. Oxford University Press, New-York.
- Super PE & van Riper C (1995) A comparison of avian hematozoan epizootiology in two California coastal scrub communities. *Journal of Wildlife Diseases*. **31**:447-461.
- Svensson-Coelho, M. and Ricklefs, R. E. 2011. Host phylogeography and beta diversity in avian haemosporidian (Plasmodiidae) assemblages of the Lesser Antilles. *Journal of Animal Ecology*. **80**:938–946.
- Templeton AR (1981) Mechanisms of speciation – A population genetic approach. *Annual Reviews of Ecology and Systematics*. **12**:23-48.

- Thomas F, Renaud F, Guégan J-F (2005) *Parasitism & Ecosystems*. Oxford University Press Inc, New-York.
- Thomas F, Guégan J-F, Renaud F (2007) *Ecology & Evolution of Parasitism*. Oxford University Press Inc, New-York.
- Tieleman BI, Croese E, Helm B, Versteegh MA (2010) Repeatability and individual correlates of microbicidal capacity of bird blood. *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology*. **156**:537-540.
- Torchin ME, Lafferty KD, Kuris AM (2002) Parasites and marine invasions. *Parasitology*. **124**:S137-S151.
- Turelli M, Barton NH, Coyne JA (2001) Theory and Speciation. *Trends in Ecology and Evolution*. **16**:330-343.
- Valkiunas G (2005) *Avian Malaria Parasites and Other Haemosporidia*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Valkiunas G, Bensch S, Iezhova TA, Krizanauskiene A, Hellgren O, Bolshakov CV (2006) Nested cytochrome b polymerase chain reaction diagnostics underestimate mixed infections of avian blood haemosporidian parasites: Microscopy is still essential. *Journal of Parasitology*. **92**:418-422.
- Van Riper C, Van Riper SG, Goff ML, Laird M (1986) The epizootiology and ecological significance of malaria in Hawaiian land birds. *Ecological Monographs*. **56**:327-344.
- Van Riper III C, Van Riper SG, Hansen WR (2002) Epizootiology and effect of Avian Pox on Hawaiian Forest Birds. *Auk*. **119**:929-942.
- Vidal-Martínez VM, Pech D, Sures B, Purucker ST, Poulin R (2010) Can parasites really reveal environmental impact? *Trends in Parasitology*. **26**:44-51.
- Villard P (1999) *Le Pic de la Guadeloupe*. SEOF.

- Vittor AY, Pan W, Gilman RH, Tielsch J, Glass G, Shields T, Sánchez-Lozano W, Pinedo VV, Salas-Cobos E, Flores S, Patz JA (2009) Linking Deforestation to Malaria in the Amazon: Characterization of the Breeding Habitat of the Principal Malaria Vector, *Anopheles darlingi*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. **81**:5-12.
- Voelker, G., Rohwer, S., Bowie, R.C.K. & Outlaw, D.C. (2007). Molecular systematics of a speciose, cosmopolitan songbird genus: Defining the limits of, and relationships among, the *Turdus* thrushes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **42**: 422-434.
- Wade, M.J. & McCauley, D.E. (1988). Extinction and recolonization: Their effects on the genetic differentiation of local populations. *Evolution* **42**: 995- 1005.
- Waldenström J, Bensch S, Hasselquist D, Ostman O (2004) A new nested polymerase chain reaction method very efficient in detecting *Plasmodium* and *Haemaphysalis* infections from avian blood. *Journal of Parasitology*. **90**:191-194.
- Wan Q.-H., Wu H., Fujihara T. & Fang S.-G. 2004. Which genetic marker for which conservation genetics issue? *Electrophoresis*. **25**: 2165-2176.
- Watson DM (2011) Long-term consequences of habitat fragmentation – highland birds in Oaxaca, Mexico. *Biological Conservation*. **111**:283-303.
- Wegner KM, Reusch TBH, Kalbe M (2003) Multiple parasites are driving major histocompatibility complex polymorphism in the wild. *Journal of Evolutionary Biology*. **16**:224-232.
- Whitehorn PR, Tinsley MC, Brown MJF, Darvill B, Goulson D (2011) Genetic diversity, parasite prevalence and immunity in wild bumblebees. *Proceeding of the Royal Society London B*. **278**: 1195-1202.
- Whittaker RJ (1998) *Island biogeography, ecology, evolution, and conservation*. Oxford University Press, New York.



- 
- Whittaker RJ, Fernandez-Palacios JM (2007) *Island Biogeography : Ecology, Evolution and Conservation (Second Edition)*. Oxford University Press Inc, New-York.
- Wilcove DS, Rothstein D, Dubow J, Philips A, Losos E (1998) Quantifying Threats to Imperiled Species in the United States. *BioScience*. **48**:607-615.
- Wilson K & Hardy PW (2002) Statistical analysis of sex ratios: an introduction In: Hardy IC, editor. *Sex Ratios: Concepts and Research Methods*. 48–92p.
- Woolhouse ME, Haydon D, Antia R (2005) Emerging pathogens: the epidemiology and evolution of species jumps. *Trends in Ecology and Evolution*. **20**:238-244.
- Worton BJ (1989) Kernel Methods for Estimating the Utilization Distribution in Home-Range Studies. *Ecology*. **70**:164-168.
- Wright S (1940) Breeding structure of populations in relation to speciation. *American Naturalist*. **74**:232.
- Yorinks N & Atkinson CT (2000) Effects of malaria on activity budgets of experimentally infected juvenile Apapane (*Himatione sanguinea*). *Auk*. **117**:731-738.
- Zamora-Vilchis, Williams SE, Johnson CN (2012) Environmental Temperature Affects Prevalence of Blood Parasites of Birds on an Elevation Gradient: Implications for Disease in a Warming Climate. *Plos One*. **7**: e39208.  
doi:10.1371/journal.pone.0039208