



HAL
open science

Quantifier la perméabilité des domaines skiabiles pour la Grenouille rousse (*Rana temporaria*): une approche combinant suivi GPS et génétique du paysage

Etienne Boncourt

► To cite this version:

Etienne Boncourt. Quantifier la perméabilité des domaines skiabiles pour la Grenouille rousse (*Rana temporaria*): une approche combinant suivi GPS et génétique du paysage. Biodiversité et Ecologie. Université Grenoble Alpes, 2019. Français. NNT : 2019GREAV011 . tel-02191664

HAL Id: tel-02191664

<https://theses.hal.science/tel-02191664>

Submitted on 23 Jul 2019

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.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE LA COMMUNAUTE UNIVERSITE GRENOBLE ALPES

Spécialité : **Biodiversité écologie environnement**

Arrêté ministériel : 25 mai 2016

Présentée par

Etienne BONCOURT

Thèse dirigée par **Björn REINEKING**, Directeur de recherche à
Irstea Grenoble

préparée au sein du **Laboratoire Ecosystèmes et sociétés en
montagne (LESSEM)** d'Irstea Grenoble
dans l'École Doctorale Chimie et sciences du vivant

Quantifier la perméabilité des domaines skiables pour la Grenouille rousse (*Rana temporaria*) : une approche combinant suivi GPS et génétique du paysage

Thèse soutenue publiquement le **9 avril 2019**
devant le jury composé de :

M. François POMPANON

Professeur des universités, Université Grenoble Alpes, président

M. Gentile Francesco FICETOLA

Professor ordinario, Università degli studi di Milano, rapporteur

M. Francis ISSELIN-NONDEDEU

Maître de conférences, Ecole polytechnique de l'université de Tours, rapporteur

Mme Aurélie COULON

Maîtresse de conférences, Muséum national d'histoire naturelle, examinatrice

M. Björn REINEKING

Directeur de recherche, Irstea Grenoble, directeur de thèse

et

Mme Stéphanie GAUCHERAND

Ingénieure de recherche, Irstea Grenoble, co-encadrante



Quantifier la perméabilité des domaines skiabiles
pour la Grenouille rousse (*Rana temporaria*) :
une approche combinant suivi GPS et génétique du
paysage

Etienne Boncourt



Organisme de rattachement, financements et partenariats

Ces travaux de thèse ont principalement été réalisés au sein du **Laboratoire Ecosystèmes et sociétés en montagne (LESSEM) d'Irstea Grenoble**.

Ils s'inscrivent dans le cadre du projet de recherche « Evaluation de la connectivité fonctionnelle des milieux humides au sein des domaines skiables » piloté par Irstea et financé par l'**Agence de l'eau Rhône-Méditerranée-Corse**.



Une partie de ces travaux a été conduite au sein du **Centre d'écologie fonctionnelle et évolutive (CEFE)** de Montpellier.



Enfin, nous avons bénéficié du soutien et de la coopération d'acteurs locaux de Savoie : le **Parc national de la Vanoise** et les domaines skiables des **Arcs**, des **Menuires** et des **Saisies**.



Comment lire cette thèse

Cette thèse est organisée en trois chapitres correspondant chacun à un article scientifique soumis ou en passe d'être soumis à une revue à comité de lecture. Ces articles sont rédigés en anglais. Ceux et celles qui ne maîtrisent pas la langue de Justin Bieber se consoleront à la lecture des introductions et discussions générales ainsi que des parties introductives et conclusives de chaque chapitre, toutes rédigées en français.

Articles soumis (ou en passe de l'être) à des revues scientifiques à comité de lecture :

Habitat selection and movement behaviour of the common frog (*Rana temporaria*) in an anthropized mountainous landscape: integrated step selection analysis of GPS tracking data

Boncourt, E., Gaucherand, S., Chambonnet, G. & Reineking, B.

Article soumis à la revue *Amphibia-Reptilia*

Population size matters for landscape genetic studies. A case study on montane populations of a pond-breeding amphibian.

Boncourt, E., Gaucherand, S., Montgelard, C., Arnal, V., Cabessut, M. & Reineking, B.

Article rédigé en vue d'une soumission à la revue *Conservation genetics*

Landscape genetics reveals wetland network importance for the landscape connectivity of a mountain amphibian

Boncourt, E., Gaucherand, S., & Reineking, B.

Article soumis à la revue *Molecular Ecology*

Remerciements

J'aimerais pouvoir dire que j'ai réalisé ce travail de thèse seul, à la seule force de mon cerveau et de ma volonté. Ce serait faux. J'ai eu la chance de bénéficier de l'aide d'énormément de personnes qui, de manière directe ou indirecte, ont facilité mon travail, ou plus largement ma vie, pendant ces trois ans.

En premier lieu, j'aimerais remercier mes encadrants, Björn Reineking et Stéphanie Gaucherand, d'abord pour m'avoir fait confiance en me choisissant pour ce travail – ce choix n'avait rien d'évident – puis pour avoir constitué une équipe d'encadrants complémentaire qui m'a beaucoup conseillé en aiguillé pendant trois ans. J'ai beaucoup appris à vos côtés, merci beaucoup.

Je remercie également ceux et celles qui ont accepté de faire partie de mon jury de thèse, en particulier les deux rapporteurs Francesco Ficetola et Francis Isselin-Nondedeu qui auront la charge de lire et de commenter ce manuscrit. Merci également à Aurélie Coulon et François Pompanon.

Ensuite, je remercie les membres de mon comité de thèse pour les conseils apportés, tout particulièrement Claude Miaud, grand spécialiste de grenouilles devant l'Éternel, pour ses conseils et son accessibilité. Merci également à Hugues François et Bernd Gruber pour les conseils apportés et pour leur bienveillance.

Merci à Gabriel Chambonnet et Marie Cabessut pour leur aide durant leurs stages respectifs. J'espère que vous avez appris des choses et que je n'ai pas été un trop mauvais maître de stage.

J'ai eu la chance de travailler avec le personnel du Centre d'écologie fonctionnelle et évolutive et du Service des marqueurs génétiques en écologie de Montpellier. Ils m'ont réservé un très bon accueil. Parmi eux, je souhaite remercier tout particulièrement Véronique Arnal et Claudine Montgelard pour leur bienveillance et leurs conseils.

J'ai été très bien accueilli dans la communauté des chercheurs. Je remercie ceux qui m'ont fait le plaisir de répondre à mes questions de manière totalement désintéressée et de me donner quelques coups de pouce très bienvenus : Luke Groff, Aurélie Khimoun, William Peterman, Jérôme Prunier et Kamran Safi.

Merci beaucoup à nos partenaires sur ce projet de thèse. En premier lieu, l'Agence de l'Eau pour nous avoir financés et fait confiance, et également au Parc National de la Vanoise et aux stations de ski de Arcs, des Menuires et des Saisies pour leur enthousiasme et leur confiance.

J'ai évidemment une pensée pour tous ceux qui ont permis à ce projet de thèse d'être sauvé des flots lorsque nous avons perdu tous nos financements, notamment François Véron, Marie-Pierre Arlot et Jean-Marc Bournigal. J'adresse à cette occasion une grosse bise à Laurent Wauquiez pour sa politique environnementale régionale visionnaire.

Enfin, je remercie très chaleureusement tout le personnel d'Irstea Grenoble. Tout particulièrement, je remercie le personnel d'appui à la recherche, et encore plus particulièrement certains qui m'ont rendu de fiers services durant cette thèse : Catherine Lukie, Damien Buttiglieri et Eric Maldonado. Ne posez vos vacances tous en même temps, Irstea risquerait de s'effondrer.

Mais tous ceux qui m'ont aidé ne sont pas des professionnels. Mon entourage m'a gentiment permis de ne pas devenir fou pendant ces trois ans, ce que j'apprécie assez.

En premier lieu, je voudrais remercier du fond du cœur ma compagne Céline pour son amour, ses encouragements et tous les efforts qu'elle a faits pour nous durant ces trois ans. Si j'ai fait des sacrifices pour cette thèse, je sais que je ne suis pas le seul. Merci beaucoup.

Ma famille m'a également fait beaucoup de bien par ses encouragements. Tout particulièrement, je remercie mon frère Thibaud pour avoir ouvert la voie et m'avoir prodigué moult conseils. Merci beaucoup à ma mère, mon père, Fred, Colin, Maxime et Paul pour leurs encouragements.

J'ai une pensée particulière pour Joël Maury, qui m'a donné le goût pour la biologie il y a bien longtemps déjà, et j'ai très tôt eu l'envie de faire de la recherche grâce à cela. J'ai bien pris mon temps, mais finalement je l'ai fait.

Une grosse pensée également pour mes camarades thésards, à Irstea et en dehors, avec qui on s'est épaulés, souvent à grands renforts de bières, de ski, de rando ou simplement au détour d'un couloir : Anouk Glad, Clément Viguié, Fanfoué Martin, Gaëlle Ronsin, Guillaume Testud, Louis-Marie Audrier, Lulu Bezombes, Marie Ouarné, Sarah Lumbroso et Thibaud Rahier. On a partagé un sacré truc, on est liés à vie maintenant.

J'ai bénéficié d'un soutien logistique très bienvenu durant cette thèse : comme tout bon thésard, je me suis retrouvé en galère de logement, et de bonnes âmes n'ont pas hésité à me tendre la main. Merci donc à ceux et celles qui m'ont hébergé à Grenoble ou Montpellier, particulièrement le bon Méjean et P'tite Mousse et la coloc Team Skoda. La *dolce vita* pour moi.

Et un grand merci à tous mes potes pour m'avoir sorti la tête de mon ordi, par exemple pour des voyages culturels en Allemagne ou en Ecosse, ou autres activités hautement instructives : Obèses, Thons voire même Chevaliers... Il sera dur de tous les citer, mais en voici un échantillon : le bon Luis, Frankoi, Aaaalexandre, Sousou, Anaïs, Nico, Dio, Matav, Sarah, AL, Chapak, Robert, Elisa, Lucie Cochon, Kiki, Man'bach, Pierce, Malou, Clo, Léo Pich' Pich', Ancia, Mifo, Peio, Maëlle, Val, Pauline, Tuteur... une belle bande d'affreux, mais la meilleure bande que j'aie.

Enfin, je remercie chaleureusement tous les têtards et grenouilles qui ont participé à cette étude, souvent à leur corps défendant. J'espère que vos sacrifices ne seront pas vains et que ce travail permettra de sauver bien d'autres de vos congénères.

Comme quoi, la recherche est un vrai sport collectif. Merci à toutes et tous.

Table des matières

Introduction.....	17
1. La connectivité des habitats, un enjeu de conservation	18
1.1. Les mouvements d'organismes en réponse à la structure du paysage : connectivité structurelle et fonctionnelle	18
1.1.1. La dispersion comme base de la dynamique des métapopulations	18
1.1.2. La structure du paysage et la connectivité structurelle et fonctionnelle.....	19
1.2. La fragmentation des habitats : une menace pour la biodiversité ?.....	20
1.2.1. La fragmentation, un concept fluctuant.....	20
1.2.2. Les conséquences génétiques de l'isolement des populations.....	21
1.3. Evaluer la connectivité d'un paysage, un compromis entre le besoin d'information et l'effort d'acquisition de données.....	21
1.4. Prise en compte de la connectivité dans les documents de planification en France : TVB et SRADDET	23
2. La perméabilité des domaines skiables : un enjeu localement fort mais méconnu.....	24
2.1. Les Alpes, siège d'un écosystème précieux mais menacé.....	24
2.2. Les domaines skiables : un enjeu local important	25
2.2.1. Les domaines skiables de France : un développement sous l'impulsion des pouvoirs publics, avec des objectifs économiques.....	25
2.2.2. Les domaines skiables aujourd'hui: un enjeu économique majeur dans les Alpes françaises ²⁵	
2.3. Les domaines skiables : un impact sur la faune généralement négatif mais peu étudié ..	26
3. La Grenouille rousse, un amphibien de montagne sensible à la matrice paysagère	29
3.1. Les amphibiens, des animaux mobiles à travers la matrice paysagère	29
3.2. La grenouille rousse : un amphibien ubiquiste adapté au milieu montagnard	31
4. Problématique et hypothèses	33
4.1. Problématique : quelle connectivité des domaines skiables pour la Grenouille rousse ? ..	33
4.2. Hypothèses.....	33
4.2.1. Les infrastructures liées aux domaines skiables agissent comme des barrières écologiques.....	33
4.2.2. La perte d'habitat entraîne une perte de connectivité.....	34
4.3. Méthodes.....	34
Chapitre 1	35
1. Introduction : le suivi individuel par GPS, un outil pour mesurer la connectivité fonctionnelle.	36
1.1. Les mouvements d'animaux, des processus envisageables à plusieurs échelles	36
1.2. Les analyses de sélection de pas, des modèles pour étudier la connectivité	37

2. Habitat selection and movement behaviour of the common frog (<i>Rana temporaria</i>) in an anthropized mountainous landscape: integrated step selection analysis of GPS tracking data.....	38
2.1. Abstract.....	38
2.2. Introduction.....	38
2.3. Material and methods.....	40
2.3.1. Study area.....	40
2.3.2. Frog capture and equipment.....	40
2.3.3. Tracking.....	41
2.3.4. Landscape covariates.....	42
2.3.5. Step selection analysis.....	42
2.4. Results.....	44
2.4.1. Data collection.....	44
2.4.2. Models fitted.....	44
2.5. Discussion.....	46
2.6. Author contributions.....	48
2.7. Acknowledgements.....	48
3. Conclusion : le suivi individuel de grenouilles par GPS, une technique permettant d'étudier les préférences d'habitats mais pas encore la connectivité du paysage.....	48
Chapitre 2.....	49
1. Introduction : utiliser les données génétiques pour quantifier les flux de gènes dans les domaines skiables.....	50
1.1. La génétique du paysage ou l'étude des flux de gènes à travers un paysage.....	50
1.2. Choix d'un type de marqueurs et d'une distance génétique.....	50
1.3. Les sites d'étude : des paysages de montagne aux degrés d'anthropisation variables.....	51
2. Population size matters for landscape genetic studies. A case study on montane populations of a pond-breeding amphibian.....	58
2.1. Abstract.....	58
2.2. Introduction.....	58
2.3. Material and methods.....	60
2.3.1. Study areas.....	60
2.3.2. Sampling.....	62
2.3.3. Wetland cover.....	62
2.3.4. Lab work.....	62
2.3.5. Population genetics analysis.....	63
2.3.6. Bayesian clustering.....	63
2.3.7. Landscape resistance models and spatial heterogeneity in population sizes.....	63
2.4. Results.....	66
2.4.1. Sampling.....	66

2.4.2.	Wetland cover.....	66
2.4.3.	Population genetics.....	67
2.4.4.	Bayesian clustering	69
2.4.5.	Landscape effect and heterogeneity in effective population sizes.....	73
2.5.	Discussion.....	73
2.6.	Author contributions	75
2.7.	Acknowledgements.....	75
3.	Conclusion : l'hétérogénéité spatiale des tailles de populations peut avoir un effet important sur les distances génétiques mesurées	75
Chapitre 3		77
1.	Introduction : les surfaces de résistance comme moyen de représenter et tester la connectivité fonctionnelle du paysage	78
1.1.	La surface de résistance pour représenter la perméabilité du paysage	78
1.2.	Paramétrer une surface de résistance en génétique du paysage.....	78
2.	Landscape genetics reveals wetland network importance for the landscape connectivity of a mountain amphibian	80
2.1.	Abstract.....	80
2.2.	Introduction.....	80
2.3.	Material and methods.....	82
2.3.1.	Study area	82
2.3.2.	Sampling	82
2.3.3.	Lab work	83
2.3.4.	Population genetics.....	85
2.3.5.	Bayesian clustering	85
2.3.6.	Genetic distance and SHNe.....	85
2.3.7.	Landscape variables.....	86
2.3.8.	Optimization framework	86
2.4.	Results	90
2.4.1.	Population genetics.....	90
2.4.2.	Genetic clustering.....	90
2.4.3.	Optimization of resistance surfaces and variable selection	92
2.5.	Discussion.....	95
2.6.	Author contributions	98
2.7.	Acknowledgements.....	98
3.	Conclusion : le réseau de zones humides, une clé pour la perméabilité de la Grenouille rousse 98	
Discussion		101
1.	Principaux résultats.....	102

1.1.	Importance du réseau de zones humides pour la perméabilité des domaines skiabiles aux grenouilles rousses.....	102
1.1.1.	La zone humide : un habitat clé	102
1.1.2.	La connectivité des domaines skiabiles pour la Grenouille rousse dépend fortement de la densité du réseau de zones humides.....	102
1.1.3.	Les aménagements n'agissent pas directement comme des barrières	105
1.1.4.	L'hétérogénéité spatiale des tailles efficaces de populations : un facteur potentiellement important peu pris en compte dans les études de génétique des populations 109	
1.2.	Apports méthodologiques	111
1.2.1.	Les balises GPS pour le suivi des amphibiens : une technique prometteuse mais encore limitée par l'état de la technologie.....	111
1.2.2.	L'optimisation par recuit simulé pour produire des surfaces de résistance.....	112
2.	Perspectives.....	113
2.1.	Toutes les zones humides ne se valent pas.....	113
2.2.	Les domaines skiabiles : des paysages avec une grande variation intra annuelle.....	115
2.3.	L'optimisation de surfaces de résistance et la multicolinéarité en génétique du paysage 117	
3.	Pour aller plus loin : du comportement individuel à la structure génétique de la métapopulation 118	
	Bibliographie.....	121
	Annexes	139

Table des illustrations

Figure 1 : Différence entre la fragmentation <i>stricto sensu</i> et la perte d'habitat. Les rectangles noirs représentent les limites du paysage, l'habitat est représenté en gris et la matrice paysagère en blanc (Fahrig, 2017a).....	20
Figure 2 : Compromis entre la qualité de l'information obtenue par l'analyse et la quantité de données nécessaire pour estimer la connectivité (d'après Calabrese and Fagan, 2004). IFM : <i>Incidence function model</i>	22
Figure 3 : Nombre d'études sur les impacts des sports d'hiver sur la faune. Les résultats sont présentés par continent. ** Différence significative entre les effets positifs et négatifs ($P < 0,01$) (Sato et al., 2013).....	26
Figure 4 : Nombre d'études sur les impacts des sports d'hiver sur la faune. Les résultats sont présentés par type d'infrastructure. La significativité de la différence entre les effets positifs et négatifs est indiquée : ** $P < 0,01$; * $P < 0,05$ (Sato et al., 2013).....	27
Figure 5 : Nombre d'études sur les impacts des sports d'hiver sur la faune. Les résultats sont présentés par taxon étudié (Sato et al., 2013).....	27
Figure 6 : Surface de zones humides perdue entre 1970 et 2009 dans la station de Val Thorens, déterminée par l'analyse de photos aériennes (Gaucherand et al., 2009). Au total, la station a perdu environ 50 % de sa surface de zones humides sur cette période.....	28
Figure 7 : Déplacements annuels du Crapaud commun (<i>Bufo bufo</i>). Le cycle de cet amphibien inclut plusieurs migrations saisonnières liées à la reproduction et à l'hibernation (ACEMAV, 2003).....	30
Figure 8 : Grenouille rousse photographiée au sein du domaine skiable des Saisies (Savoie).....	31
Figure 9 : Répartition géographique de la Grenouille rousse <i>Rana temporaria</i> (Gasc et al., 2009).	32
Figure 10 : Mouvements d'organismes à différentes échelles spatiotemporelles (Nathan et al., 2008). On définit la phase de mouvement (<i>movement phase</i>) comme la succession de déplacements et d'étapes réalisés en vue de la réalisation d'un objectif (se nourrir, se reproduire, trouver un abri...) Un pas (<i>step</i>) est le déplacement entre deux localisations successives de l'individu à un intervalle de temps donné.	36
Figure 11 : Une trajectoire de déplacement peut être simplifiée en longueurs de pas linéaires et en angles se produisant entre des trajectoires successives. Dans cet exemple, trois pas aléatoires ont été associés à chaque pas réel parcouru par la grenouille (d'après Thurfjell et al., 2014).	37
Figure 12 : (A) Capture (red squares) and release (red triangles) points of the frogs and the recorded fixes (dots). (B) Steps obtained subsampling all the fixes every 4 hours (red lines) with the land cover of the study site. (C) Same map with overlaid ski runs. The large cross represents the GPS coordinates 45.569 N 6.833 E.	40
Figure 13 : A frog equipped with a GPS and a VHF tag	41
Figure 14 : Results of the 4 best performing models m6, m8, m9 and m10. The barplot represents the coefficients of the conditional logistic regression, the error bars represent the standard errors and the numbers above the corresponding p values.....	45
Figure 15 : Aperçu des quatre sites d'étude retenus. De gauche à droite et de haut en bas : les stations Arcs 1950 et Arcs 2000 du domaine skiable des Arcs, Les Menuires, Les Saisies et la vallée du Ponthurin (refuge d'Entre le Lac, lac de La Plagne et le Mont Pourri en arrière-plan). Photo des Arcs : Remontees, CC-BY-SA 3.0, Wikimedia Commons, 2012. Photo des Menuires : Markfox2, Wikimedia Commons, 2006.....	53

Figure 16 : Carte du domaine skiable des Arcs. Sources : BD_Topo, inventaire départemental des zones humides, Domaine skiable des Arcs, BD_Stations.	54
Figure 17 : Carte du domaine skiable des Menuires. Sources : BD_Topo, inventaire départemental des zones humides, Domaine skiable des Menuires, BD_Stations.	55
Figure 18 : Carte du domaine skiable des Saisies. Sources : BD_Topo, inventaire départemental des zones humides, Domaine skiable des Saisies, BD_Stations.	56
Figure 19 : Carte de la vallée du Ponthurin. Sources : BD_Topo, inventaire départemental des zones humides, Parc national de la Vanoise.	57
Figure 20 : Sampling design of the four study areas. The nearby cities Albertville (A), Bourg-Saint-Maurice (B) and Moûtiers (M) are indicated with white squares.	61
Figure 21 : Maps representing path models for frog connectivity between sampled sites in Les Saisies. Top: stepping-stone model with wetlands included in an undifferentiated landscape matrix. Middle and bottom: least-cost paths calculated using slope and elevation as resistance surfaces, respectively. Black dots represent sampled sites.	65
Figure 22 : Effective population sizes in the 4 study sites. The number of sampled points per site is indicated in brackets.	66
Figure 23 : Frequency of null alleles determined following Brookfield, 1996. Boxplots represent the 2.5 th and 97.5 th percentiles and the median. Dots represent the observed null allele frequency.	67
Figure 24 : ΔK plots for the four study sites calculated we the Evanno method (Evanno et al., 2005). The ΔK corresponds to the second order rate of change of the log probability of data with respect to the number of clusters. It is calculated for all the possible values of K, starting from one to the number of sampled sites. Note the difference in scales, in particular for deltaK.	70
Figure 25 : Uppermost level of genetic structure determined using the STRUCTURE program and the Evanno method. Each pie chart represents the proportion of the two or three clusters for the sampling point considered.	71
Figure 26 : Différence entre le calcul d'un chemin de moindre coût (gauche) et d'un chemin de résistance (droite) entre deux points A et B (Spear et al., 2016). La résistance de chaque pixel est d'autant plus grande qu'il est foncé. A droite, plusieurs chemins possibles sont calculés et la taille des flèches est d'autant plus importante que leur contribution à la connectivité est forte.	79
Figure 27 : Sampling design in the two study sites. 34 sampled points are exclusively located in the ski resort or its surroundings, 11 are located in the control area and the sampling site #107 is located both in the ski resort surroundings and the control area.	84
Figure 28 : The 9 landscape variables considered. For binary variables, putative barriers appear in white. Dots represent sampling points.	88
Figure 29 : Two types of transformations tested for continuous surfaces: quadratic equation (top) and piecewise linear model with one slope discontinuity (bottom)	89
Figure 30 : Uppermost level of genetic structure determined using the STRUCTURE program and the Evanno method. Each pie chart represents the proportion of the two clusters for the sampling point considered. The number in each chart represents the observed number of clutches during the breeding season.	91
Figure 31 : Stepwise forward variable selection. Starting from the best univariate model (on the left), each variable is added to the model in order to improve its AIC. The selection is stopped when the model is not improving or when the MLPE coefficients become negative, which suggests that the	

model is overfitted. The arrows represent the best model for each study site. A – Control site. B – Ski resort.....	93
Figure 32 : Transformations applied to the 3 landscape variables kept in the final models: (A) distance from wetlands for the ski resort, (B) elevation and (C) slope for the control area; For each variable, the original variable is on the left, the transformation performed in the middle (with an histogram of the variable values in the considered study area) and the optimized resistance surface is on the right. White circles represent sampling points.	94
Figure 33 : Density plots of the distance from wetlands variable in the ski resort and the control area. The blue plot represents the control area while the orange plot represents the ski resort.....	98
Figure 34 : Courbes de distribution des distances aux zones humides dans les quatre sites d'étude. Les Arcs présentent les plus grandes zones sans zones humides tandis que les Saisies ont le réseau de zones humides le plus dense.	99
Figure 35 : Distribution des distances de migration de grenouilles rousses (d'après Kovar et al., 2009). La ligne pointillée verticale est placée à une distance d'environ 431 m.....	103
Figure 36 : Relations de cause à effet entre les travaux et les impacts observés sur la zone humide du domaine skiable de Val Thorens (Gaucherand and Isselin-Nondedeu, 2011).....	104
Figure 37 : Grenouilles rousses occupant des plans d'eau dans des zones humides des Menuires (Savoie) à différents moments de leur vie. En haut à gauche : amplexus (accouplement) en milieu aquatique. En haut à droite : thermorégulation au bord de l'eau. En bas : grenouille morte dans un plan d'eau à la sortie de l'hibernation.....	105
Figure 38 : Pistes de ski alpin des Arcs en 2016. Source : BD_Stations, domaine skiable des Arcs, BD Topo.....	108
Figure 39 : Carte du domaine skiable des Arcs en 1989 (Equipe Carene - O. Pasquet, G. Feyt, 1989).	109
Figure 40 : Exemple de zone de reproduction de petite taille : un ornière située sur une piste de montagne dans la station des Arcs (Savoie).	110
Figure 41 : Zone humide impactée par les aménagements liés à la station de ski, ici une gare de remontée mécanique du domaine skiable des Arcs (Savoie). La zone humide est partiellement drainée et remblayée. En 2016, des grenouilles rousses venaient tout de même y pondre.....	115
Figure 42 : Deux prédateurs se nourrissant d'œufs ou de têtards de grenouilles. Gauche : triton alpestre, prédateur naturel observé dans le domaine skiable des Menuires (Savoie). Droite : poissons introduits dans un lac du domaine skiable des Arcs (Savoie) pour la pêche de loisir. Photo de droite : Sébastien De Danieli.	115
Figure 43 : Cartes d'enneigement du domaine skiable des Arcs (Savoie) obtenues à partir du produit Neige de Theia (http://www.theia-land.fr/fr/produits/neige). Ces cartes sont obtenues par traitement des images Sentinel 2 à 20m de résolution. La neige apparaît en blanc, les limites du domaine skiable gravitaire en rouge et les points de prélèvements en vert. Les cartes représentent l'enneigement en janvier, mai, juin et décembre 2017 (de gauche à droite et de haut en bas).....	116
Figure 44 : Une piste de ski de la station des Arcs 1800 (Savoie) prise le 27 mai 2016, soit durant la période de migration et de reproduction de la Grenouille rousse. A cette saison, de la neige est encore présente de manière hétérogène dans le paysage.....	117

Table des tableaux

Tableau 1 : Models tested. df = degree of freedom, ΔAIC = difference between the AIC of the best model and the model considered. All the models also use the sl (step length) and log(sl) as covariates.	43
Tableau 2 : Sites d'étude pour l'étude de génétique du paysage. La surface de zones humides est calculée à partir de l'inventaire départemental de zones humides et des données de terrain fournies par les domaines skiables. Le ratio est calculé à partir de la surface du plus petit rectangle incluant tous les points d'échantillonnage de la zone.	52
Tableau 3 : Proportion of all the combinations locus / sampled site that depart from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE). The number of loci and sampled sites involved for all the combinations that depart from HWE is also given.	67
Tableau 4 : Estimate of expected and observed heterozygosity for the 10 loci considered. A Bartlett test of homogeneity of variance was performed. The p value is also given. A significant result indicates that the population departs from Hardy-Weinberg equilibrium.	68
Tableau 5 : The Maximum-likelihood population-effects (MLPE) models results for the four study sites. The Akaike information criterion (AIC) is an indicator of the quality of the model. For each site, the best performing model appears on top. The marginal R2 (R2m) describes the proportion of variance explained by the fixed factor (Euclidean distances eucl and the metrics di and dhm) and the conditional R2 (R2c) describes the proportion of variance explained by both the fixed and the random factors (the population effect).....	72
Tableau 6 : Estimates of expected and observed heterozygosity for the 10 loci considered	90
Tableau 7 : Best optimized univariate models for the control site	92
Tableau 8 : Best optimized univariate models for the ski resort.....	95
Tableau 9 : Indicateurs de fragmentation des zones humides dans les quatre sites d'étude calculés sur la base, pour chaque site, du plus petit rectangle incluant tous les points d'échantillonnage. Les indicateurs sont calculés au moyen du logiciel Fragstat (McGarigal et al., 2012). PLAND = Proportion en surface de zones humides dans le paysage. PD = Nombre de patchs par unité de surface. LPI = Proportion prise par le plus grand patch dans le paysage. ENN_MN : distance moyenne entre un patch et son plus proche voisin. PLADJ : Proportion de pixels de zones humides contigus avec d'autres pixels de zones humides. PLAND, PD, ENN_MN et PLADJ sont exprimés en ratios avec le site avec la plus basse valeur.	99

Sigles utilisés

ACEMAV : Association pour la connaissance et l'étude du monde animal et végétal

ADN : Acide désoxyribonucléique

AIC : Akaike information criterion – Critère d'information d'Akaike

ARH : *Amount of reachable habitat* – Quantité d'habitat accessible

BD Stations : Base de données sur les stations de ski gérée par Irstea

BD TOPO : Base de données vectorielle des éléments du territoire français et ses infrastructures

CC-BY-SA : Licence Creative Commons – Attribution – Partage dans les mêmes conditions

CDB : Convention sur la diversité biologique

CEFE : Centre d'écologie fonctionnelle et évolutive

CEN : Conservatoire des espaces naturels

CNRS : Centre national de la recherche scientifique

dhm : *distance based on the harmonic mean* – Distance basée sur la moyenne harmonique

di : *distance based on the inverse* – Distance basée sur l'inverse

DNA : Voir ADN

EPHE-PSL : Ecole pratique des hautes études – Paris sciences et lettres

GIS : Voir SIG

GPS : *Global Positioning System* – Système de positionnement global

HWE : *Hardy-Weinberg equilibrium* – Equilibre d'Hardy-Weinberg

IBB : *Isolation by barrier* – Isolation par barrière

IBD : *Isolation by distance* – Isolation par la distance

IBR : *Isolation by resistance* – Isolation par la résistance du paysage

IFM : *Incidence function model* – Modèle de fonction d'incidence

IGN : Institut géographique national

Irstea : Institut national de recherche en sciences et technologies pour l'environnement et l'agriculture

IUCN : Voir UICN

LCP : *Least-cost path* – Chemin de moindre coût

LESSEM : Laboratoire Ecosystèmes et sociétés en montagne

MLPE : *Maximum likelihood with population effect* – Maximum de vraisemblance avec un effet de population

PCR : *Polymerase chain reaction* - Amplification en chaîne par polymérase

PEBLDS : Stratégie paneuropéenne pour la protection de la diversité biologique et paysagère

PIB : Produit intérieur brut

REP : Réseau écologique européen

RNR : Réserve naturelle régionale

SHNe : *Spatial heterogeneity in effective population sizes* – Hétérogénéité spatiale des tailles efficaces de populations

SIG : Système d'information géographique

SL : *Step length* – longueur de pas

SRADDET : Schéma régional d'aménagement, de développement durable et d'égalité des territoires

SRCE : Schéma régional de cohérence écologique

SSA/SSF : *Step selection analysis/function* – Analyse/fonction de sélection de pas

SNB : Stratégie nationale pour la biodiversité

TA : *Turning angle* – angle de rotation

TVB : Trame verte et bleue

UICN : Union internationale pour la conservation de la nature

UMR : Unité mixte de recherche

VHF : *Very high frequencies* – Très hautes fréquences

WWF : *World Wildlife Fund* – Fonds mondial pour la nature

Introduction



Koson Ohara, vers 1930

L'écologie est un sport de combat.

Inspiré de Pierre Bourdieu

1. La connectivité des habitats, un enjeu de conservation

1.1. Les mouvements d'organismes en réponse à la structure du paysage : connectivité structurelle et fonctionnelle

1.1.1. La dispersion comme base de la dynamique des métapopulations

Les animaux se déplacent pour acquérir des ressources, satisfaire des interactions sociales, se reproduire ou se protéger (fuir les prédateurs, trouver des abris...) (Nathan et al., 2008). Cette capacité à se mouvoir, en particulier lors des événements de **dispersion**, est une des clés de la dynamique des populations (Lima and Zollner, 1996; Morales et al., 2010). On définit la dispersion comme tout déplacement d'individu (ou de propagule) ayant potentiellement une conséquence sur les flux de gènes dans l'espace (Ronce, 2007).

Les mouvements au sein d'une population permettent ainsi aux individus de se rencontrer et se reproduire, et donc entraînent un brassage et le maintien d'une diversité génétique, ce qui constitue un enjeu important en génétique de la conservation (Frankham, 2005; Frankham et al., 2017). Les échanges d'individus et flux de gènes entre populations et à travers un paysage permettent l'émergence d'une structure métapopulationnelle, selon le concept théorisé par Levins (1969) et largement adopté depuis (Baguette et al., 2013; Hanski and Gilpin, 1991; Marsh and Trenham, 2001). Ainsi, une **métapopulation** est un ensemble de populations d'une même espèce liées par des échanges d'individus (dispersion). Dans le modèle initial, les populations occupent des patches d'habitats au sein d'une matrice paysagère homogène et peuvent subir des phénomènes d'extinction ou, à l'inverse, de colonisation. La métapopulation est donc dans une situation d'équilibre entre les extinctions locales et les recolonisations de patches d'habitats entraînant l'émergence de nouvelles populations. Ce cadre conceptuel est adapté à l'étude de populations naturellement parcellaires, par exemple les populations d'amphibiens qui peuvent être représentées comme circonscrites à leur plan d'eau (Marsh and Trenham, 2001).

Toutefois, la représentation binaire du paysage comme une mosaïque habitat/matrice est trop simple et ne rend pas forcément compte de toutes ses caractéristiques.

1.1.2. La structure du paysage et la connectivité structurelle et fonctionnelle

Un **paysage** est une mosaïque hétérogène d'éléments différents (voir encadré ci-contre). Ces éléments peuvent chacun favoriser ou empêcher le déplacement d'animaux selon s'ils sont faciles ou difficiles à franchir. Chaque élément de paysage a donc sa propre perméabilité (ou à l'inverse sa résistance) au déplacement, ce qui entraîne une dispersion anisotropique des animaux (Baguette et al., 2013). Cette notion inclut à la fois la capacité de l'élément à favoriser sa traversée par les animaux et la mortalité associée à cette traversée (par exemple, il est aisé pour un écureuil de traverser une route, mais le risque de mort par collision avec des véhicules est très élevé) (Taylor et al., 2006). Les déplacements d'animaux sont généralement

perturbés par les activités humaines et les modifications anthropogéniques du paysage (Fahrig, 2007; Tucker et al., 2018). Typiquement, les routes sont connues pour agir comme des barrières écologiques pour la faune terrestre (Holderegger and Di Giulio, 2010). La notion de perméabilité est de fait propre à chaque espèce (puisque dépendant de son mode de locomotion, sa capacité de dispersion, etc.). Ainsi, ce qui constitue une barrière pour les reptiles pourra n'avoir aucune incidence sur le déplacement d'oiseaux en raison de leur mode de déplacement différent.

« *Landscape connectivity is the degree to which the landscape facilitates or impedes movement among resource patches.* » (Taylor et al. 1993)

La connectivité du paysage peut s'envisager comme fonction de l'organisation spatiale des différents habitats qui le composent. Toutefois, l'étude de la seule structure du paysage n'est pas suffisante pour comprendre les déplacements d'organismes en son sein, soit la **connectivité fonctionnelle** (Baguette and Van Dyck, 2007). Cette connectivité fonctionnelle du paysage est donc la propriété émergente résultant de la structure physique du paysage et de la réponse comportementale des organismes considérés (Taylor et al., 1993, 2006). On parle généralement de la dualité **connectivité structurelle (ou structurelle) et connectivité fonctionnelle (ou perméabilité)** du paysage.

« *A landscape is a system of interacting ecological patterns and processes at any scale and can be considered to be an area that is spatially heterogeneous in at least one factor of interest at a scale relevant to the pattern-process relationships related to that factor of interest.* » (Balkenhol et al., 2016)

1.2. La fragmentation des habitats : une menace pour la biodiversité ?

1.2.1. La fragmentation, un concept fluctuant

Il existe plusieurs définitions de la fragmentation. La fragmentation *stricto sensu* désigne la perte de continuité dans les habitats mais selon la définition la plus large, elle combine la perte d'habitat et des connexions entre les patches (Fahrig, 2003). La Figure 1 illustre cette différence entre fragmentation et perte d'habitat.

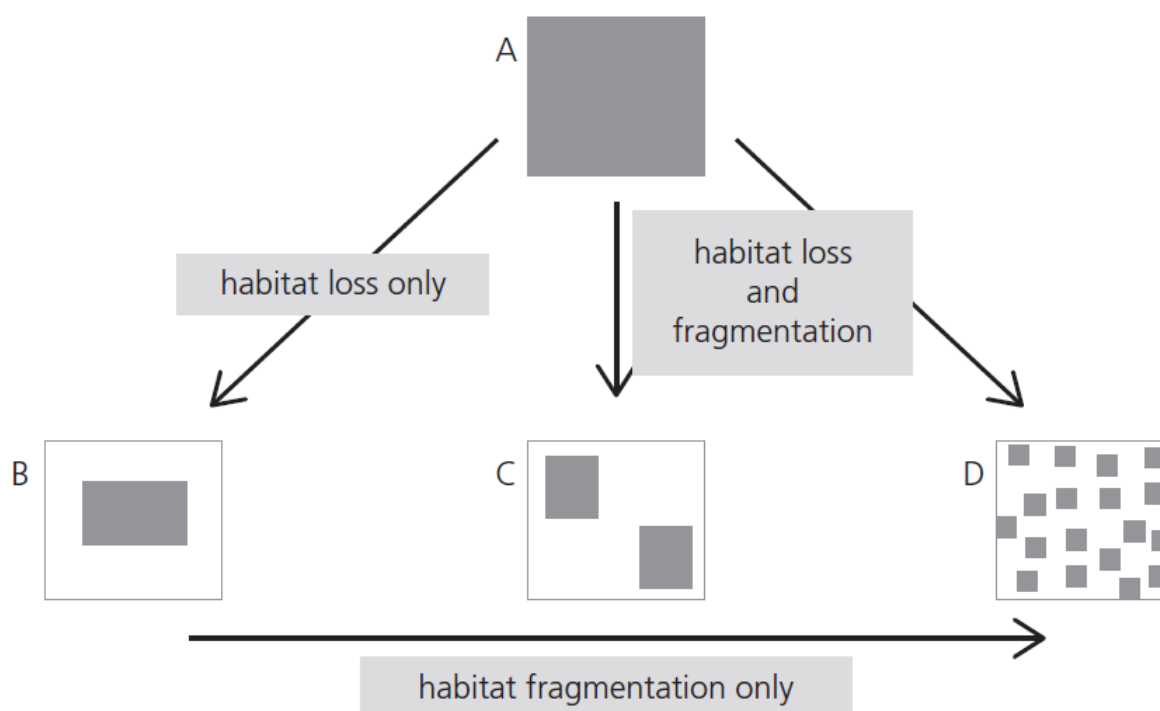


Figure 1 : Différence entre la fragmentation *stricto sensu* et la perte d'habitat. Les rectangles noirs représentent les limites du paysage, l'habitat est représenté en gris et la matrice paysagère en blanc (Fahrig, 2017a).

La fragmentation est classiquement considérée comme ayant un impact négatif sur la biodiversité (Fahrig, 2003; Fischer and Lindenmayer, 2007; Haddad et al., 2015). Néanmoins, une récente méta-analyse semble montrer que la fragmentation *stricto sensu* a un effet généralement positif pour la biodiversité (en nombre d'espèces, abondances...) alors que les effets négatifs généralement constatés dans les habitats fragmentés sont en réalité dus à la perte d'habitat (Fahrig, 2017b, 2017a). Cet effet positif de la fragmentation n'est pas encore bien expliqué, mais l'explication la plus communément avancée serait qu'un paysage fragmenté augmente en réalité la connectivité fonctionnelle (Fahrig, 2017b). Avoir plus de patches d'habitats à des distances courtes serait bénéfique à la dispersion, selon un modèle en pas japonais (*stepping-stone*) (Saura et al., 2014).

Toutefois, la fragmentation ne sera positive pour la biodiversité que si les patches d'habitats sont suffisamment rapprochés pour permettre la dispersion des individus (Bonte et al., 2012).

1.2.2. Les conséquences génétiques de l'isolement des populations

Une fragmentation trop forte des habitats augmente la distance entre les patches et donc l'effort que doivent fournir les individus pour aller d'un patch à un autre (Baguette et al., 2013; Bonte et al., 2012). Si ces distances deviennent trop élevées, il n'y a plus d'immigration et la population devient isolée (Frankham et al., 2017).

Les populations isolées font face à deux principaux risques génétiques (Frankham et al., 2017) :

- un risque de consanguinité pouvant entraîner une baisse de la valeur sélective de la population (dépression de consanguinité ou *inbreeding depression*, voir encadré) ;
- une perte de diversité génétique, et donc une baisse de la capacité d'adaptation aux changements environnementaux.

« Inbreeding depression is the reduction in mean for a quantitative trait due to inbreeding, especially manifest in reproductive fitness traits. » (Frankham et al., 2017)

Ces deux risques peuvent entraîner des extinctions de populations, particulièrement s'ils arrivent de concert avec d'autres menaces d'origine anthropique (Frankham, 2005).

1.3. Evaluer la connectivité d'un paysage, un compromis entre le besoin d'information et l'effort d'acquisition de données

Il n'est pas aisé d'évaluer la connectivité d'un paysage pour une espèce donnée. D'après Calabrese and Fagan (2004), il existe plusieurs types de méthodes, que l'on peut rattacher à trois grandes catégories (Figure 2) :

- les outils et indicateurs pour estimer la **connectivité structurale** (distances entre patches, divers indices spatiaux tels que ceux calculés au moyen du logiciel Fragstat – McGarigal et al., 2012),
- les outils pour calculer la **connectivité potentielle**, qui combine les caractéristiques structurales du paysage avec des informations limitées sur la dispersion des organismes (typiquement, les outils issus de la théorie des graphes, ou de la théorie des métapopulations comme l'*Incidence function model* IFM – Hanski, 1994; Hanski et al., 1996),
- les méthodes d'évaluation de la **connectivité réelle** avec une approche plus fonctionnelle, soit les mouvements effectifs d'organismes à travers le paysage.

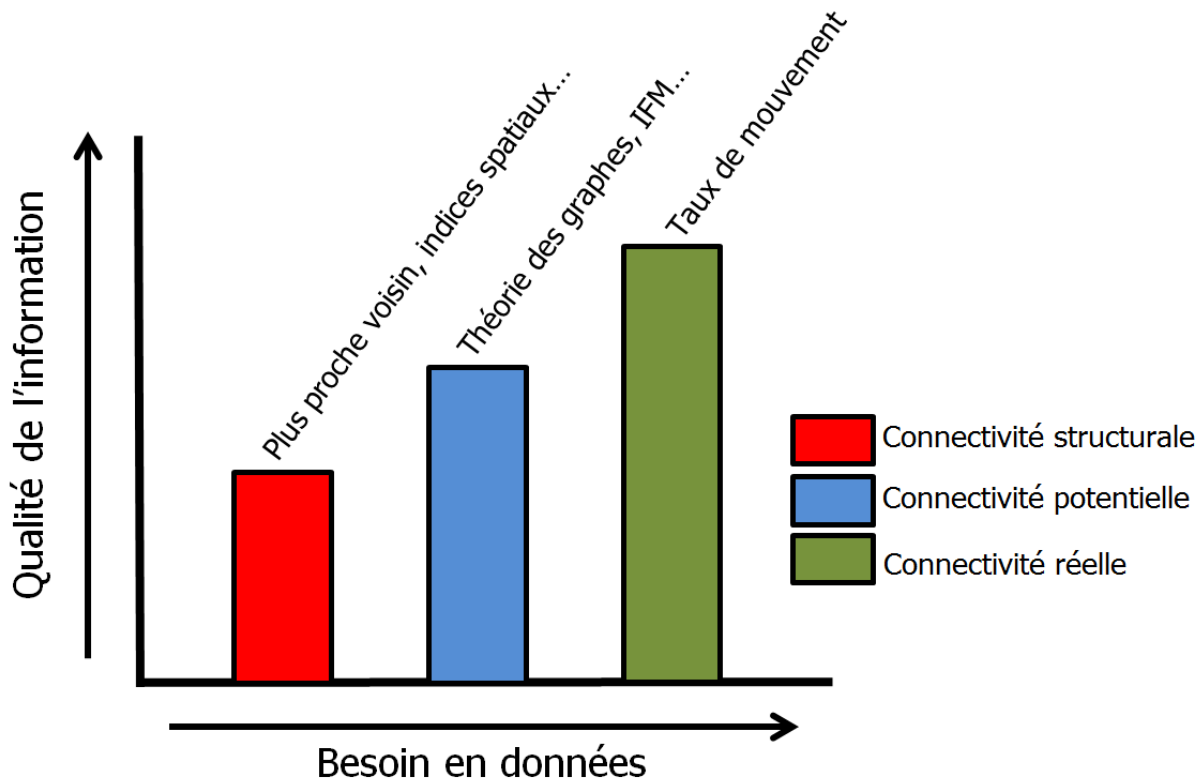


Figure 2 : Compromis entre la qualité de l'information obtenue par l'analyse et la quantité de données nécessaire pour estimer la connectivité (d'après Calabrese and Fagan, 2004). IFM : *Incidence function model*

Plus l'approche choisie est fonctionnelle, plus elle nécessitera des données précises sur les déplacements d'organismes. Or, les méthodes d'évaluation de la connectivité réelle sont coûteuses en temps et en matériel :

- le **suivi direct des mouvements de faune** par radiotélémetrie, suivi GPS (Kays et al., 2015) ou GPS inversé (Weiser et al., 2016), soit une mesure directe des déplacements à une **échelle individuelle**, nécessite un travail de terrain important et un investissement matériel (Cagnacci et al., 2010; Latham et al., 2015) ;
- la **mesure des flux de gènes par la génétique du paysage** (Manel and Holderegger, 2013; Manel et al., 2003; Segelbacher et al., 2010) permet d'étudier des mouvements de faune efficaces d'un point de vue dispersif, et ce sur des échelles spatiales et temporelles plus grandes. Elle s'appuie sur l'hypothèse que sur un temps long, les différences de perméabilité au sein d'un paysage influencent la structure génétique des populations. Elle nécessite néanmoins du travail de terrain et de laboratoire.

A l'heure actuelle, les études d'évaluation de la connectivité reposent encore souvent sur l'avis d'expert (Zeller et al., 2012). Toutefois, ces méthodes sont peu fiables et donnent souvent de mauvais résultats par rapport aux méthodes reposant sur l'acquisition de données empiriques (Charney, 2012; Milanesi et al., 2017).

1.4. Prise en compte de la connectivité dans les documents de planification en France : TVB et SRADET

La connectivité des habitats commence à être officiellement prise en compte en France à compter de la Stratégie paneuropéenne pour la protection de la diversité biologique et paysagère (PEBLDS) validée par 55 pays en 1995. Il s'agit alors d'un des seuls textes internationaux mentionnant les réseaux écologiques. Elle donne naissance au Réseau écologique européen (REP) qui se veut un premier réseau écologique à l'échelle paneuropéenne.

A l'échelle française, la première Stratégie nationale pour la biodiversité (SNB) de 2004 est une des premières déclinaisons nationales de la PEBLDS et de la Convention sur la diversité biologique (CDB, 1992). Elle fait appel à de nombreux indicateurs de suivi répartis dans sept thématiques elles-mêmes subdivisées en items ; parmi elles, la « Qualité et fonctionnement des écosystèmes » renferme l'item « Connectivité et fragmentation des écosystèmes ». Cette stratégie est renforcée par les lois résultant du Grenelle de l'environnement : la loi Grenelle I du 3 août 2009 pose les bases de la création d'une trame verte et bleue (TVB, voir encadré), qui est précisée avec la loi Grenelle II du 12 juillet 2010. La trame verte et bleue vise à relier entre eux des réservoirs de biodiversité via

« La trame verte et la trame bleue ont pour objectif d'enrayer la perte de biodiversité en participant à la préservation, à la gestion et à la remise en bon état des milieux nécessaires aux continuités écologiques, tout en prenant en compte les activités humaines, et notamment agricoles, en milieu rural ainsi que la gestion de la lumière artificielle la nuit. » (Article L371-1 du Code de l'environnement)

des corridors biologiques. La loi Grenelle II définit également un nouveau document de planification environnementale à l'échelle régionale : le Schéma régional de cohérence écologique (SRCE), qui contient une description des grands enjeux locaux de connectivité écologique ainsi qu'une cartographie régionale de la TVB (Centre de ressources Trame verte et bleue, 2019). La loi dispose que le SRCE doit être pris en compte par les documents de planification locale (schémas de cohérence territoriale, plans locaux d'urbanismes...).

L'ordonnance n°2016-1028 du 27 juillet 2016 annonce la création du Schéma régional d'aménagement, de développement durable et d'égalité des territoires (SRADET), qui inclut le SRCE.

2. La perméabilité des domaines skiables : un enjeu localement fort mais méconnu

2.1. Les Alpes, siège d'un écosystème précieux mais menacé

Les écosystèmes alpins sont importants pour la biodiversité. Ainsi, les Alpes contiennent 4500 espèces de plantes vasculaires (dont 417 endémiques), ce qui en fait la région avec **la seconde plus grande richesse floristique d'Europe** après la région méditerranéenne (WWF, 2005). Côté faune, le nombre d'espèces est estimé à environ 30000, dont 200 oiseaux nicheurs, 80 mammifères et 21 amphibiens, dont l'endémique Salamandre de Lanza (*Salamandra lanzai*). La diversité d'insectes, notamment de Carabidae est particulièrement élevée (WWF, 2005).

Ces écosystèmes sont **sensibles aux perturbations d'origine humaine**. Ainsi, dans son *Ecoregion conservation plan for the Alps* (2005), le Fonds mondial pour la nature (WWF) identifie plusieurs menaces :

- l'urbanisation qui ne cesse de s'étendre dans des zones de plus en plus élevées ;
- le changement climatique qui entraîne une migration des plantes alpines vers des altitudes de plus en plus élevées (de 0,5 à 4 m par décennie), ce qui diminue la surface d'implantation disponible, pour être remplacées par des espèces de basses altitudes ;
- la **destruction de milieux aquatiques** due aux aménagements hydroélectriques, la lutte contre les inondations et les prélèvements d'eau potable ;
- l'intensification de l'agriculture qui entraîne une perte de biodiversité ;
- l'exploitation forestière faite **au détriment des continuités écologiques naturelles** (il n'existe plus qu'environ 665 ha de forêts vierges dans les Alpes) ;
- l'intensification du trafic, la construction de nouvelles routes et la pollution de l'air afférente ;
- les activités touristiques, particulièrement **le ski alpin** qui entraîne la construction de milliers d'**infrastructures de transport**, une **urbanisation** importante au niveau des stations, l'**aménagement de pistes** qui cause des dégâts irréversibles aux paysages et l'**enneigement artificiel** qui pose des problèmes de pollution de l'eau.

2.2. Les domaines skiables : un enjeu local important

2.2.1. Les domaines skiables de France : un développement sous l'impulsion des pouvoirs publics, avec des objectifs économiques

Les premières stations de sports d'hiver se sont véritablement développées en France à partir des années 1930. La première génération de stations a émergé en moyenne montagne, généralement à partir de villages préexistant, comme Serre-Chevalier dans les Hautes-Alpes (Cumin, 1970; Knafou, 1978). Mais les sports d'hiver ont véritablement pris leur essor après-guerre avec le développement de stations déconnectées de villages préexistant à des altitudes plus élevées, comme Courchevel en Savoie. Ce développement s'accompagne donc de création d'infrastructures routières, pour acheminer les touristes, ainsi que de petits logements étalés (Cumin, 1970). Les stations de ski deviennent véritablement intégrées (dites de « troisième génération » par Cumin, 1970) sous l'impulsion du premier Plan neige de 1964 mis en place par l'Etat (voir encadré). Les nouveaux logements sont des immeubles permettant d'accueillir un grand nombre de touristes français et étrangers venus pour des séjours de plus en plus longs. Parmi ces stations intégrées de troisième génération, on peut citer Les Arcs ou Les Menuires, en Savoie. Enfin, la quatrième génération de stations naît au milieu des années 1970 avec l'expiration du sixième et dernier plan neige (1971-1975) et se veut plus respectueuse de la nature et des habitants, avec la construction de villages-stations plus proches du modèle traditionnel et des logements moins denses (François, 2007). Parmi elles, on peut citer les stations de Valmorel ou des Saisies, en Savoie.

L'objectif est de « déterminer un concept de stations d'altitude très fonctionnelles, au service du ski, fondées sur un urbanisme vertical, initier un partenariat unique auprès des collectivités et faire émerger une nouvelle génération de stations très performantes susceptibles d'attirer les devises étrangères. » (Plan neige de 1964)

2.2.2. Les domaines skiables aujourd'hui: un enjeu économique majeur dans les Alpes françaises

Aujourd'hui, la France est un des leaders mondiaux dans le domaine du tourisme de sports d'hiver. Elle est par exemple troisième plus grande pourvoyeuse de journées-skieurs au monde derrière les Etats-Unis et l'Autriche (Boyer and Mainguet, 2018). Ainsi, les stations de La Plagne et des Arcs (Savoie) figurent toutes les deux parmi les trois stations de ski les plus visitées au monde (Boyer and Mainguet, 2018).

Les domaines skiables représentent aujourd'hui environ 2% de la surface de la région Rhône-Alpes (SRCE Rhône-Alpes, 2014). Cette activité a une grande importance économique locale : en 2014, les

dépenses liées au ski alpin représentaient 19% du produit intérieur brut (PIB) des deux départements de Savoie et Haute-Savoie (Boyer and Mainguet, 2018).

2.3. Les domaines skiables : un impact sur la faune généralement négatif mais peu étudié

Sato et ses collaborateurs ont effectué en 2013 une revue systématique et une méta-analyse de la littérature scientifique traitant des impacts des sports d'hiver sur la faune. Parmi les 41 études retenues dans l'analyse, la majorité trouve un **effet négatif des activités hivernales sur la faune**, particulièrement en Europe (Figure 3).

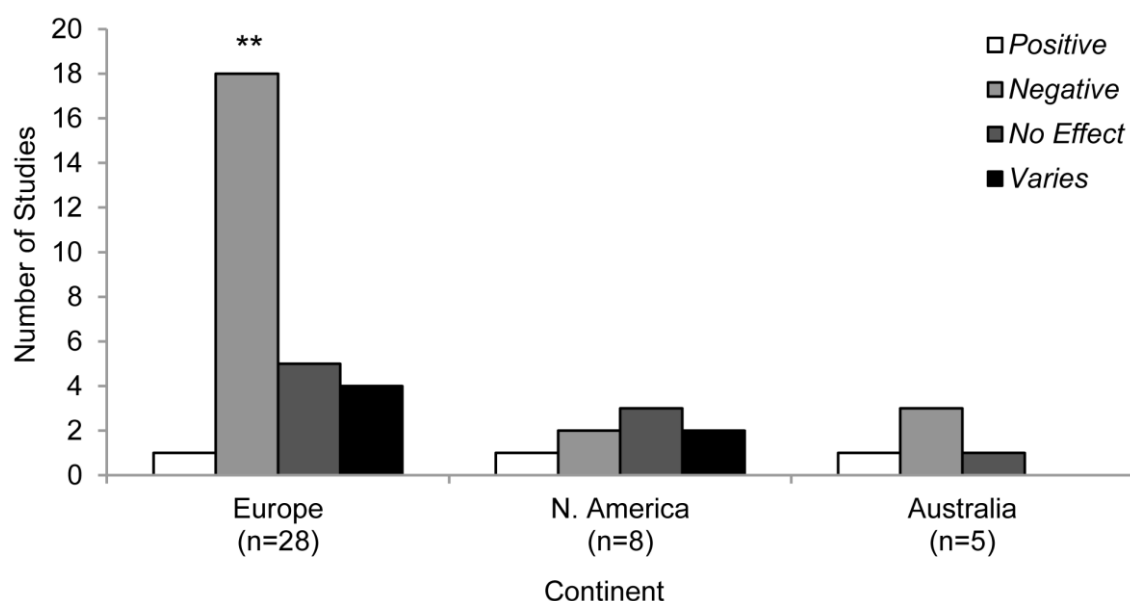


Figure 3 : Nombre d'études sur les impacts des sports d'hiver sur la faune. Les résultats sont présentés par continent. ** Différence significative entre les effets positifs et négatifs ($P < 0,01$) (Sato et al., 2013)

Les auteurs de la méta-analyse ont retenu trois catégories de dérangement humain : le tourisme d'hiver d'une manière générale (*winter tourism* : ski, véhicules de neige, randonnée hivernale, etc.), les aménagements directement liés aux sports d'hiver (*ski runs* : aménagement de pistes de ski, damage de la neige, etc.) et ceux indirectement liés à l'activité (*resort infrastructures* : routes, bâtiments, remontées mécaniques, etc.). Les effets négatifs sont significativement plus nombreux que les positifs pour le *winter tourism* et les *ski runs* (Figure 4).

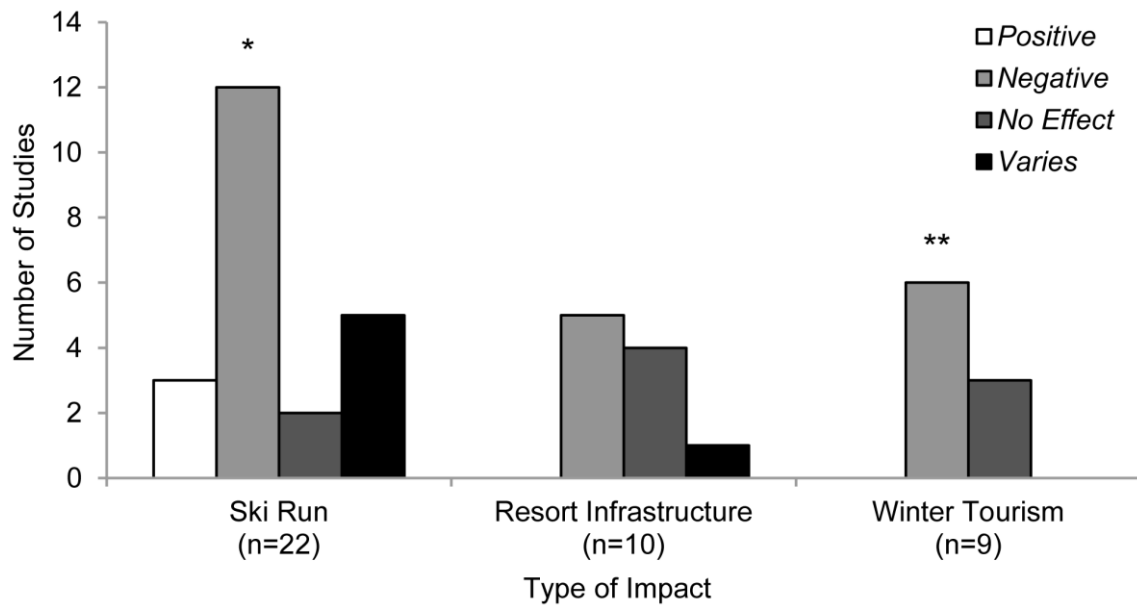


Figure 4 : Nombre d'études sur les impacts des sports d'hiver sur la faune. Les résultats sont présentés par type d'infrastructure. La significativité de la différence entre les effets positifs et négatifs est indiquée : ** $P < 0,01$; * $P < 0,05$ (Sato et al., 2013)

Toutefois, les études portent généralement sur la **composition des communautés**, particulièrement sur l'abondance, la densité ou la richesse spécifique. Parmi les quelques études plus fonctionnelles, seulement cinq portent sur les déplacements de faune à travers les distances parcourues par les individus.

En termes de taxons, les études portent principalement sur les mammifères (15 études sur 41), oiseaux (14) ou arthropodes (9), beaucoup plus rarement sur d'autres groupes comme les autres invertébrés ou même les reptiles (Figure 5).

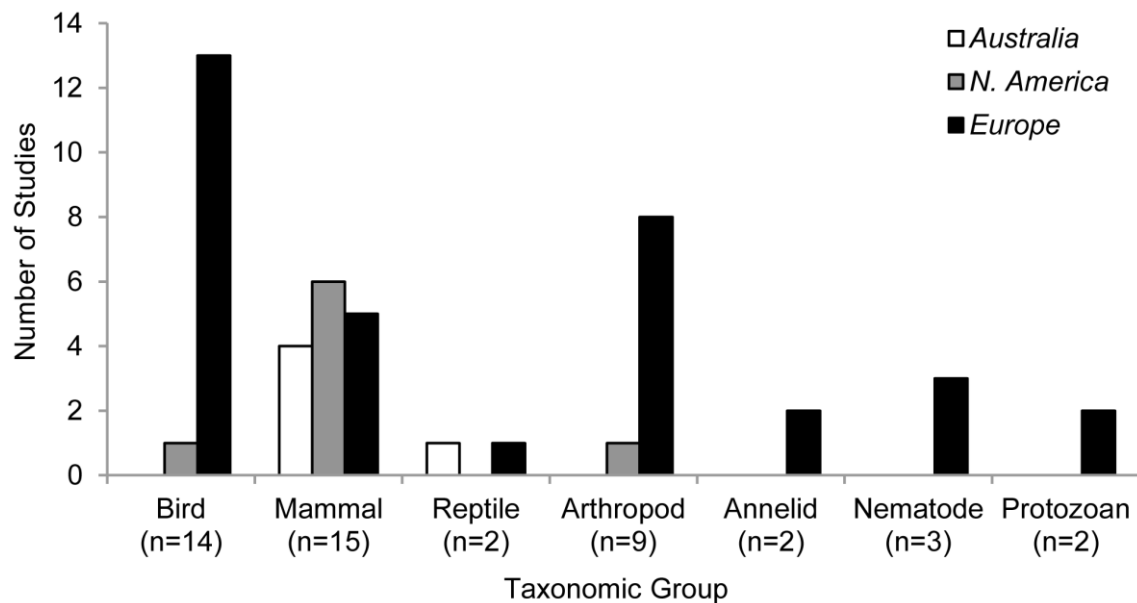


Figure 5 : Nombre d'études sur les impacts des sports d'hiver sur la faune. Les résultats sont présentés par taxon étudié (Sato et al., 2013).

Il n'existe donc que très **peu d'études sur l'impact des sports d'hiver sur la connectivité écologique** pour la faune, et **aucune étude sur leur impact sur les amphibiens**. Pourtant, l'aménagement de domaines skiables s'accompagne souvent d'une destruction des habitats humides (Dubois and Gaucherand, 2012; Gaucherand and Isselin-Nondedeu, 2011; Gaucherand et al., 2009), ce qui est généralement reconnu comme une des causes du déclin des populations d'amphibiens dans le monde (Stuart et al., 2004; Wake and Vredenburg, 2008). Depuis les années 1960, la surface de zones humides dans les domaines skiables français a beaucoup chuté (voir l'exemple de Val Thorens sur la Figure 6).

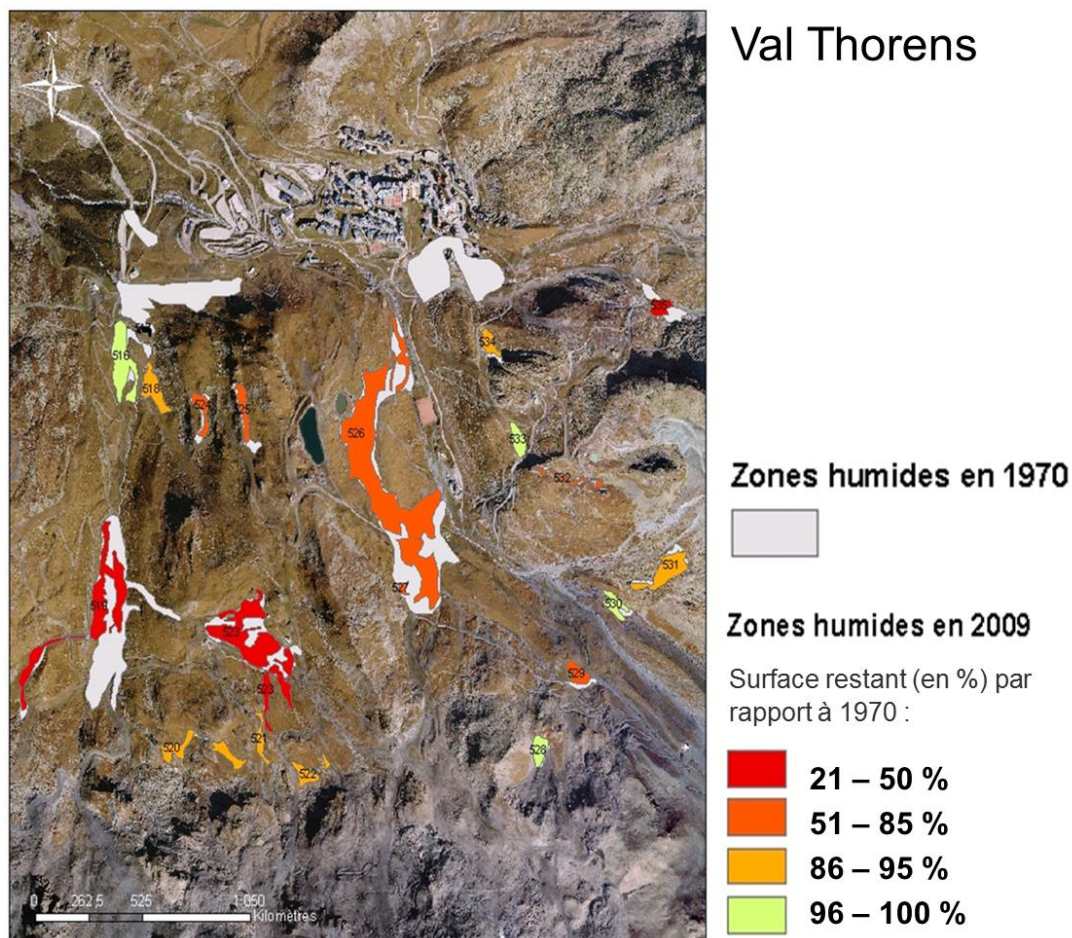


Figure 6 : Surface de zones humides perdue entre 1970 et 2009 dans la station de Val Thorens, déterminée par l'analyse de photos aériennes (Gaucherand et al., 2009). Au total, la station a perdu environ 50 % de sa surface de zones humides sur cette période.

En 2014, lors de l'établissement de la carte de perméabilité régionale du SRCE Rhône-Alpes, faute de connaissances précises sur la perméabilité des domaines skiables, il a été choisi d'attribuer à ces milieux un niveau de perméabilité « moyenne » indifférencié (SRCE Rhône-Alpes, 2014, voir encadré).

Dans ce même document, le « **maintien et/ou [la] restauration des continuités écologiques d'altitude au sein des grands domaines skiables des Alpes** » a été identifié comme un des principaux enjeux régionaux à cartographier.

« Afin de restituer cartographiquement les contraintes exercées sur les espaces perméables situés au sein des grands domaines skiables et de pointer la nécessaire vigilance sur l'évolution de ces secteurs, le choix retenu est de les représenter en niveau de perméabilité moyenne. » (SRCE Rhône-Alpes)

3. La Grenouille rousse, un amphibien de montagne sensible à la matrice paysagère

3.1. Les amphibiens, des animaux mobiles à travers la matrice paysagère

Les populations d'amphibiens diminuent à l'échelle mondiale du fait des activités humaines (McCallum, 2007; Stuart et al., 2004; Wake and Vredenburg, 2008). Les causes de ce déclin sont multiples mais l'une d'elles est la perte d'habitat couplée à la faible capacité de dispersion des amphibiens, ce qui entraîne un déclin particulièrement rapide dans les paysages fragmentés (Allentoft and O'Brien, 2010). En effet, les amphibiens doivent absolument se déplacer pour compléter leur cycle de vie qui est fait de migrations saisonnières pour la reproduction (notamment pour les espèces se reproduisant dans des plans d'eau, voir Figure 7) ainsi que pour se nourrir, fuir les prédateurs, etc.

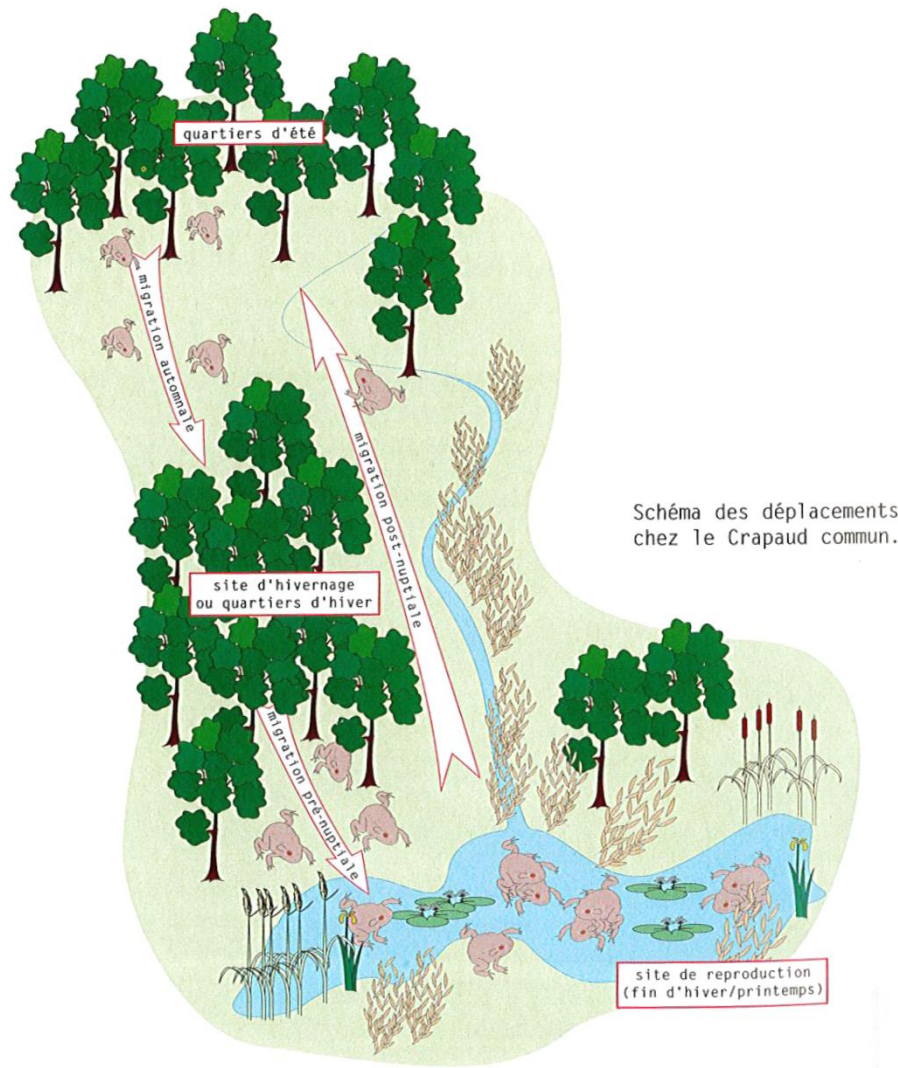


Figure 7 : Déplacements annuels du Crapaud commun (*Bufo bufo*). Le cycle de cet amphibien inclut plusieurs migrations saisonnières liées à la reproduction et à l'hivernation (ACEMAV, 2003).

Dès lors, comprendre comment les amphibiens se déplacent au sein du paysage devient un point clé pour mieux comprendre le déclin des populations (Pittman et al., 2014). Ainsi par exemple, pour les amphibiens se reproduisant dans les plans d'eau, les populations locales ont un taux d'extinction élevé dû à la disparition de plans d'eau temporaires ou à des maladies par exemple (Marsh and Trenham, 2001) ; la survie des populations à l'échelle paysagère est donc très dépendante des phénomènes de recolonisation (Marsh and Trenham, 2001; Semlitsch, 2000). Ces recolonisations ne sont possibles que si la connectivité du paysage pour l'espèce considérée est suffisante pour permettre une dynamique métapopulationnelle (Marsh and Trenham, 2001).

Les activités humaines altèrent la connectivité des paysages pour les amphibiens. Ainsi, les routes et autres surfaces antropisées peuvent constituer des barrières au mouvement (Jochimsen et al., 2004; Mazerolle and Desrochers, 2005), ce qui se traduit par une augmentation des distances génétiques entre populations séparées par ces obstacles et révèle une perte de connectivité (Hitchings and Beebee, 1997; Johansson et al., 2005; Miaud et al., 2015).

3.2. La grenouille rousse : un amphibien ubiquiste adapté au milieu montagnard



Figure 8 : Grenouille rousse photographiée au sein du domaine skiable des Saisies (Savoie).

La Grenouille rousse (*Rana temporaria* Linnaeus 1758) est un amphibien mesurant généralement entre 50 et 85 mm (avec une moyenne d'environ 70 mm) à l'âge adulte (ACEMAV, 2003) pour une masse moyenne de 42,2 g (les femelles étant généralement plus grosses que les mâles, voir la review de Trochet et al., 2014) (Figure 8). Au printemps, elle migre vers des plans d'eau permanents ou naturels pour se reproduire (Cogălniceanu et al., 2012; Kovar et al., 2009). La migration peut se faire sur une distance maximale de 2,2 km environ (Kovar et al., 2009). Chaque femelle pond une boule compacte d'environ 3000 œufs puis les têtards évoluent en milieu aquatique jusqu'à leur transformation (ACEMAV, 2003). L'espèce est réputée philopatricque : elle a tendance à revenir sur le même site de reproduction chaque année (ACEMAV, 2003; Kovar et al., 2009).

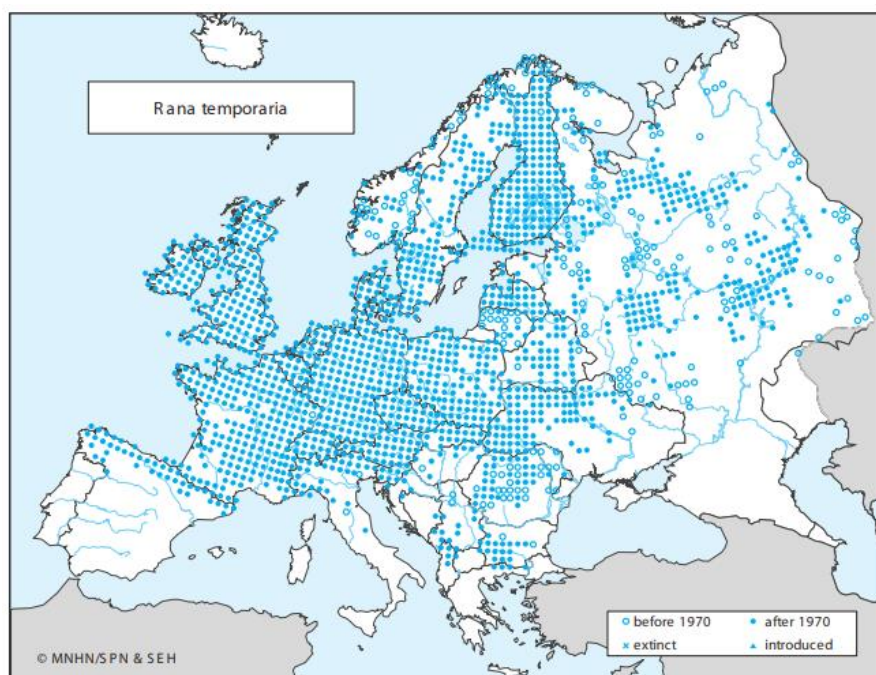


Figure 9 : Répartition géographique de la Grenouille rousse *Rana temporaria* (Gasc et al., 2009).

La Grenouille rousse a une distribution eurasiatique et est largement présente dans les Alpes françaises (Figure 9). On la trouve ainsi du niveau de la mer à près de 2800 m d'altitude (Tiberti and von Hardenberg, 2012) et elle est particulièrement adaptée au milieu montagnard et aux climats froids (Beattie, 1987; Ludwig et al., 2015; Miaud et al., 1999; Ryser, 1996). Elle est notamment présente dans de nombreux domaines skiabiles (e.g. Karum, 2012, 2014). La saison de reproduction commence vers janvier-février en plaine mais peut s'étaler jusqu'à juillet en montagne (ACEMAV, 2003). L'hibernation peut avoir lieu en milieu terrestre ou aquatique, mais les plans d'eau et cours d'eau semblent préférés en montagne (Ludwig et al., 2013; Tattersall and Ultsch, 2008).

Elle est réputée sensible aux modifications de la matrice paysagère. Ainsi, la connectivité fonctionnelle, mesurée par des outils de tracking ou génétique, est plus faible en milieu urbain (Hitchings and Beebee, 1997; Miaud et al., 2015; Safner et al., 2011) ou agricole (Johansson et al., 2005; Vos et al., 2007) qu'en milieu naturel.

4. Problématique et hypothèses

4.1. Problématique : quelle connectivité des domaines skiables pour la Grenouille rousse ?

Nous savons que :

- maintenir une bonne connectivité pour la faune peut constituer un enjeu de conservation important ; en effet, la fragmentation des populations accroît le risque d'extinctions locales ;
- la Grenouille rousse est largement présente dans les Alpes françaises, et notamment dans les zones anthropisées comme les domaines skiables ;
- les activités humaines, par exemple la construction de routes, l'urbanisation ou les activités agricoles, peuvent entraîner une perte de connectivité chez les amphibiens en général et la Grenouille rousse en particulier ;
- les domaines skiables sont des zones très anthropisées, ce qui a une incidence relativement bien documentée sur la structure des communautés faunistiques ;
- leur impact sur les mouvements de faune et la connectivité est peu connu, particulièrement chez les amphibiens, même si nous savons que l'aménagement de domaines skiables s'accompagne souvent de disparitions de zones humides, qui constituent un habitat important pour les amphibiens (reproduction, hibernation, etc.).

En conséquence, nos questions de recherche sont les suivantes : **quelle est la connectivité fonctionnelle des domaines skiables pour les amphibiens ? Les travaux et infrastructures liées à l'aménagement et l'entretien des domaines skiables ont-ils des impacts directs (apparition de barrières écologiques) ou indirects (destruction d'habitats entraînant une perte de connectivité) sur leur perméabilité ?**

4.2. Hypothèses

4.2.1. Les infrastructures liées aux domaines skiables agissent comme des barrières écologiques

Nous faisons l'hypothèse que les domaines skiables, milieux montagnards anthropisés, présenteront des barrières aux flux de gènes telles que les routes, zones bâties et pistes de ski. A l'inverse, la structure génétique des populations des zones peu anthropisées doit pouvoir s'expliquer par des éléments essentiellement liés à la topographie et autres éléments naturels.

4.2.2. La perte d'habitat entraîne une perte de connectivité

Nous savons que l'aménagement de domaines skiables s'accompagne souvent de destruction de zones humides. Or, la perte d'habitat est souvent le facteur le plus important entraînant une perte de connectivité. Nous faisons donc l'hypothèse que l'aménagement et l'entretien des domaines skiables entraîne une perte de zones humides d'altitude et que cette densité réduite d'habitat a un impact négatif sur la connectivité fonctionnelle des populations d'amphibiens.

4.3. Méthodes

La méthodologie employée pour quantifier la connectivité des domaines skiables pour les populations d'amphibiens sera détaillée dans les chapitres 1 à 3. Néanmoins, en voici les grands principes :

- Nous utiliserons la **Grenouille rousse comme modèle biologique**. Elle est présente dans la zone d'étude, sa génétique est bien connue et elle est souvent utilisée comme espèce modèle dans des études d'écologie du paysage (e.g. Decout et al., 2012; Miaud et al., 2015; Safner et al., 2011...).
- La zone d'étude sera située dans les Alpes françaises, plus particulièrement dans les domaines skiables partenaires du projet, **Les Arcs, Les Menuires et Les Saisies**, ainsi que dans le **Parc national de la Vanoise**.
- Notre première approche fera intervenir du **suivi individuel d'animaux par GPS (CHAPITRE 1)**.
- Notre deuxième approche se fera au moyen d'**outils génétiques pour quantifier la connectivité fonctionnelle (génétique du paysage) (CHAPITRES 2 ET 3)**.

Ces deux approches sont complémentaires puisque permettant d'étudier l'influence du paysage sur les mouvements d'animaux à des échelles différentes (individuelle versus populationnelle, court terme versus long terme, échelle spatiale des mouvements quotidiens versus échelle du massif). Cette complémentarité n'est pourtant jamais ou presque utilisée pour estimer la perméabilité des paysages (Zeller et al., 2012, mais voir Braaker et al., 2017, ou Coulon et al., 2015, pour des exemples).

Chapitre 1



Beatrix Potter, 1906

Comment se peut-il que l'animal, à la suite de sa pensée, tantôt agisse et tantôt n'agisse pas ? Comment peut-il tantôt se mouvoir et tantôt ne se point mouvoir ?

Aristote, *De motu animalium*, 4^{ème} siècle avant Jésus-Christ

1. Introduction : le suivi individuel par GPS, un outil pour mesurer la connectivité fonctionnelle

1.1. Les mouvements d'animaux, des processus envisageables à plusieurs échelles

Les animaux se déplacent pour acquérir des ressources, pour satisfaire des interactions sociales, se reproduire ou pour se protéger (fuir les prédateurs, trouver des abris...) (Nathan et al., 2008). Ces mouvements peuvent s'envisager à l'échelle de la vie de l'individu (*lifetime track*), à l'échelle de la phase de déplacement ou, à échelle très fine, au niveau de chaque pas (*step*) (Nathan et al., 2008, voir la Figure 10).

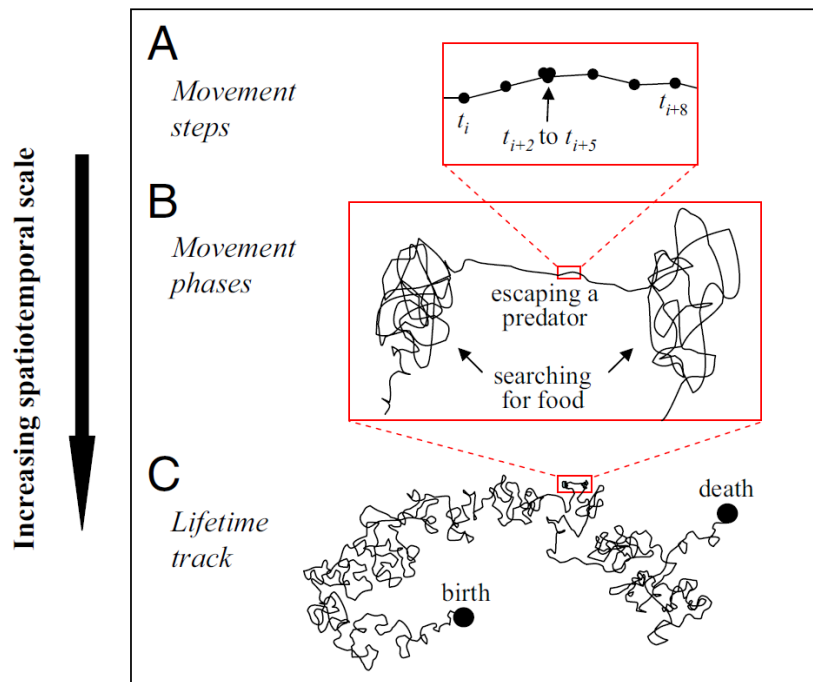


Figure 10 : Mouvements d'organismes à différentes échelles spatiotemporelles (Nathan et al., 2008). On définit la phase de mouvement (*movement phase*) comme la succession de déplacements et d'étapes réalisés en vue de la réalisation d'un objectif (se nourrir, se reproduire, trouver un abri...) Un pas (*step*) est le déplacement entre deux localisations successives de l'individu à un intervalle de temps donné.

L'émergence d'outils de géolocalisation à pas de temps court et constant, comme les balises ARGOS ou GPS (Kays et al., 2015) ou les GPS inversés (Weiser et al., 2016) ouvre de nouvelles perspectives en termes de connaissance des déplacements d'animaux (Cagnacci et al., 2010).

1.2. Les analyses de sélection de pas, des modèles pour étudier la connectivité

Les données spatiales collectées à haute fréquence donnent de précieuses indications sur les comportements individuels et les décisions prises par les animaux au cours de leurs déplacements (Fortin et al., 2005). Notamment, en comparant les localisations successives d'un animal observées empiriquement à celles qu'il aurait pu occuper s'il s'était déplacé de manière aléatoire, il est possible d'en déduire **ses préférences en matière de déplacement** (Figure 11). Ces préférences peuvent être modélisées sous la forme de **fonctions de sélection de pas** (*step selection function* SSF, Avgar et al., 2016; Fortin et al., 2005).

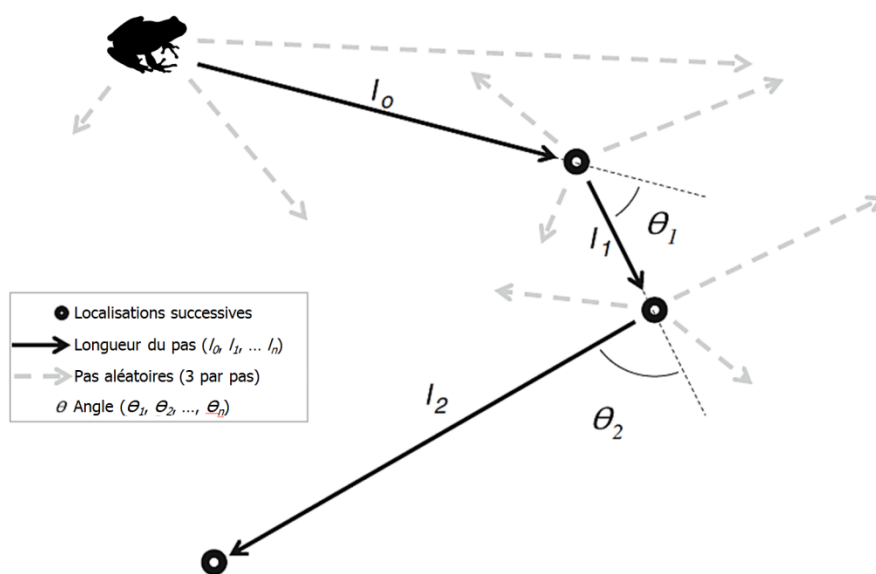


Figure 11 : Une trajectoire de déplacement peut être simplifiée en longueurs de pas linéaires et en angles se produisant entre des trajectoires successives. Dans cet exemple, trois pas aléatoires ont été associés à chaque pas réel parcouru par la grenouille (d'après Thurfjell et al., 2014).

Ces modèles individu-centrés permettent d'intégrer des covariables environnementales comme la couverture du sol, l'altitude, etc. Ainsi, les SSF peuvent être utilisées pour identifier des corridors écologiques dans le cadre d'études de connectivité (Richard and Armstrong, 2010; Roever et al., 2010), déterminer les préférences d'habitats (Bjørneraas et al., 2011) ou le domaine vital (Squires et al., 2013) d'une espèce ou d'étudier les effets d'infrastructures humaines sur les mouvements de faune (Northrup et al., 2012; Roever et al., 2010).

Dans ce chapitre, nous nous proposons de combiner un suivi GPS individuel au sein d'un domaine skiable avec des SSF pour étudier la connectivité fonctionnelle du paysage et les préférences d'habitat de la Grenouille rousse. Nous nous attendons à mettre en évidence une forte attractivité des habitats humides par rapport aux habitats plus secs ainsi qu'un effet répulsif des pistes de ski par rapport aux autres milieux.

2. Habitat selection and movement behaviour of the common frog (*Rana temporaria*) in an anthropized mountainous landscape: integrated step selection analysis of GPS tracking data

Etienne Boncourt¹, Stéphanie Gaucherand¹, Gabriel Chambonnet¹ & Björn Reineking¹

¹ Univ. Grenoble Alpes, Irstea, LESSEM, 38000 Grenoble, France

Article soumis à la revue *Amphibia-Reptilia*.

2.1. Abstract

Movement is a key aspect of animal ecology. This is particularly true for amphibians whose life cycle involves seasonal dispersal and migrations. Nevertheless, there is still a strong lack of knowledge about the way amphibians move across landscapes in relation with landscape structure and resource availability. Modern lightweight GPS loggers and associated statistical tools offer new perspectives to fill this gap. We followed the movements of more than 20 individuals of European common frogs (*Rana temporaria*) in a human-transformed mountain landscape, with GPS tags programmed with a constant 4 hour time gap between fixes. Using step selection analysis, we demonstrate first, that frogs strongly selected wetland habitats over open grassland and gave insight on the movement behaviour of the frogs in the summer. Second, frogs move over shorter distances when placed in a selected habitat and tend to cover longer distances when starting from less attractive habitat. These results constitute a promising initial step for the study of movement behaviour of European common frogs in relation with resource availability and landscape structure. We identify potentials to improve the performance of movement ecology studies on amphibians and how they can inform conservation in human-transformed mountain landscapes.

Keywords: ski resort, ski run, movement ecology, Step Selection Function SSF, mountain ecology

2.2. Introduction

Amphibian populations are declining worldwide because of anthropogenic effects (McCallum, 2007; Stuart et al., 2004). There are multiple causes to this decline, one of them being the low dispersal rate of amphibians, particularly in fragmented landscapes (Allentoft and O'Brien, 2010). Amphibians have indeed to move to complete their life cycle, particularly during the migration phases – when they move between their breeding sites, foraging sites and wintering sites – but also at a smaller time scale for their daily movement when they forage or try to find a daytime refuge (Nathan et al., 2008;

Pittman et al., 2014). Understanding how amphibians move in a landscape is a key component to improve their conservation and to better understand the populations decline (Pittman et al., 2014). Indeed, animal movement is usually affected by human activities and landscape modifications (Fahrig, 2007; Tucker et al., 2018).

Alpine ecosystems are important for biodiversity but are sensitive to human development, especially to new infrastructures related to tourism (Sato et al., 2013; Strong et al., 2002; WWF, 2005). It has been shown that ski runs can impact several taxa like mammals (Hadley and Wilson, 2004), birds (Laiolo and Rolando, 2005), orthoptera (Keßler et al., 2012) or reptiles (Sato et al., 2014a), by modifying the habitat and therefore community structure. Nevertheless, little is known about the potential impacts of human winter leisure activities on amphibians (Sato et al., 2013).

Frog movement has been studied for decades, initially by animal tagging (e.g. Breder et al., 1927; Martof, 1953), then by VHF tracking starting in the 1960s and ARGOS tags from the late 1990s (Kays et al., 2015). These techniques allowed studying animal behaviour such as homing (Breder et al., 1927; Matthews, 2003; Mazerolle and Desrochers, 2005), home ranges (Martof, 1953) or habitat selection (Groff et al., 2017).

In recent years, the emergence of GPS technology has offered new opportunities for animal tracking. In particular, the possibility to obtain fixes with a constant time interval and high temporal and spatial resolution (Cagnacci et al., 2010; Christensen and Chow-Fraser, 2014; Hebblewhite and Haydon, 2010; Kays et al., 2015; Latham et al., 2015) makes it possible to use new statistical tools such as step selection analyses (Fortin et al., 2005; Thurfjell et al., 2014). These new techniques now allow exploring new fields (Kays et al., 2015), such as collective motion of migratory birds (Nagy et al., 2010), life history (Klaassen et al., 2014), landscape connectivity (Mueller et al., 2014), social behaviour of mammals (Crofoot et al., 2008), corridor use (LaPoint et al., 2013) or ecophysiology (Williams et al., 2014).

To our knowledge, no such study with high-resolution fixed time interval tracking has been conducted on frogs yet. Nevertheless, studying amphibian movement at small temporal and spatial scales could be valuable to better understand their behaviour and scaling up from the individual to the population scale (Pittman et al., 2014). A possible reason for the dearth of such studies might be the relative large weight of GPS tags compared to the mean weight of an amphibian (Thomas et al., 2011). Only very recently did the miniaturization of GPS technology reach a point sufficient to make it available for amphibian study.

In this study we followed the movements of amphibians in a ski resort using GPS technology. Our biological model is the European common frog *Rana temporaria* Linnaeus 1758 which is very common in the French Alps and presents different adaptive traits to the mountain environment (Beattie, 1987; Miaud et al., 1999; Ryser, 1996). It is also known to be sensitive to modifications of the landscape matrix (Decout et al., 2012; Hitchings and Beebee, 1997; Johansson et al., 2005; Vos et al., 2007).

Our aim was to test the influence of ski runs on frog movement and study how frogs use the different land covers in a human-modified mountainous landscape.

2.3. Material and methods

2.3.1. Study area

The study area is located on the snow front of the ski resort of Les Arcs 2000 in the department of Savoie, France (GPS coordinates: 45.569 N 6.833 E). The elevation ranges from 2050 to 2300 m (Figure 12 A). The landscape consists of different features, with wetlands in the lowlands fed by small streams, roads and ski slopes that cross the landscape. All these elements are embedded in a grassland matrix (Figure 12 B).

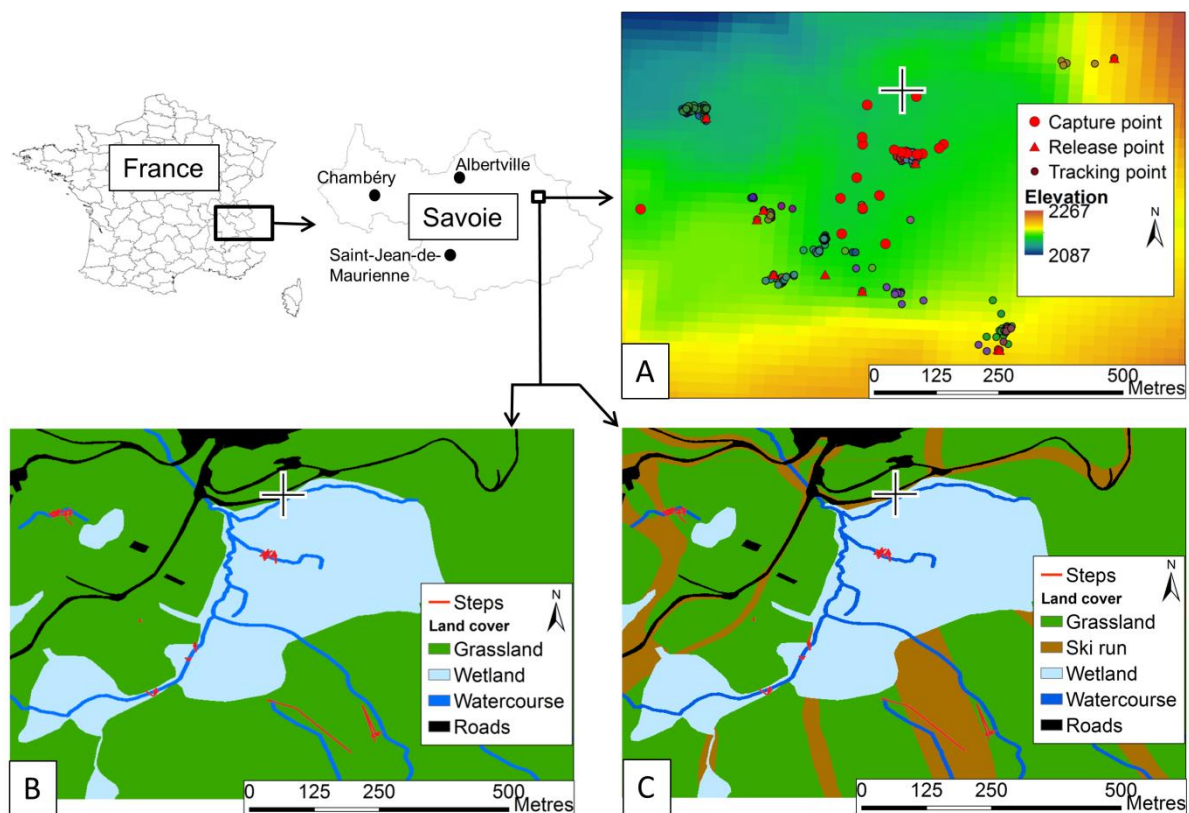


Figure 12 : (A) Capture (red squares) and release (red triangles) points of the frogs and the recorded fixes (dots). (B) Steps obtained subsampling all the fixes every 4 hours (red lines) with the land cover of the study site. (C) Same map with overlaid ski runs. The large cross represents the GPS coordinates 45.569 N 6.833 E.

2.3.2. Frog capture and equipment

The field work took place between July and August 2017. Using landing nets both during daytime and at night, we captured frogs in the wetlands situated in the lowest parts of the study area. We equipped them with 20 *Gipsy-5* GPS tags from TechnoSmart. As these tags do not have a remote download system, we also equipped them with 20 radio tags (Advanced Telemetry Systems, *R1605 series* glue on transmitters) in order to be able to recover them. The GPS tags were marinated with

heat-shrink tubes by the manufacturer. The radio tags were already marinized. We glued the radio tag on the GPS tag and used the technique developed by Groff et al. (2015) to attach them to the frogs with a waistband as this technique was described as safe for the animals, based on tests with tags weighing up to 3.8 g or 9.3% of the body mass (Figure 13). According to the review of Trochet et al. (2014), the mean body mass of the adult common frog is 42.24 g. It is commonly recommended that the tracking device should not exceed 5 to 10 % of the body mass of the animals (Rowley and Alford, 2007). We therefore selected our material in order to limit its weight as much as possible. Eventually, the total weight of the device (GPS tag, radio tag and waistband) was 4.4 g, i.e. 10.4% of the mean expected body mass. The tags were programmed to record a fix every 4 hours. According to the manufacturers, the batteries were to last for three weeks.

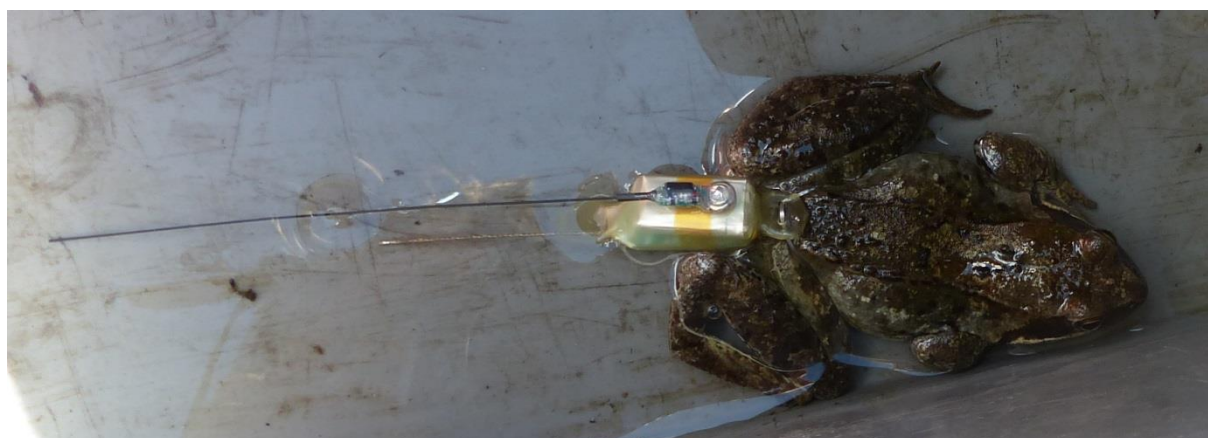


Figure 13 : A frog equipped with a GPS and a VHF tag

2.3.3. Tracking

Homing, i.e. the tendency and the capacity of an animal to move back to its original location after a translocation, is a well-documented behaviour in amphibians, especially in Anurans (Breder et al., 1927; Matthews, 2003; Mazerolle and Desrochers, 2005). The field work took place in the summer, between two migration phases. During this period, frogs do not move much (Pittman et al., 2014). In order to increase the likelihood of observing movements and association habitat selection, we released the animals at various distances from their capture points, expecting them to move back towards their initial position (Figure 12 A). The distance capture-release point ranges from 100 to 400 m.

We followed the frogs over a period of three weeks (duration of the battery) following release. Using the radio tags, we also manually checked the frogs' positions once or twice a week.

Some individuals managed to remove their harnesses. When this occurred, we deleted all the fixes that were recorded after the estimated time of loss, i.e. the time when the frogs stopped moving. Then we captured another frog and equipped it with the tag. As a result, we tracked more than 20 frogs with our 20 GPS tags.

We collected the fixes from all the tags after three weeks and added the data we manually collected via the VHF tag. Because we got fewer fixes than expected (see Results), we combined all the data into one virtual individual (Figure 12 A & B) in an R environment (R Core Team, 2017).

The captures, and more generally the complete experiment were conducted respecting the French laws on protected and endangered species. It was authorized by the Prefecture (administrative centre) of the Savoie department in May 2017.

2.3.4. Landscape covariates

We created a land use raster combining air photo interpretation of the `bd_ortho` database provided by the Institut Géographique national (IGN – downloadable at <http://professionnels.ign.fr/bdortho-5m>) and field work. We used 5 land use classes: grassland, wetlands, watercourses, roads and buildings. The watercourse class was generated applying a 3 m buffer around the watercourses we observed on the field. This class thus includes both the watercourses and their banks. We added another landscape raster of the ski run boundaries (provided by the ski resort of Les Arcs). When the ski runs overlapped other classes such as grasslands or wetlands, we considered based on our field observations of the similarity of vegetation and microtopography, that the ski runs had the priority over grasslands but not over wetlands and roads (Figure 12 B & C). As a consequence, the class referred to hereafter as “ski run” should be understood as “grassland+ski run”. We also used a digital elevation model (resolution of 5 meter) provided by the IGN.

2.3.5. Step selection analysis

To analyse how landscape covariates influence the movement of the common frog, we used integrated step selection functions (iSSF, Avgar et al., 2016). iSSF are an extension of the step selection functions (Fortin et al., 2005) and consist in comparing each observed step (straight line between two consecutive positions with a constant time interval) with steps randomly generated and considered as available for the animal. iSSF involve a conditional logistic regression modelling approach to estimate the relative probability of selecting a step compared to another (Manly et al., 2004; Signer et al., 2018).

We performed the analysis using the `amt` R package (Signer et al., 2018). We first turned our tracking from point-based to step-based considering two consecutive locations of an individual as a step. We then resampled it at a 4 hour sampling rate with a tolerance of 1 hour to delete the irregular fixes and locations manually checked on the field. Our data was then composed of 4 hour steps.

We extracted landscape covariates (elevation, land class and presence/absence of a ski run) at the starting point and the ending point of each step. We measured step length and turn angle of each step. We calculated the slope of each step (difference of elevation between the ending point and the starting point dividing the step length) and added a binary covariate that represented the time of the day: day between 6:00 a.m. and 7:59 p.m., night between 8:00 p.m. and 5:59 a.m.

We then fitted several integrated step selection functions to the data selecting different variables using the amt R package and comparing each empirical step with 50 randomly generated steps. We particularly tested the land use class at the end of a step and the effect of land use at the starting point of a step on the movement rate (interaction between the land cover at the beginning of a step and the step length – $sl:landuse_start$). The conditional logistic regression coefficient of the land use class at the end of a step is interpreted as the attractiveness of the habitat class (the higher the regression coefficient, the more attractive the habitat). $sl:landuse_start$ is the influence of the land cover on the animal speed, interpreted as the repulsive nature of the habitat class (the more repulsive a given habitat is, the faster an animal moves from it). This change of speed depending on the land cover attractiveness is a relatively well known behaviour (Roever et al., 2010; Turchin, 1998). We also tested the effects of the daytime and slope on the step length. We tested different combinations of all the covariates and present the 10 main models obtained in Tableau 1.

For model selection we used the Akaike information criterion (AIC). Following Burnham and Anderson (2004) and Mazerolle (2006), we considered the model with the lowest AIC as the best supporting model and ones with a $\Delta AIC \leq 2$ compared to the best supporting model as nearly equivalent.

Tableau 1 : Models tested. df = degree of freedom, ΔAIC = difference between the AIC of the best model and the model considered. All the models also use the sl (step length) and $\log(sl)$ as covariates.

Model	Covariates																df	AIC	Rank	ΔAIC
	Land use attractiveness				Land use effect at start				Slope		Daytime		Turning angles							
	landuse_end	sl:landuse_end	runs_end	sl:runs_end	landuse_start	sl:landuse_start	runs_start	sl:runs_start	slope	sl:slope	night	sl_night	ta:landuse_end	ta:landuse_start	ta:runs_start	ta:runs_end				
m1	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	22	2508,10	10	16,90
m2	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x					14	2497,59	9	6,40
m3	x	x	x	x	x	x	x	x			x	x					12	2493,72	7	2,52
m4	x	x	x	x	x	x	x	x									11	2493,30	6	2,11
m5	x					x											6	2493,25	5	2,05
m6	x					x		x									7	2491,56	2	0,36 *
m7	x							x									5	2494,06	8	2,87
m8	x					x		x				x					8	2491,20	1	0,00 ***
m9	x		x			x		x				x					9	2492,22	4	1,02 *
m10	x					x						x					7	2491,85	3	0,66 *

*** Best model

* $\Delta AIC < 2$

2.4. Results

2.4.1. Data collection

We captured 28 frogs (18 males, 7 females, 3 undetermined). Their average weight was 41.0 ± 7.7 g (median = 39.9 g) so the 4.4 g tags represent 11.0% of the median body mass of the tagged animals, which is slightly higher than the targeted 10% rate. We recorded a total number of 560 fixes, which represents 20.0 ± 23.3 fixes per individual (median = 6.5) on a period of 11.2 ± 6.3 days (median = 12.2). Among the 28 frogs we tracked, 13 (46%) removed their waistband. Eight frogs were removed from the analysis because they managed to remove their harness before moving. We recovered 100% of the tags. All recovered frogs still wearing the tags exhibited skin laceration of varying degree on their waist.

2.4.2. Models fitted

Cleaning and resampling the data to every 4 hours yielded 324 step events for all the individuals.

Among the 10 models tested, the best one (m8) is the model involving the habitat attractiveness (landuse_end), the daytime and the influence of the land use at the starting point of the step (habitats and ski runs) on the step length. The models m6, m9 and m10 performed almost as well as m8 ($\Delta AIC < 2$) with no daytime covariate (m6), no ski runs at starting point covariate (m10) or an additional ski runs at ending point covariate (m9) (Tableau 1).

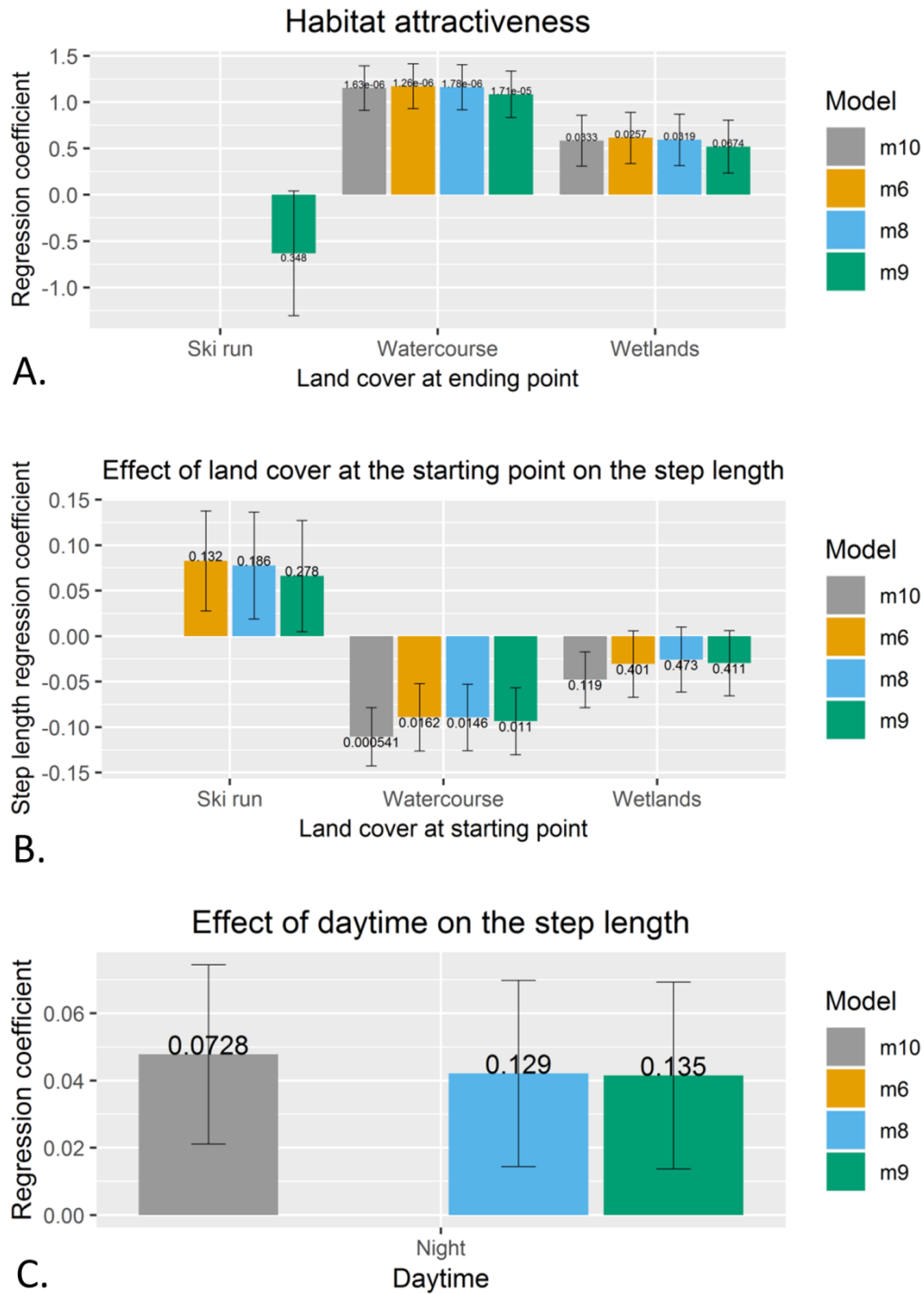


Figure 14 : Results of the 4 best performing models m6, m8, m9 and m10. The barplot represents the coefficients of the conditional logistic regression, the error bars represent the standard errors and the numbers above the corresponding p values.

A. Regression coefficients of every land cover class compared to grassland (baseline), interpreted as the attractiveness of the habitat class.

B. Regression coefficient of the step_length:land_cover covariate for every land cover class compared to grassland (baseline), interpreted as the repulsiveness of the habitat.

C. Regression coefficient of the step_length:night covariate compared to daytime.

A positive regression coefficient for the `landuse_end` covariate is interpreted as a better habitat than grassland in terms of attractiveness. Here, in the best model m8, the wetlands ($P < 0.05$) and watercourses ($P < 0.001$) are more attractive than grassland areas with $\text{coef}(\text{watercourse}) > \text{coef}(\text{wetland}) > 0$, which suggests that in terms of attractiveness, we have $\text{watercourse} > \text{wetland} > \text{grassland}$ (Figure 14 A). The presence of ski runs at ending point is only taken in account in the model m9 with a negative regression coefficient, which suggests that ski runs are less attractive than grassland (Figure 14 A). However, this result is not statistically significant ($P = 0.35$).

The influence of the habitat at starting point on the step length (`sl_:landuse_start`) is significant with respect to the watercourses ($P < 0.05$) (Figure 14 B). The negative coefficient indicates that frogs starting from a watercourse tend to cover a significantly shorter distance than when starting from a wetland or grassland. The coefficient for wetlands is less negative, which would suggest that frog starting from wetlands cover a distance shorter than when starting from grassland but longer than when starting from a watercourse, but the result is not significant. The regression coefficient is positive in all the models that include this covariate (m6, m8 and m9), which suggests that ski runs are more repulsive than regular grassland, but the result is not significant ($P = 0.19$ for m8).

Adding the effects of the ski runs (`sl_:runs_start`) and daytime (`sl_:night`) on the step length improves the AIC of the models but parameter estimates are not statistically significant (respectively $P = 0.186$ and $P = 0.129$ for m8; `sl_:night` $P = 0.07$ for model m10). While not statistically significant, the coefficients suggest that frogs tend to cover longer distances during the night than during the day (Figure 14 C). Turning angles and slope decreased the AIC when removed.

These results highlight the importance of two dimensions of the habitat use by the frogs: the attractiveness and the repulsiveness of the habitats.

2.5. Discussion

We performed to our knowledge the first recorded GPS tracking experiment with amphibians. This technology offers the possibility to record high resolution data with a constant time interval, which allowed us to statistically link movement steps to land cover with respect to habitat selection and distances covered via step selection functions.

Our results confirm some preferences of the Common frogs for aquatic and humid summer habitats in the mountains (Cogălniceanu et al., 2012; Vences et al., 2013). We highlighted the importance of two components of the landscape use by Common frogs: habitat attractiveness and influence of the land cover on animal speed, which we interpret as the repulsiveness of the habitat. We demonstrated that the frogs tend to be attracted by humid habitats (especially watercourses but also wetlands) and that when located on a less attractive habitat (grassland), they tend to cover longer distances. This change

of speed depending on the land cover attractiveness is a relatively well known behaviour (Roever et al., 2010; Turchin, 1998).

Nevertheless, our data did not allow us to confirm our initial hypothesis about the impact of ski runs on frogs' movement in the summer. Several practical challenges contributed to the overall lower than expected sample size: problems with the harnesses, battery lifetime, and malfunctioning of some tags. We think that the preliminary results on the impact of ski runs on frog movement warrant further study. While not statistically significant due to high uncertainty in the estimated coefficient, effect sizes might be substantial (i.e. preference differences between grasslands and ski runs might well be in the order of the statistically significant preference differences between grasslands and wetlands, Figure 14 A). Similarly, some additional data would allow to better quantify the effect of the 'sl_night' covariate, suggesting here that frogs cover larger distances at night, which is in contrast to previous work that found adults of *Rana temporaria* are more active during the day in mountain populations (Vences et al., 2000).

We addressed the problem of the relatively small number of fixes assembling all our data in one virtual single virtual individual, thus not accounting for inter-individual variation. Therefore, results need to be interpreted with caution.

The choice of a way to attach transmitters to amphibians has always been challenging because of the high risk of injuries due to softness of their skin (Bull, 2000; Groff et al., 2015; Muths, 2003). With the harness type we selected in the literature, we experienced a high rate of harness loss and an injury rate way superior to the one obtained with less heavy radio transmitters (Groff et al., 2015). So while promising, the use of GPS transmitters for frog movement studies requires improved techniques for attaching external transmitters to the animals to prevent tag loss, and, more importantly, animal injuries.

The Common frog's behaviour changes a lot during the year (Miaud et al., 1999). This study has only been conducted during the summer when adults forage and establish home range. This only represents a small part of the movements of the frogs: they also move during the juveniles' dispersion and the adults' migrations during the spring (Pittman et al., 2014). A promising extension of this work would be to replicate it during one of these phases. They are relatively short and having only a few days or weeks of battery could be enough to study these events.

Our study constitutes a valuable contribution to the knowledge of the habitat selection of the Common frog at a very fine temporal scale. The technological progress made by the manufacturers will offer new opportunities to track smaller animals on longer periods in the future. This will allow us to better understand the movement of small animals in the landscape and how the human infrastructures impact it. Our results are relevant in a perspective of conservation in human-transformed mountain landscapes.

2.6. Author contributions

EB, SG, GC and BR designed the study; EB and GC performed the field work and cleaned the data; EB analysed data and wrote the manuscript with contributions from SG and BR.

2.7. Acknowledgements

This study has been funded by the Agence de l'eau Rhône-Méditerranée-Corse (French water agency). The authors would also like to thank Claude Miaud for his valuable advice and the ski resort of Les Arcs for their support and data.

3. Conclusion : le suivi individuel de grenouilles par GPS, une technique permettant d'étudier les préférences d'habitats mais pas encore la connectivité du paysage

Nos résultats montrent que les individus suivis **privilégient fortement les habitats humides** en été, ce qui confirme le rôle clé qu'ont ces habitats pour la Grenouille rousse (Cogălniceanu et al., 2012; Vences et al., 2013). Toutefois, la faible durée de suivi entraîne plusieurs faiblesses dans l'analyse :

- Les mouvements recensés ne le sont que sur des individus adultes et n'ont lieu que durant la saison estivale, soit une saison peu critique en termes de flux de gènes et donc de connectivité (Pittman et al., 2014; Sinsch, 2014).
- L'échelle spatiale du suivi est relativement faible, ce qui ne permet pas d'analyser tous les types d'habitats possibles (par exemple, la zone d'étude ne comportait aucune zone boisée).
- L'échelle spatiale et temporelle ne permet pas d'identifier des corridors écologiques.

Dans les chapitres suivants, nous nous proposons de poursuivre l'analyse de connectivité en complétant ces données par une analyse génétique.

Chapitre 2



Gerard Jollain, 1670

Ainsi parle l'Eternel : « [...] je vais frapper par des grenouilles toute l'étendue de ton pays. Le fleuve fourmillera de grenouilles ; elles monteront et elles entreront dans ta maison, dans ta chambre à coucher et dans ton lit, dans la maison de tes serviteurs et dans celles de ton peuple, dans tes fours et dans tes pétrins. »

Ancien testament, *Exode* 8:1-3

1. Introduction : utiliser les données génétiques pour quantifier les flux de gènes dans les domaines skiables

1.1. La génétique du paysage ou l'étude des flux de gènes à travers un paysage

La perméabilité d'un paysage peut se quantifier par le suivi des mouvements des individus de l'espèce étudiée (chapitre 1). Il est également possible d'utiliser des techniques génétiques pour évaluer les flux de gènes à travers le paysage. Cette discipline, théorisée en 2003 par Manel et al., est la **génétique du paysage** (Manel and Holderegger, 2013; Manel et al., 2003). Elle permet de quantifier l'impact de la structure du paysage sur les flux de gènes, soit sa connectivité fonctionnelle (voir encadré).

Les méthodes classiques de génétique du paysage reposent sur l'analyse de la relation entre une **distance génétique** entre des individus ou des populations géoréférencés et des **variables environnementales** décrivant le paysage situé entre ces individus ou populations. En principe, une distance génétique entre deux individus ou populations sera d'autant plus grande que le paysage entre les deux sera résistant au déplacement.

La distance génétique se calcule au moyen de **marqueurs génétiques**. Ceux-ci sont des séquences d'ADN très polymorphes dont l'emplacement sur le génome est connu. Selon la question de recherche étudiée, les marqueurs peuvent être neutres ou non d'un point de vue sélectif. Une distance génétique peut se calculer soit entre individus, soit entre populations, et ce avec des méthodes différentes. Les distances calculées entre populations s'emploient plutôt lorsque les organismes sont rassemblés en groupes discrets tandis que les distances entre individus s'utilisent plutôt pour des organismes distribués de manière continue dans le paysage (Hall and Beissinger, 2014).

1.2. Choix d'un type de marqueurs et d'une distance génétique

Le type de marqueur le plus utilisé en génétique du paysage est les **microsatellites**, des séquences formées par un motif de une à quatre paires de bases répété plusieurs fois (Hall and Beissinger, 2014; Storfer et al., 2010). Les microsatellites sont neutres d'un point de vue sélectif.

Plusieurs marqueurs microsatellites ont déjà été développés et testés pour la Grenouille rousse (Berlin et al., 2000; Matsuba and Merilä, 2009; Rowe and Beebe, 2001; Safner et al., 2011; Testud, 2014).

« Landscape genetics [...] combines population genetics, landscape ecology and spatial analytical techniques to explicitly quantify the effects of landscape composition, configuration, and matrix quality on microevolutionary processes, such as gene flow, drift, and selection, using neutral and adaptive genetic data » (Balkenhol et al., 2016)

Dans les chapitres 2 et 3, nous nous appuyerons sur ces travaux et utiliserons des marqueurs connus et déjà utilisés.

Typiquement, les grenouilles rousses vivent en groupes reproductifs de tailles variables organisés autour d'un ou plusieurs plans d'eau (Cooke, 1975). Leur distribution dans le paysage est donc une distribution en agrégats, ce qui rend l'emploi d'une **distance génétique calculée entre populations** nécessaire et adapté.

Les manières de calculer des distances génétiques font l'objet d'abondants débats dans la littérature entre généticiens (Alcala and Rosenberg, 2018; Jost, 2008; Nei, 1977; Verity and Nichols, 2014; Whitlock, 2011; Whitlock and McCauley, 1999) et les présents travaux n'ont pas pour ambition de les trancher. La manière la plus courante fait appel à la statistique F de Wright F_{st} (Wright, 1931) et à ses dérivés comme la G_{st} de Nei (Nei, 1977) qui, malgré des critiques (e.g. Jost, 2008), sont toujours considérées comme de bons indicateurs de la structuration génétique des populations (Whitlock, 2011). Dans les chapitres 2 et 3, nous utiliserons donc la statistique **G_{st} de Nei** (Nei, 1977) comme mesure de la distance génétique entre populations

$$G_{st} = 1 - \frac{H_s}{H_t}$$

Avec :

- H_s = moyenne des h_s sur l'ensemble des marqueurs étudiés ;
- H_t = moyenne arithmétique des h_t sur l'ensemble des marqueurs étudiés ;
- h_s = moyenne arithmétique sur l'ensemble des sous-populations étudiées de la diversité génétique monolocus par sous-population ;
- h_t = diversité génétique monolocus sur la population totale.

1.3. Les sites d'étude : des paysages de montagne aux degrés d'anthropisation variables

La notion de domaine skiable regroupe des réalités très différentes (voir l'introduction générale supra). Leur surface, leur densité d'équipement, leur gamme d'altitude, leur pente, leur niveau d'anthropisation, etc. sont très variables. Afin d'avoir une représentation la plus large possible, nous avons sélectionné trois domaines skiables présentant des caractéristiques différentes (Tableau 2) :

- **Les Arcs** sont un domaine skiable de troisième génération avec une densité d'équipement (pistes et remontées mécaniques) relativement élevée et une densité de zones humides très faible (Figure 15 et Figure 16).

- Le domaine skiable des **Menuires**, domaine de troisième génération, est situé dans la vallée des Belleville dont il occupe les versants ouest et, surtout, est. La densité d'équipement est forte, de même que celle de zones humides (Figure 15 et Figure 17).
- **Les Saisies** sont un domaine skiable plus petit, de quatrième génération, avec une densité d'équipement relativement faible et une densité de zones humides très forte, notamment de par la présence de la tourbière des Saisies qui est une réserve naturelle régionale (RNR), la première de Savoie en surface (Figure 15 et Figure 18).

Tableau 2 : Sites d'étude pour l'étude de génétique du paysage. La surface de zones humides est calculée à partir de l'inventaire départemental de zones humides et des données de terrain fournies par les domaines skiables. Le ratio est calculé à partir de la surface du plus petit rectangle incluant tous les points d'échantillonnage de la zone.

Nom	Type	Surface du domaine gravitaire (km ²)	Altitude (m)	Surface de zone humide (%)	Dates d'échantillonnage
Les Arcs	Ski resort	36,6	1600 - 3200	1,6	Mai - juillet 2016
Les Menuires	Ski resort	32,5	1450 – 2850	5,4	Avril - juillet 2017
Les Saisies	Ski resort	19,3	1650 - 2069	20,2	Mai 2017
Vallée du Ponthurin	Zone témoin	-	1300 - 3300	1,8	Mai - juin 2017

Nous avons également prélevé des échantillons dans une zone peu anthropisée de la même région : la **vallée du Ponthurin**, située en partie dans le cœur de parc du Parc national de la Vanoise (Figure 15 et Figure 19). Cette zone fera office de zone témoin.

Ces quatre sites sont localisés dans le département de la Savoie, dans les Alpes françaises (Figure 20).



Figure 15 : Aperçu des quatre sites d'étude retenus. De gauche à droite et de haut en bas : les stations Arcs 1950 et Arcs 2000 du domaine skiable des Arcs, Les Menuires, Les Saisies et la vallée du Ponthurin (refuge d'Entre le Lac, lac de La Plagne et le Mont Pourri en arrière-plan). Photo des Arcs : Remontees, CC-BY-SA 3.0, Wikimedia Commons, 2012. Photo des Menuires : Markfox2, Wikimedia Commons, 2006

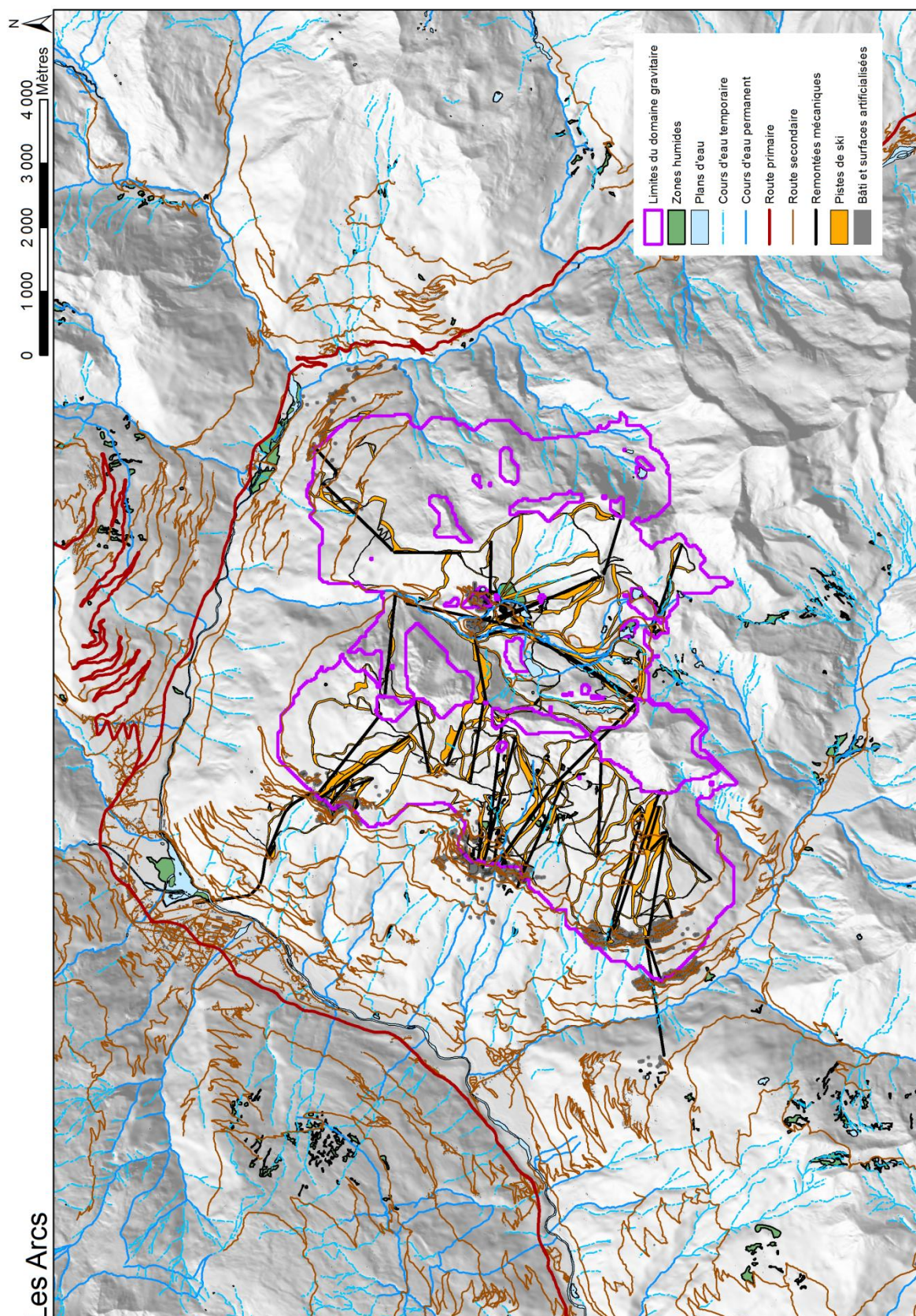


Figure 16 : Carte du domaine skiable des Arcs. Sources : BD_Topo, inventaire départemental des zones humides, Domaine skiable des Arcs, BD_Stations.

Les Menuires

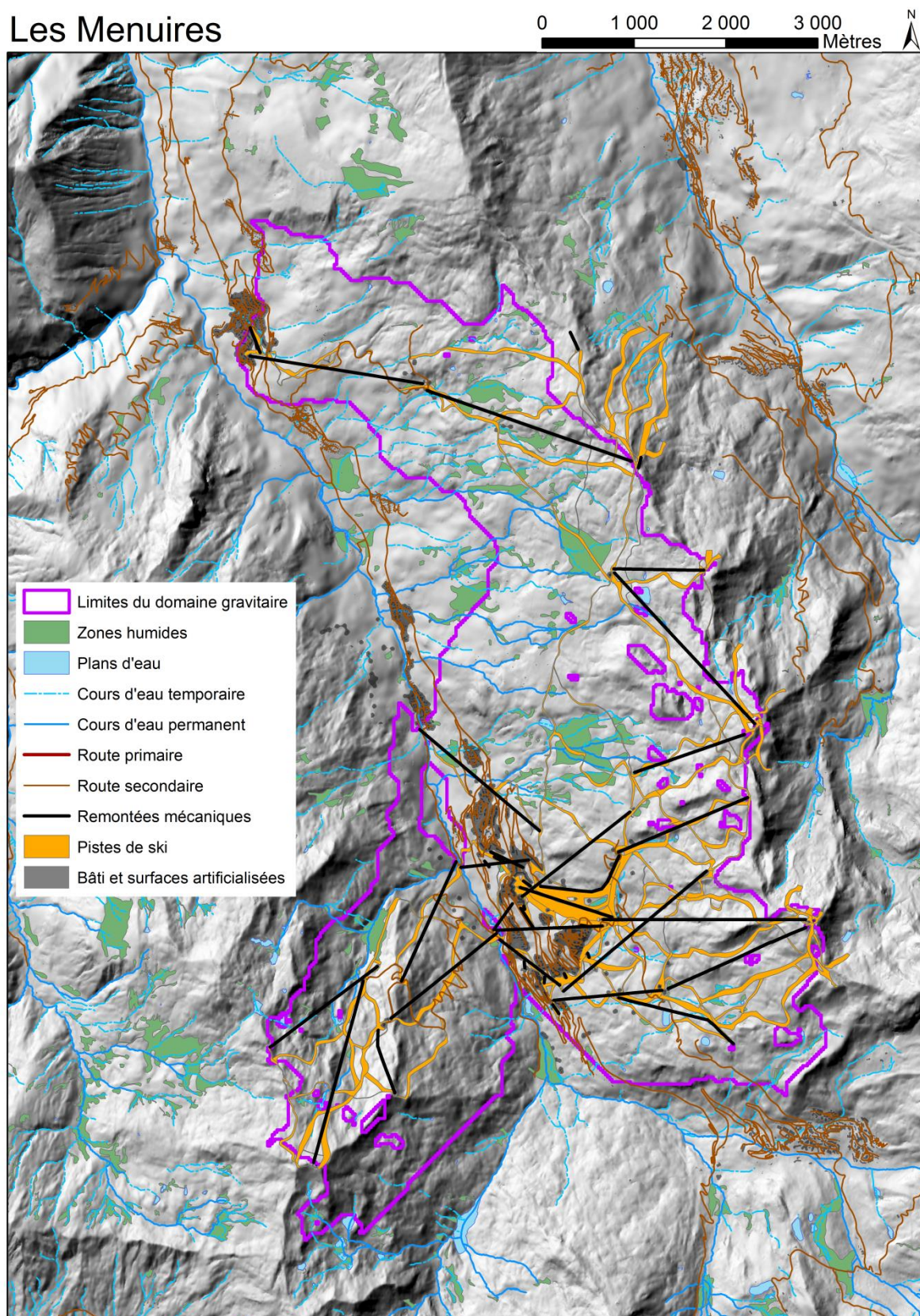


Figure 17 : Carte du domaine skiable des Menuires. Sources : BD_Topo, inventaire départemental des zones humides, Domaine skiable des Menuires, BD_Stations.

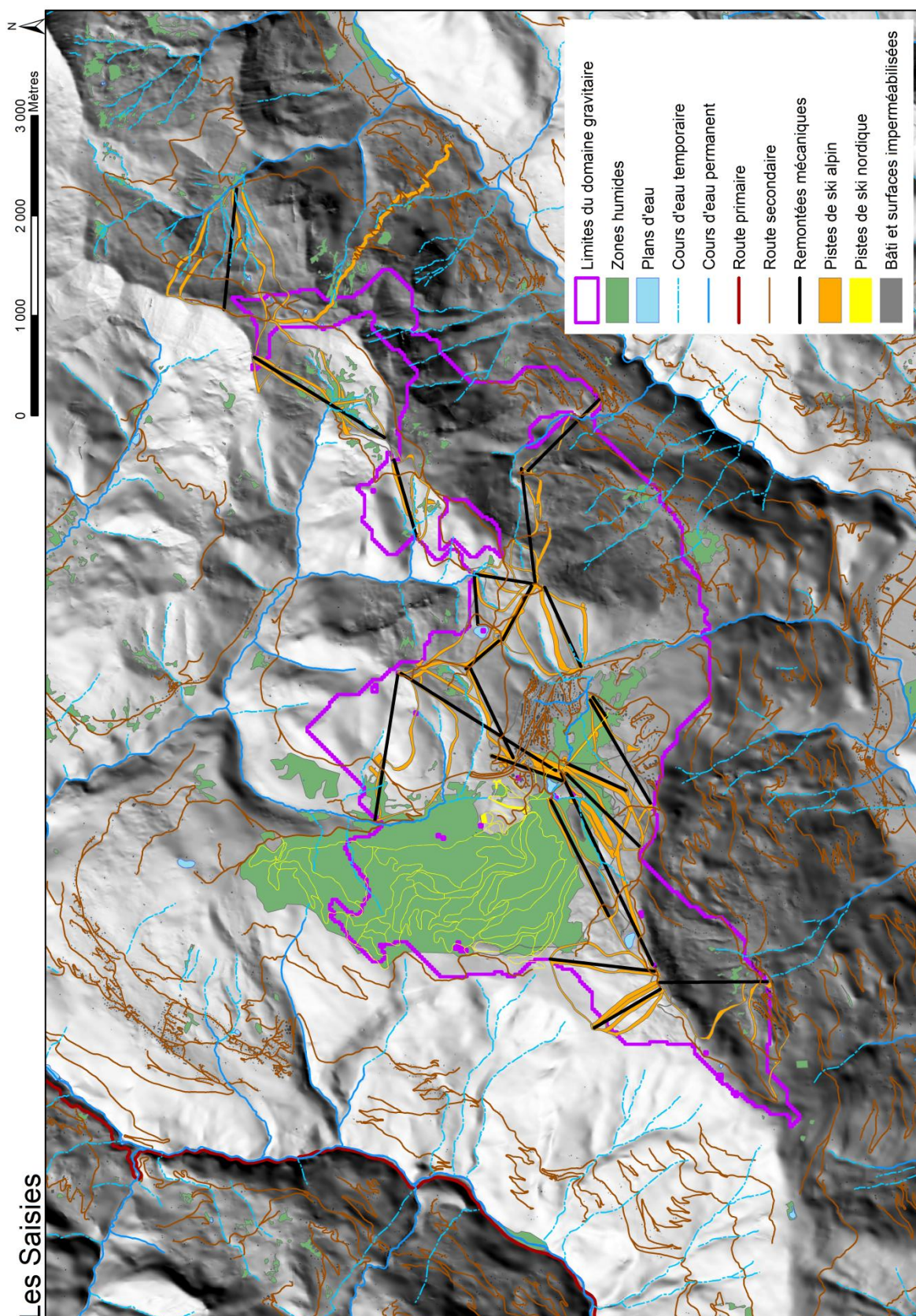


Figure 18 : Carte du domaine skiable des Saisies. Sources : BD_Topo, inventaire départemental des zones humides, Domaine skiable des Saisies, BD_Stations.

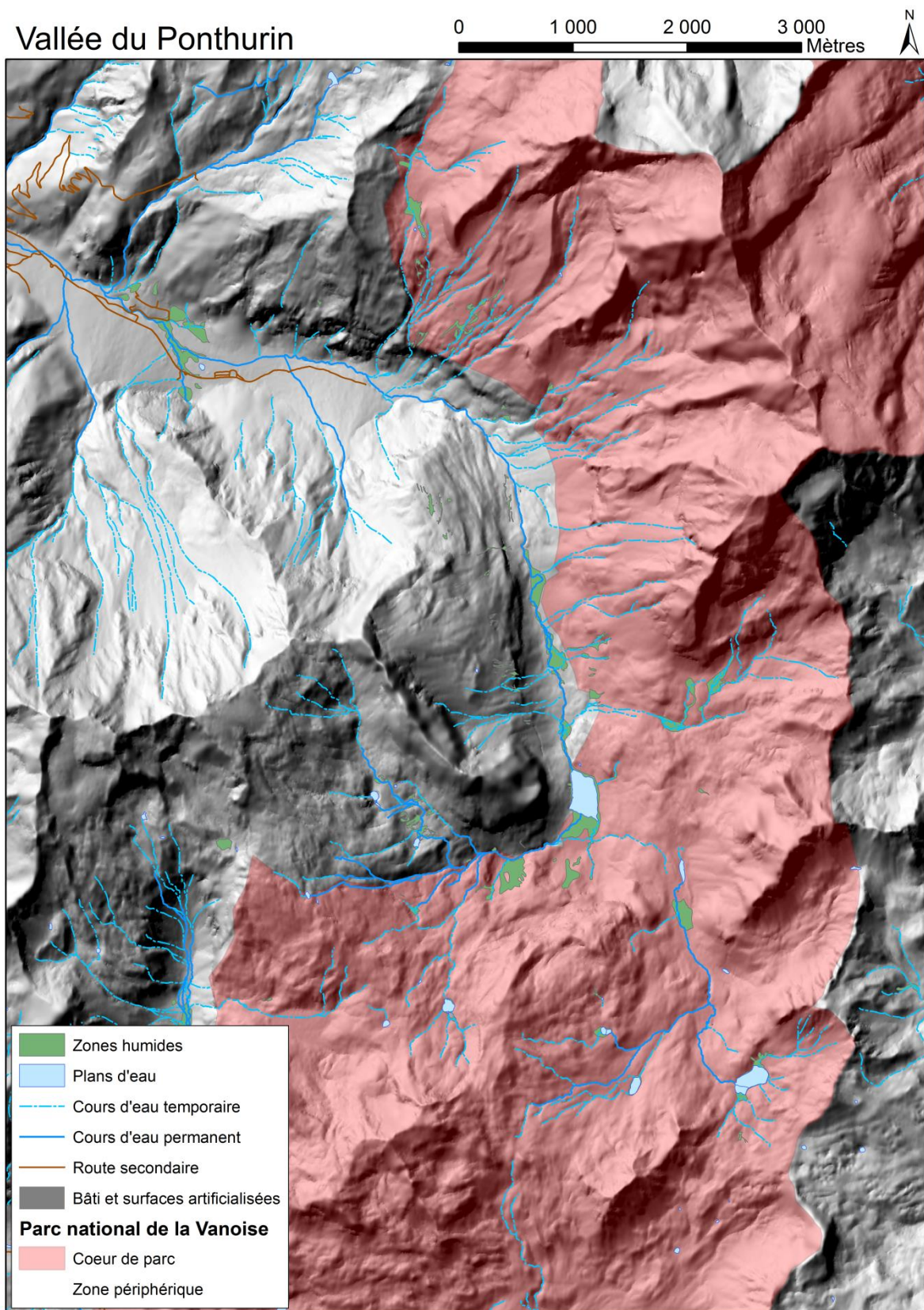


Figure 19 : Carte de la vallée du Ponthurin. Sources : BD_Topo, inventaire départemental des zones humides, Parc national de la Vanoise.

2. Population size matters for landscape genetic studies. A case study on montane populations of a pond-breeding amphibian.

Etienne Boncourt¹, Stéphanie Gaucherand¹, Claudine Montgelard², Véronique Arnal², Marie Cabessut^{1,2} & Björn Reineking¹

¹ Univ. Grenoble Alpes, Irstea, LESSEM, 38000 Grenoble, France

² CEFE UMR 5175, CNRS - Université de Montpellier - Université Paul-Valéry Montpellier, EPHE-PSL – 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier cedex 5, France

Article rédigé en vue d'une soumission à la revue *Conservation genetics*.

2.1. Abstract

Gene flow across landscapes is a key for maintaining population and metapopulation dynamics. A modification of landscape structure can lead to inadequate gene flow and induce a higher risk of population extinction. Widely used measures of genetic differentiation are known to be sensitive to heterogeneity in population sizes within study areas. The common frog (*Rana temporaria*) is known to group together in populations of highly variable sizes and to be sensitive to landscape structure. Here, we propose to measure the respective contribution of the heterogeneity in population sizes and landscape structure to the observed genetic differentiation in an empirical dataset. Using eleven microsatellite markers studied in four different landscapes, we tested the effects of isolation by distance (IBD), several landscape variables based on topography and wetland density, and spatial heterogeneity in population sizes (SHNe) on genetic differentiation. Our study showed that the SHNe can explain up to 62% of the observed genetic differentiation depending on the spatial arrangement of the populations and the heterogeneity in their effective sizes. We therefore recommend taking into account heterogeneity in population sizes when performing population-based landscape genetic studies in order to avoid spurious conclusions and inadequate management and conservation measures.

Keywords: habitat fragmentation, landscape genetics, mountain ecology, isolation by distance, wetlands, isolation by resistance

2.2. Introduction

Animal dispersal, i.e. individual movement that has consequences on gene flow within a landscape (Ronce, 2007), is a key for maintaining population (Lima and Zollner, 1996; Morales et al., 2010) and metapopulation dynamics (Levins, 1969). Dispersal strongly depends on landscape structure (Baguette et al., 2013). By modifying landscape structure – fragmenting and destroying natural habitat, building infrastructures that can act as ecological barriers – human activities can reduce or

even cut off gene flow (Baguette et al., 2013; Vignieri, 2005). Destroying habitats can lead to a loss of landscape connectivity and isolate populations (Baguette et al., 2013; Frankham et al., 2017). Isolated populations experience higher extinction risk (Frankham, 2005; Frankham et al., 2017).

Measuring effective dispersal of individuals and the impact of landscape structure on it can be challenging. The most obvious method is animal tracking, for instance using GPS tags (Kays et al., 2015), but this can be technically difficult, particularly for small animals (Cagnacci et al., 2010; Latham et al., 2015). The relationship between the landscape structure and gene flow can also be revealed using a landscape genetics approach (Manel and Holderegger, 2013). It consists in relating the genetic distances between populations or individuals and the landscape structure between them (Wagner and Fortin, 2016). The hypothesis of an isolation-by-distance (IBD), i.e. the hypothesis that the genetic flow decreases, and therefore the genetic distance increases, when geographical distance increases, is often used as a baseline model in landscape genetic studies (Jenkins et al., 2010; Wright, 1943). Other hypothesis usually include isolation-by-resistance (IBR, McRae, 2006) and isolation-by-barrier (IBB, e.g. Vignieri, 2005). Isolation-by-resistance implies a positive relationship between landscape resistance to movement and genetic distance (McRae, 2006). Isolation-by-barrier is the loss of connectivity due to natural or anthropogenic barriers such as roads, rivers or mountains (Balkenhol and Fortin, 2016).

Prunier et al. (2017) recently proposed a new hypothesis based on the effect of spatial heterogeneity in effective population sizes (SHNe) on the measures of gene flow. Indeed, landscape genetics studies usually rely on measures of genetic distances between individuals or populations (Waits and Storer, 2016). Population-based measures of genetic distance are often based on the F-statistics F_{st} (Cushman et al., 2016; Jaquiéry et al., 2011). Nevertheless, F_{st} (Wright, 1931) is not exactly a measure of gene flow but a measure of the balance between migration and genetic drift (Prunier et al., 2017). Genetic drift is the natural random fluctuation in allelic frequencies and can lead to genetic differentiation if not overshadowed by migrations (Allendorf, 1986). These fluctuations are all the more significant if at least one of the considered populations is small (Prunier et al., 2017; Whitlock and McCauley, 1999). As a consequence, F_{st} based genetic distance like Nei's G_{st} (Nei, 1977) distances are sensitive to differences between populations sizes (Jaquiéry et al., 2011; Prunier et al., 2017; Richardson et al., 2016). This fact is often underestimated and not taken into account in landscape genetic studies, which can lead to spurious conclusions by supporting other hypothesis like IBB or IBR (Prunier et al., 2017). To address this issue, Prunier et al. (2017) proposed to test the effect of the SHNe as well as IBD as baseline hypothesis in landscape genetic studies.

Amphibian populations are declining worldwide (McCallum, 2007; Stuart et al., 2004; Wake and Vredenburg, 2008) and they are particularly impacted by the loss of habitat at a global scale (Wake and Vredenburg, 2008). This decline is more pronounced in fragmented landscapes (Allentoft and O'Brien, 2010). Amphibians have typically to move to complete their life cycle, particularly during the migration phases – when they move between their breeding sites, foraging sites and wintering sites –,

which makes them particularly sensitive to the structure of the landscape (Nathan et al., 2008; Pittman et al., 2014).

The European common frog (*Rana temporaria* Linnaeus 1758) is widely distributed across Europe. It is a mostly philopatric pond breeding amphibian (adults tend to stay close to the pond where they were born) and moves seasonally from habitat to habitat (Palo et al. 2004). It is known to group together in colonies of two to several hundred individuals during the breeding season (Cooke, 1975).

In this study, we propose to test the effects of isolation-by-distance (IBD), isolation-by-resistance (IBR) and spatial heterogeneity in effective population sizes (SHNe) on genetic differentiation of common frog populations. We particularly tested the relationship between genetic distance and (i) Euclidean distance (IBD), (ii) a stepping-stone route based on the presence of wetlands, which constitute the key habitat for *R. temporaria*, (iii) least-cost distances based on topographic variables (IBR), and (iv) metrics based on SHNe hypothesis.

Because of their sensitivity to landscape structure and their tendency to create populations of heterogeneous sizes, we expect to highlight a IBR and a SHNe effect. We will replicate this analysis on four different landscapes located in the same region.

2.3. Material and methods

2.3.1. Study areas

The four study areas are located in the mountainous department of Savoie, France. Three of them are located around ski resorts – Les Arcs, Les Menuires and Les Saisies. The fourth site, which will serve as a control area, is a montane area with little anthropogenic disturbance partly located in the Vanoise National Park: the Ponthurin valley. The elevation in the study areas ranges from approximately 1000 to 3300 m (Figure 20).

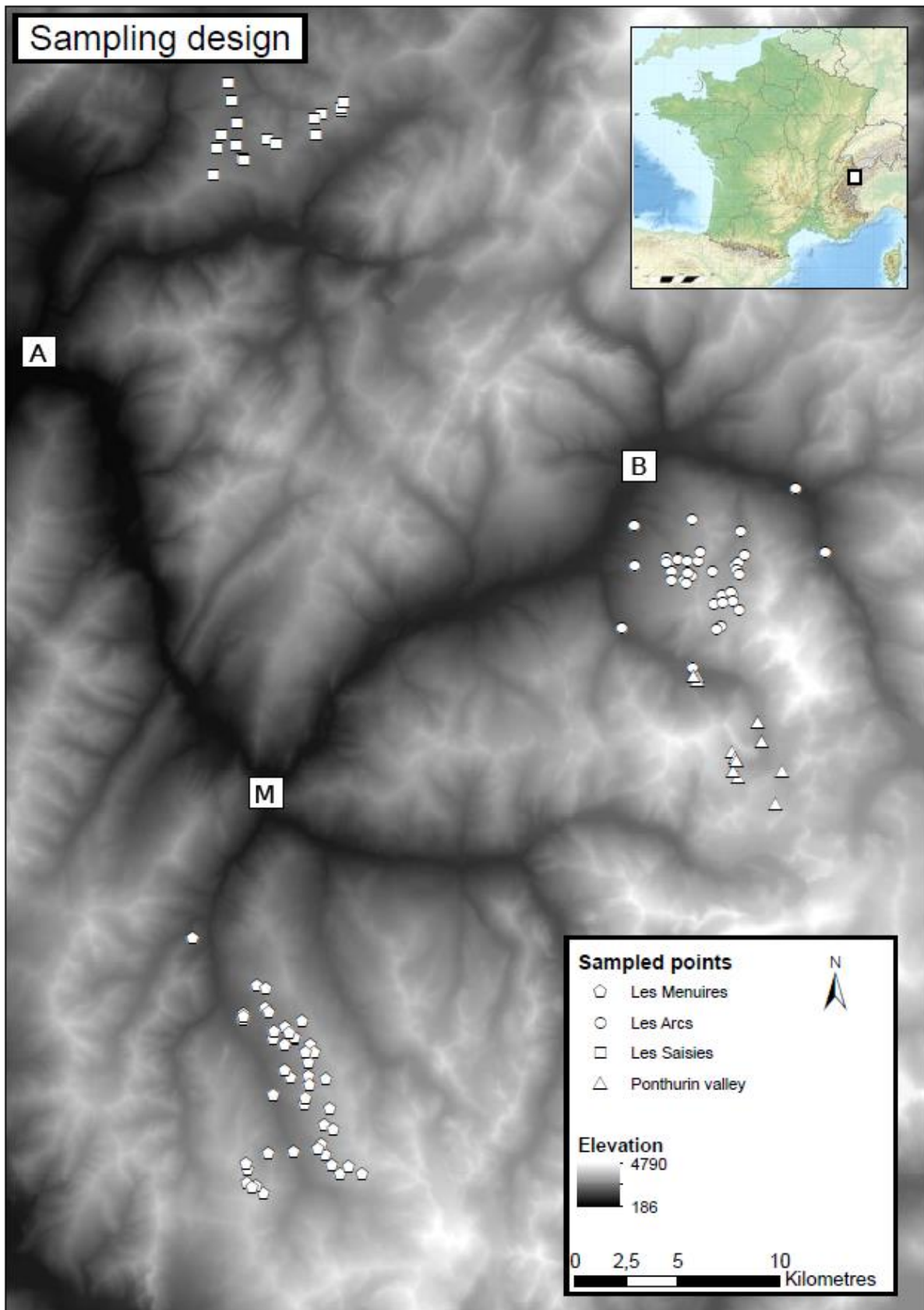


Figure 20 : Sampling design of the four study areas. The nearby cities Albertville (A), Bourg-Saint-Maurice (B) and Moûtiers (M) are indicated with white squares.

2.3.2. Sampling

The field work took place in spring 2016 and 2017 (April-July). We visited every potential breeding site (inventoried lakes, ponds and wetlands, see below) of the study sites during the breeding season of the common frog. We collected at least 20 eggs – depending on the development stage of the clutches – from every breeding point we found. Eventually, a total of 110 breeding points were successfully sampled and analysed: 35 in Les Arcs, 47 in Les Menuires, 16 in Les Saisies, and 12 in the Ponthurin valley (Figure 20).

In every potential breeding site, we visually estimated the number of clutches. These estimations were used as a proxy for population sizes.

The sampling, and more generally the complete experiment were conducted respecting the French laws on protected and endangered species. It was authorized by the Prefecture (administrative centre) of the Savoie department.

2.3.3. Wetland cover

We extracted the surfaces of the wetlands located in the study area from the departmental wetland inventory (http://www.observatoire.savoie.equipement-agriculture.gouv.fr/Communes/situ_ze.php?TZ=9). This inventory is based on the presence of hygrophilous vegetation and includes wetlands or groups of wetlands with a surface of 1000 m² or more. For each study site, we rasterized the wetland surface and calculated the percentage of wetlands in the sampling area. The sampling area is defined as the smaller rectangle in which the sampling points are included.

2.3.4. Lab work

We bred the eggs in the lab until they became big enough to provide sufficient useable genetic material. Once becoming tadpoles, we euthanized them and kept them in alcohol.

The DNA was extracted from the tail muscles of tadpoles using the Sigma-Aldrich Extract-N-Amp kit following manufacturers' instructions. A PCR was conducted using 11 microsatellite markers tested and used by Safner et al. (2011) and Testud (2014): BFG031, BFG142, BFG003, BFG161, BFG203, BFG160, BFG115, BFG237(Matsuba and Merilä, 2009), RtU4 (Berlin et al., 2000), Rtempμ1 and Rtempμ4 (Rowe and Beebee, 2001). Allele scoring was performed with Genemapper 5 (ThermoFisher Scientific). In order to avoid allele mis-scoring, two independent lectures of the microsatellite profiles were performed.

2.3.5. Population genetics analysis

As missing values have a negative impact on genetic structure inference (Reeves et al., 2016), all individuals presenting more than 50% of missing data in their genotype (i.e. more than 5 loci among 11) were discarded.

We performed population genetic analyses, particularly observed versus expected heterozygosity using the functions implemented in the POPGENREPORT package (Adamack and Gruber, 2014) in an R environment (R Core Team, 2017). We checked for null alleles using the method by Brookfield (1996) and tested for Hardy–Weinberg proportions for all the combinations of locations and loci.

2.3.6. Bayesian clustering

We performed a Bayesian clustering analysis with STRUCTURE (Pritchard et al., 2000). Following Gilbert et al. (2012), we utilised a burn-in of 100000 and 100000 repetitions. We activated the LOCPRIOR option that takes into account the sampling point *a priori* for assignment. We repeated the process 15 times for each value of K to gain precision, using the pipeline StrAuto (Chhatre and Emerson, 2017) that allows an automation and parallelization of STRUCTURE runs.

To determine the number of genetic clusters (K), we followed Evanno, Regnaut, & Goudet (2005) and used the statistic ΔK , based on the rate of change in the log probability of data between successive values of K. We calculated ΔK using the web application STRUCTURE HARVESTER (Earl and vonHoldt, 2012).

The modal value of the distribution of ΔK is interpreted as the best estimate of K and corresponds to the uppermost level of genetic structure (Earl and vonHoldt, 2012; Evanno et al., 2005). The height of this modal value is taken as an indicator of the strength of the signal.

Using the best value of K, we analysed all 15 different runs and identified major and minor patterns with CLUMPAK (Kopelman et al., 2015).

2.3.7. Landscape resistance models and spatial heterogeneity in population sizes

We calculated pairwise G_{st} (Nei, 1977) as a measure of genetic differentiation between sampling points using the R package ecodist (Goslee and Urban, 2007). As loci prone to null alleles tend to overestimate metrics derived from F_{st} (Chapuis and Estoup, 2007), we discarded the loci with a null allele frequency > 0.15 to calculate G_{st} .

Following Prunier et al. (2017), we tested the influence of spatial heterogeneity of effective population sizes (SHNe) calculating the demographic metrics d_i and d_{hm} using the number of clutches in every sampling site as a proxy of the effective population size. d_i and d_{hm} are defined as follows:

$$d_i = \frac{N_1 + N_2}{N_1 N_2}$$
$$d_{hm} = -\frac{2N_1 N_2}{N_1 + N_2}$$

With N_1 and N_2 the effective population sizes of populations 1 and 2, respectively.

d_i – distance based on the inverse – was first proposed by Relethford (1991) and derives from the expected loss of heterozygosity in a population at HWE experiencing genetic drift over time with a constant population size. d_{hm} – distance based on the harmonic mean – was first proposed by Serrouya et al. (2012) and is based on the theoretical effect of genetic drift on a population at HWE with a fluctuating population size.

To quantify the effect of landscape structure on genetic distance, we first tested the isolation-by-distance (IBD) hypothesis calculating the Euclidean distance between sampling points. We then tested three possible path models for frog movement between the sampled sites (Figure 21). The first path is a stepping-stone model using wetlands as priority habitat chosen by frogs for dispersal. The model used is a strict stepping-stone model with wetlands included in an undifferentiated landscape matrix and where frogs have to go through the nearest wetland before crossing the matrix (Kimura and Weiss, 1964). The second and third landscape models are least-cost paths calculated using slope (in percent) and elevation (in meters) as resistance surfaces. Using untransformed continuous landscape variables as resistance surfaces amounts to assuming that there is a linear relationship between them and genetic distance (Spear et al., 2010). In our case, we assumed that this is a valid first approach to contrast least-cost paths including environmental variables with IBD. Topographic variables are known to have an effect on gene flow among frogs (Murphy et al., 2010; Richards-Zawacki, 2009). All these routes were calculated using the package `gdistance` (van Etten, 2017) in an R environment (R 3.4.4, R Core Team, 2017).

We fitted these models as maximum likelihood with population effect models (MLPE) following Clarke et al. (2002) using the `mlpe_ga` function in the `ResistanceGA` package (Peterman, 2018) and using G_{st} as a response. We calculated the regression coefficient R^2 using the `r.squaredGLMM` function implemented in the package `MuMIn` (Barton, 2018). We selected the best models using AIC as objective metric (Burnham and Anderson, 2004).

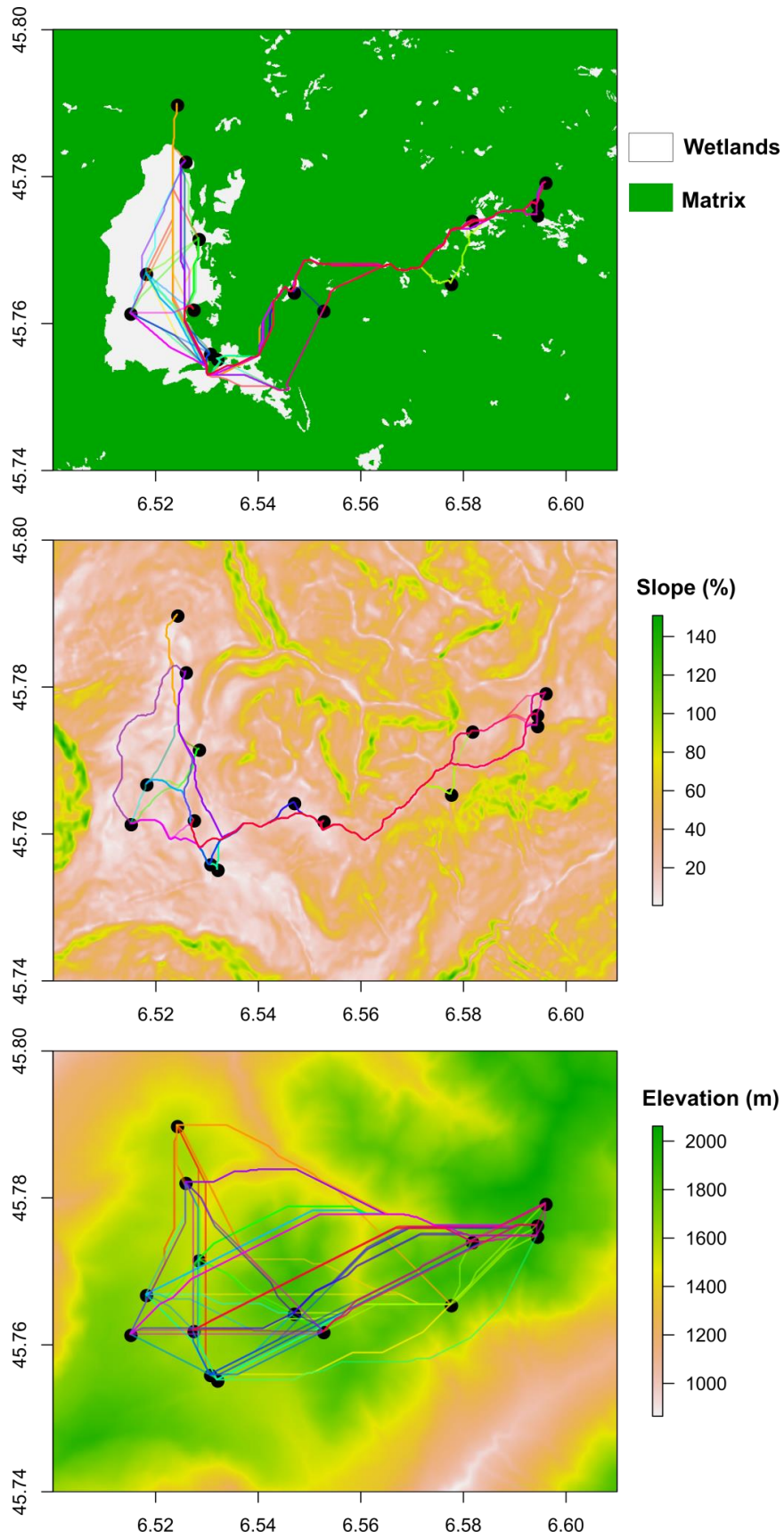


Figure 21 : Maps representing path models for frog connectivity between sampled sites in Les Saisies. Top: stepping-stone model with wetlands included in an undifferentiated landscape matrix. Middle and bottom: least-cost paths calculated using slope and elevation as resistance surfaces, respectively. Black dots represent sampled sites.

2.4. Results

2.4.1. Sampling

The number of clutches per breeding site ranged from 1 to 500. The observed number of clutches was significantly higher in Les Saisies than in Les Arcs and Les Menuires, and significantly higher in the Ponthurin valley than in Les Menuires (Wilcoxon test, $p < .05$). The standard deviation was particularly high in Les Saisies (number of sampled sites $n = 16$); then came Les Arcs ($n = 35$), Les Menuires ($n = 47$) and the Ponthurin valley ($n = 12$) (Figure 22). On average, 17.4 individuals (± 4.2) were analysed per site (18.9, 16.7, 18.5 and 14.6 for Les Arcs, Les Menuires, Les Saisies and the Ponthurin valley, respectively).

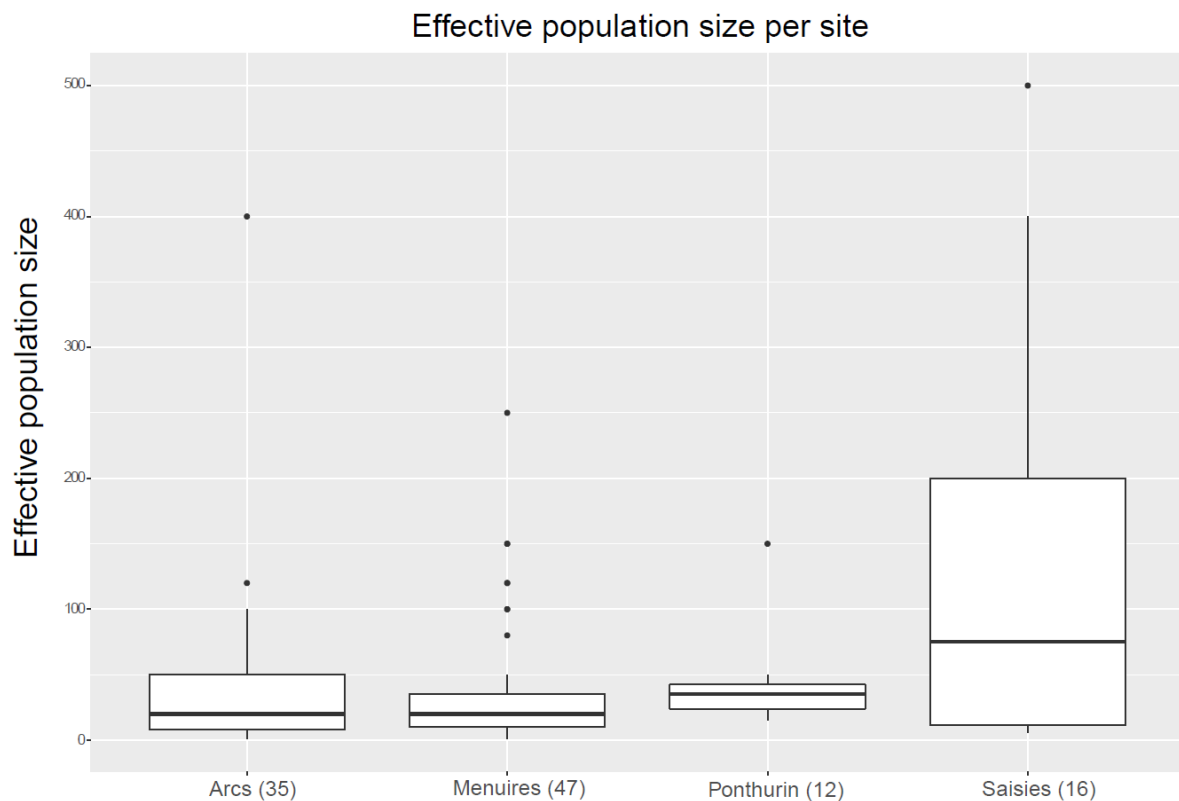


Figure 22 : Effective population sizes in the 4 study sites. The number of sampled points per site is indicated in brackets.

2.4.2. Wetland cover

The percentage of wetlands was highly variable among the different study sites. Les Arcs and the Ponthurin valley presented a very low level of wetland cover (1.6 and 1.8% respectively). The percentage of wetlands was higher in Les Menuires (5.4%) and highest in Les Saisies (20.2%). In the latter, there is particularly one big patch that accounts for 16.6% of the sampling area (see also Figure 25).

2.4.3. Population genetics

We checked for null alleles following the method by Brookfield (1996) implemented in the package PopGenReport (Adamack and Gruber, 2014). The loci all presented low proportion of null alleles (< 10%), except the locus BFG 160 which had a high proportion of null alleles (<15 % in three sites over 4, Figure 23). In the analysis thereafter involving genetic distances, we discarded the locus BFG160 to calculate G_{st} .

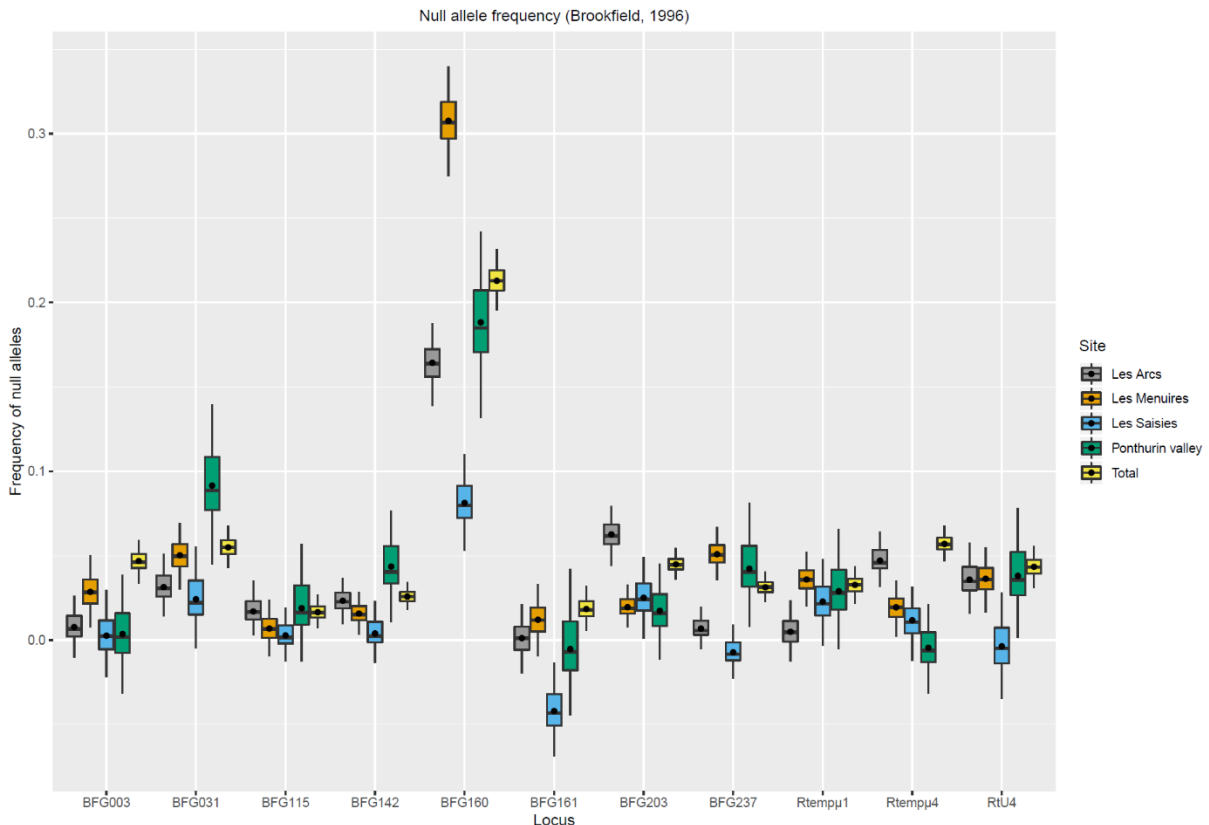


Figure 23 : Frequency of null alleles determined following Brookfield, 1996. Boxplots represent the 2.5th and 97.5th percentiles and the median. Dots represent the observed null allele frequency.

Tableau 3 : Proportion of all the combinations locus / sampled site that depart from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE). The number of loci and sampled sites involved for all the combinations that depart from HWE is also given.

Site	Sampled sites (locations)	Combinations locus / location	Combinations departing from HWE	Number of loci / sampled sites involved
Les Arcs	35	350	23 (6.6%)	9 / 13
Les Menuires	47	470	16 (3.4%)	7 / 9
Les Saisies	16	160	7 (4.4%)	4 / 6
Ponthurin valley	12	120	0 (0%)	0 / 0
Total	110	1100	46 (4.2%)	9 / 28

Tableau 4 : Estimate of expected and observed heterozygosity for the 10 loci considered. A Bartlett test of homogeneity of variance was performed. The p value is also given. A significant result indicates that the population departs from Hardy-Weinberg equilibrium.

Site	Locus	Expected	Observed	% difference	Number of alleles	p value Bartlett
Les Arcs	BFG031	0.808	0.732	9.368	14	0.8387
	BFG142	0.932	0.873	6.282	24	
	BFG003	0.805	0.780	3.103	13	
	BFG161	0.701	0.699	0.275	6	
	Rtempμ4	0.925	0.852	7.954	30	
	BFG203	0.924	0.819	11.362	37	
	BDG115	0.257	0.235	8.783	5	
	BFG237	0.911	0.876	3.859	20	
	Rtempμ1	0.741	0.720	2.721	15	
	RtU4	0.799	0.733	8.166	10	
Les Menuires	BFG031	0.833	0.731	12.275	13	0.7929
	BFG142	0.941	0.909	3.457	30	
	BFG003	0.735	0.686	6.678	12	
	BFG161	0.639	0.617	3.478	6	
	Rtempμ4	0.767	0.720	6.017	16	
	BFG203	0.907	0.869	4.139	25	
	BDG115	0.374	0.363	2.855	7	
	BFG237	0.921	0.828	10.063	20	
	Rtempμ1	0.774	0.711	8.249	17	
RtU4	0.764	0.703	7.976	7		
Les Saisies	BFG031	0.647	0.608	6.006	16	0.9333
	BFG142	0.915	0.907	0.817	24	
	BFG003	0.730	0.726	0.609	18	
	BFG161	0.633	0.705	-11.326	5	
	Rtempμ4	0.828	0.807	2.557	18	
	BFG203	0.888	0.842	5.208	18	
	BDG115	0.266	0.263	1.285	7	
	BFG237	0.918	0.932	-1.527	19	
	Rtempμ1	0.840	0.799	4.880	17	
RtU4	0.641	0.647	-0.953	7		
Ponthurin valley	BFG031	0.793	0.642	18.954	11	0.9373
	BFG142	0.908	0.829	8.756	22	
	BFG003	0.769	0.763	0.820	9	
	BFG161	0.672	0.681	-1.336	6	
	Rtempμ4	0.891	0.900	-0.980	18	
	BFG203	0.895	0.862	3.613	13	
	BDG115	0.296	0.272	8.119	4	
	BFG237	0.887	0.811	8.622	14	
	Rtempμ1	0.774	0.724	6.444	13	
RtU4	0.797	0.731	8.255	9		

Only 46 combinations of locations and loci (involving 9 loci and 28 different sampled sites) out of 1100 (4.2%) departed from Hardy-Weinberg equilibrium with a chi-square test performed with Bonferroni adjustment (Tableau 3). Les Arcs had the highest proportion of non-HWE combinations (6.6%) whereas the Ponthurin valley had the lowest (0%). We can conclude that all the loci were in HWE. Overall expected and observed heterozygosity for the 10 loci ranged from 0.257 and 0.235 to 0.941 and 0.909 (Tableau 4). A Bartlett test of homogeneity of variance was performed and gave a non-significant result for the four sites, which also suggests that the overall populations do not depart from HWE (Tableau 4).

2.4.4. Bayesian clustering

For every site, the Evanno method found between two and three clusters, suggesting a genetic structure. The strength of the signal, *i.e.* the height of the modal value of the distribution of ΔK , was strong in Les Arcs ($\Delta K < 700$) but fairly weak in the other sites, especially in Les Menuires and the Ponthurin valley ($\Delta K < 10$) (Figure 24).

The Ponthurin valley breeding points were separated in three different clusters that were spatially separated, which evoked an isolation-by-distance pattern (Figure 25).

Les Arcs had the strongest ΔK , which implied the presence of two very different clusters. The fact that they were not perfectly spatially separated and that the ΔK value was high suggested that they were other drivers of genetic differentiation than just distance for this site (Figure 25).

Les Menuires presented three genetic clusters with a weak ΔK . These clusters seemed randomly distributed (Figure 25). These results suggested that the level of structuration was low and that we were close to a panmixia situation in this resort.

Les Saisies showed also three genetic groups, with a distribution that may suggest an isolation-by-distance pattern, notably because of the isolation of the North-Eastern group (Figure 25).

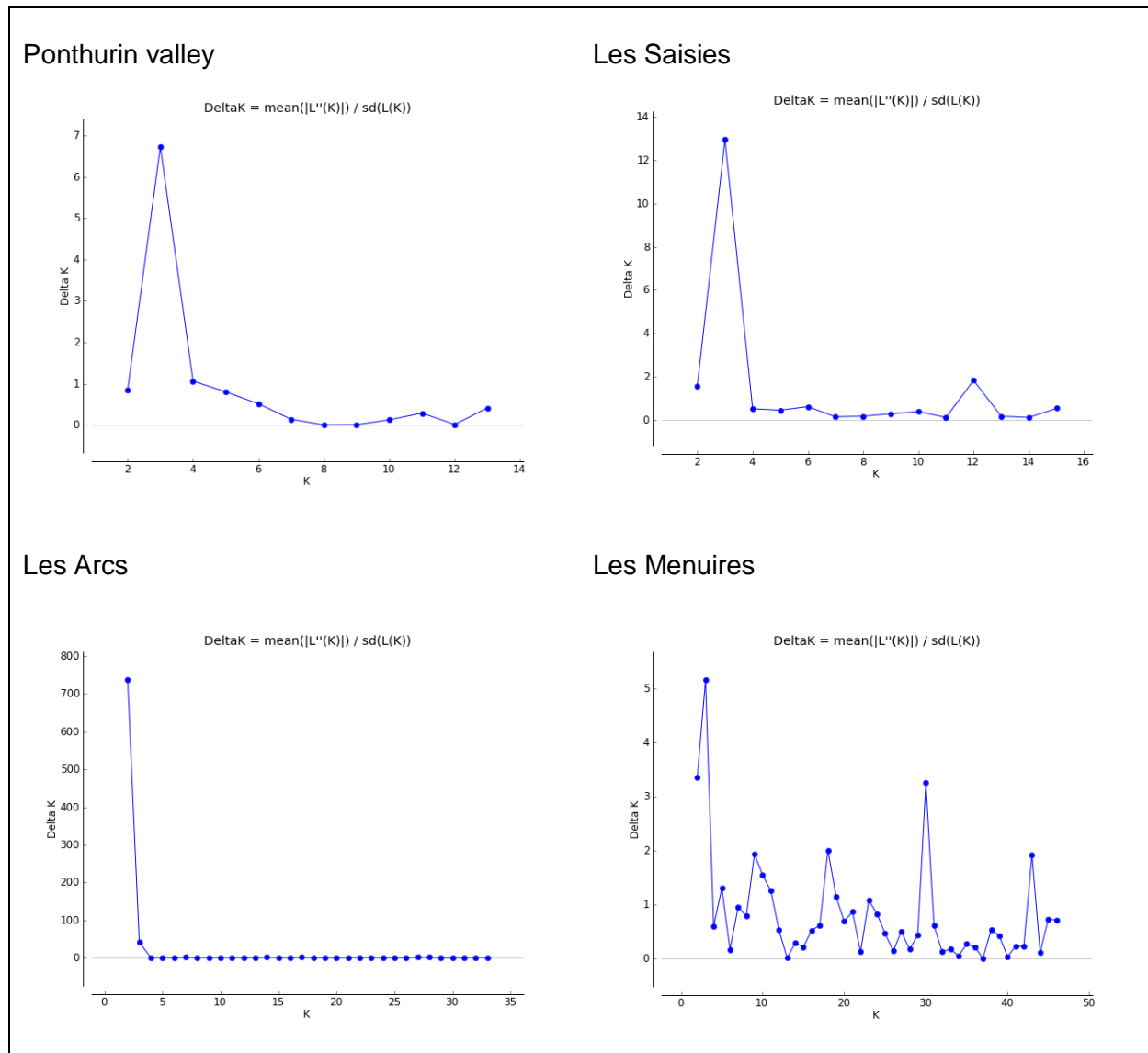


Figure 24 : ΔK plots for the four study sites calculated with the Evanno method (Evanno et al., 2005). The ΔK corresponds to the second order rate of change of the log probability of data with respect to the number of clusters. It is calculated for all the possible values of K, starting from one to the number of sampled sites. Note the difference in scales, in particular for deltaK.

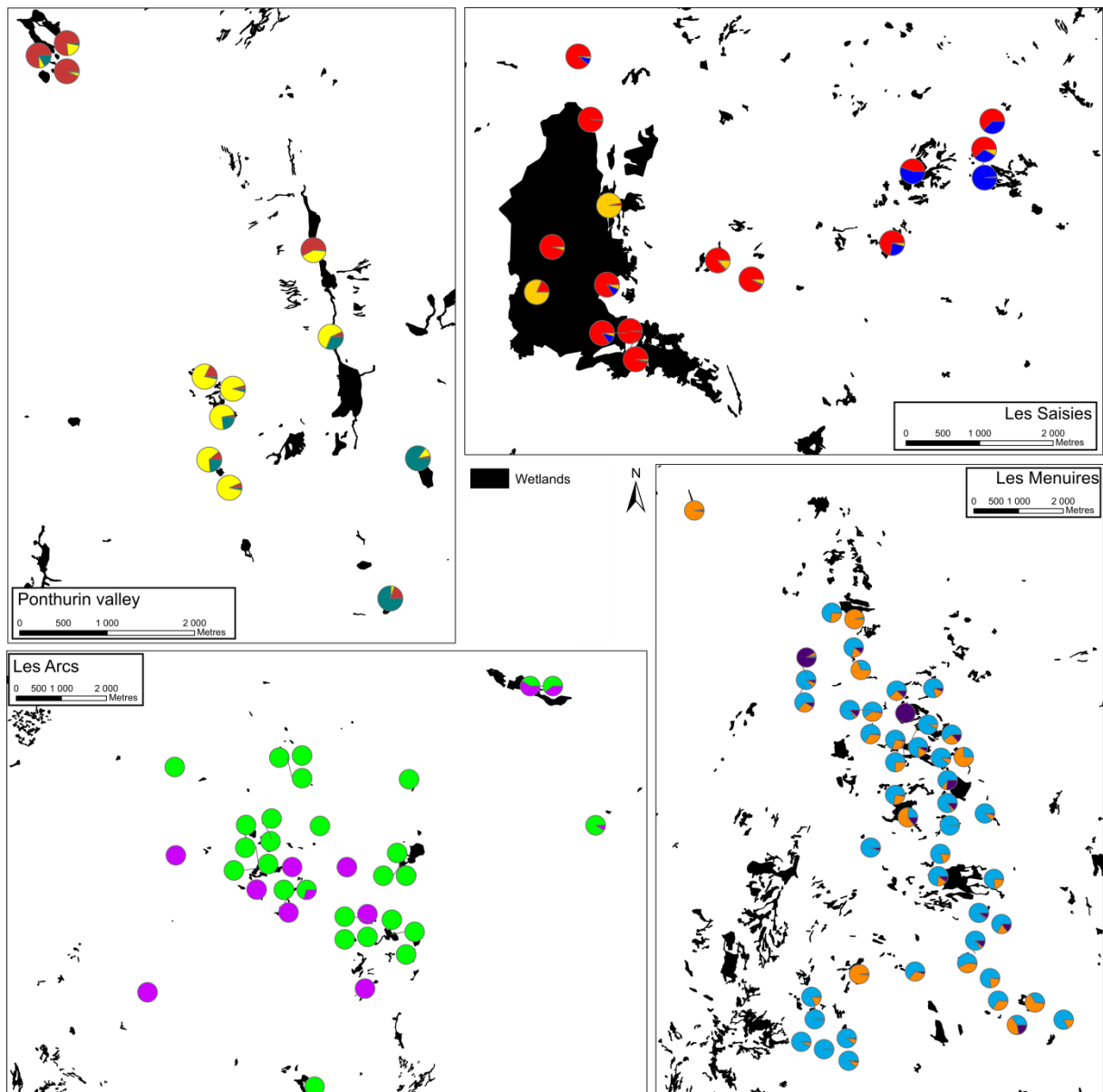


Figure 25 : Uppermost level of genetic structure determined using the STRUCTURE program and the Evanno method. Each pie chart represents the proportion of the two or three clusters for the sampling point considered.

Tableau 5 : The Maximum-likelihood population-effects (MLPE) models results for the four study sites. The Akaike information criterion (AIC) is an indicator of the quality of the model. For each site, the best performing model appears on top. The marginal R2 (R2m) describes the proportion of variance explained by the fixed factor (Euclidean distances eucl and the metrics di and dhm) and the conditional R2 (R2c) describes the proportion of variance explained by both the fixed and the random factors (the population effect).

Site	Model	AIC	ΔAIC	R2m	R2c
Les Arcs	Gst ~ elevation + di	-3639.7	0.0	0.62	0.87
	Gst ~ eucl + di	-3633.9	5.9	0.62	0.87
	Gst ~ wetlands + di	-3630.7	9.0	0.62	0.87
	Gst ~ slope + di	-3629.8	9.9	0.62	0.87
	Gst ~ elevation	-3612.2	27.5	0.03	0.82
	Gst ~ elevation + dhm	-3610.2	29.5	0.03	0.82
	Gst ~ eucl	-3606.4	33.3	0.04	0.82
	Gst ~ eucl + dhm	-3604.4	35.3	0.04	0.82
	Gst ~ wetlands	-3603.4	36.3	0.03	0.82
	Gst ~ slope	-3602.8	36.9	0.03	0.82
	Gst ~ wetlands + dhm	-3601.4	38.3	0.03	0.82
	Gst ~ slope + dhm	-3600.8	38.9	0.03	0.82
	Gst ~ di	-3593.8	45.9	0.61	0.85
	Gst ~ dhm	-3565.6	74.1	0.00	0.79
Les Menuires	Gst ~ slope + di	-7081.2	0.0	0.45	0.85
	Gst ~ elevation + di	-7076.5	4.8	0.45	0.85
	Gst ~ eucl + di	-7071.5	9.8	0.45	0.85
	Gst ~ wetlands + di	-7069.1	12.2	0.45	0.85
	Gst ~ slope	-7063.3	18.0	0.01	0.81
	Gst ~ di	-7063.1	18.1	0.45	0.85
	Gst ~ slope + dhm	-7061.7	19.5	0.01	0.81
	Gst ~ elevation	-7058.0	23.2	0.00	0.81
	Gst ~ elevation + dhm	-7056.4	24.8	0.01	0.81
	Gst ~ eucl	-7053.2	28.0	0.00	0.81
	Gst ~ eucl + dhm	-7051.6	29.6	0.00	0.81
	Gst ~ wetlands	-7050.8	30.5	0.00	0.81
	Gst ~ wetlands + dhm	-7049.0	32.2	0.00	0.81
	Gst ~ dhm	-7042.1	39.1	0.00	0.81
Les Saisies	Gst ~ elevation	-759.3	0.0	0.12	0.77
	Gst ~ elevation + dhm	-758.4	0.9	0.13	0.78
	Gst ~ elevation + di	-758.4	0.9	0.20	0.78
	Gst ~ eucl	-757.5	1.8	0.12	0.77
	Gst ~ eucl + di	-756.6	2.6	0.19	0.78
	Gst ~ eucl + dhm	-756.5	2.7	0.12	0.78
	Gst ~ slope	-755.1	4.2	0.12	0.76
	Gst ~ slope + di	-754.2	5.0	0.19	0.77
	Gst ~ slope + dhm	-753.9	5.4	0.12	0.77
	Gst ~ wetlands	-747.2	12.1	0.08	0.74
	Gst ~ wetlands + di	-746.5	12.8	0.16	0.75
	Gst ~ wetlands + dhm	-746.0	13.3	0.09	0.75
	Gst ~ dhm	-723.8	35.5	0.01	0.68
	Gst ~ di	-723.5	35.7	0.08	0.67
Ponthurin valley	Gst ~ eucl	-383.5	0.0	0.08	0.66
	Gst ~ eucl + dhm	-383.3	0.2	0.14	0.69
	Gst ~ eucl + di	-382.1	1.4	0.14	0.67
	Gst ~ elevation	-381.7	1.8	0.06	0.65
	Gst ~ elevation + dhm	-381.4	2.1	0.12	0.67
	Gst ~ elevation + di	-380.3	3.2	0.12	0.66
	Gst ~ wetlands	-379.3	4.2	0.04	0.63
	Gst ~ wetlands + dhm	-379.2	4.3	0.11	0.66
	Gst ~ slope	-379.1	4.4	0.04	0.64
	Gst ~ slope + dhm	-378.6	4.9	0.09	0.66
	Gst ~ wetlands + di	-377.9	5.7	0.10	0.64
	Gst ~ slope + di	-377.7	5.8	0.09	0.65
	Gst ~ dhm	-375.8	7.7	0.05	0.61
	Gst ~ di	-375.0	8.5	0.06	0.61

2.4.5. Landscape effect and heterogeneity in effective population sizes

The best performing model varied among the study sites: it included either Euclidean distance alone (Ponthurin valley), elevation alone (Les Saisies) or a measure of SHNe (di) associated with a landscape variable (Les Arcs and Les Menuires with elevation and slope, respectively) (Tableau 5). The stepping-stone model based on wetland cover was not part of any best performing model.

The proportion of genetic variance explained by the model (R^2_m) ranged from .08 to .62. It was particularly high for models involving di with R^2_m equaling .45 (Les Menuires) and .61 (Les Arcs). In terms of SHNe, the metric di performed better than d_{hm} . Nevertheless, the SHNe metrics tended to decrease the quality of the models for Les Saisies and the Ponthurin valley, which suggested that there was no effect of spatial heterogeneity in population sizes in these two sites.

2.5. Discussion

The four landscapes we studied are located in the same region and could have been considered, at first sight, similar, especially Les Arcs and Les Menuires (two ski resorts at same elevation range). The variability of the genetic patterns observed among them highlights the importance of performing landscape genetics studies on multiple landscapes, which is still rarely done (Balkenhol and Fortin, 2016; Short Bull et al., 2011).

The ski resort of Les Arcs and its surroundings is the site with the lowest wetland cover (1.6%) and presents the most genetically structured amphibian populations. The loss of structural connectivity is a plausible cause of low functional connectivity for the frogs. The low dispersal rate of amphibians can be a cause of population declines, particularly in fragmented landscapes (Allentoft and O'Brien, 2010). Kovar et al. (2009) showed that 75% of the studied common frogs moved less than 346 m during the spring migration, in less mountainous areas. In the context of wetland losses in Alpine ski resorts (Dubois and Gaucherand, 2012; Gaucherand and Isselin-Nondedeu, 2011; Gaucherand et al., 2009), this fragmentation of the landscape could lead to more genetic fragmentation, which could cause management and conservation issues and increase the risk of local extinction (Frankham, 2005; Frankham et al., 2017). At the same time, the stepping-stone model based on wetlands we tested is not supported by landscape genetic analysis (Tableau 5), which suggests that there are other drivers for genetic differentiation in the four studied landscapes.

The Ponthurin valley is a natural landscape with little anthropogenic disturbance. The level of genetic structuration is low (Figure 24) and presents an isolation by distance pattern that is highlighted by genetic clustering (Figure 25) and confirmed by landscape genetic analysis (Tableau 5). Les Saisies also have a low level of structuration (Figure 24) but present a population spatially separate from the others (blue cluster in Figure 25). This population is located at a higher altitude than the others (Figure 21) and the landscape genetic analysis confirm an isolation-by-elevation pattern (Tableau 5).

Les Arcs and Les Menuires have genetic structure influenced by both topography (elevation and slope, respectively) and spatial heterogeneity in effective population sizes. The SHNe metrics proposed by Prunier et al. (2017), especially d_i , can explain 45% (Les Menuires) to 61% (Les Arcs) of the variance of the genetic differentiation, way more than elevation ($R^2_m = .03$ for Les Arcs) and slope ($R^2_m = .01$ for Les Menuires). The metric d_i performed better than d_{hm} . These two metrics behave slightly differently when population sizes vary. In particular, d_{hm} decreases less rapidly than d_i when one of the two demes increase, which makes it more robust than d_i when the estimates of the population sizes are imprecise or questionable, or when environmental proxies for local carrying capacities are used instead of estimates of effective population sizes (Prunier et al., 2017). Here, we used a rather reliable estimate of N_e (visual evaluation of the number of clutches), which is coherent with a stronger effect of the most sensitive d_i metrics in our study.

There was no effect of spatial heterogeneity in population sizes on measured genetic differentiation (G_{st}) in Les Saisies and the Ponthurin valley. This can be due to the fact that G_{st} is a balance between migration and genetic drift, which itself is more important if one of the two considered populations is small. In this case, the absence of an SHNe effect can be either due to genetic drift being overshadowed by migration or due to low heterogeneity in population sizes (see for instance the Ponthurin valley on Figure 22).

When present, the effect of SHNe can be very important. In our results, it can explain up to 61% of the variance observed in genetic differentiation, but it can go up to 80% in simulated datasets (Prunier et al., 2017). In our study, its use in the models did not change the hierarchy of best models based on AIC (Tableau 5) but it can theoretically alter the determination of landscape predictors of gene flow if a SHNe metric is correlated to a least-cost or resistance distance and acts as a statistical suppressor in the mixed model (Paulhus et al., 2004; Prunier et al., 2015).

We therefore strongly recommend taking population size heterogeneity into account when performing population-based landscape genetics analysis, particularly when using F_{st} -derived genetic distances. The sensitivity of these population-based genetic distances to the populations sizes is known and debated in the literature (Jost, 2008; Meirmans and Hedrick, 2011; Whitlock, 2011) but rarely taken into account in landscape genetic studies (Prunier et al., 2017), particularly if there are high variations in populations sizes (Figure 22, Tableau 5). Indeed, except for Les Saisies (maybe due to the small number of sampled sites – 16), the larger the standard deviation of effective population sizes is, the more important the contribution of the metric d_i to the genetic variance (Figure 22, Tableau 5). Not taking the SHNe hypothesis into account in landscape genetics studies could lead to spurious conclusions and maybe inadequate conservation and management measures.

2.6. Author contributions

EB, SG and BR designed the study; EB performed the field work; EB and MC performed laboratory work and microsatellite lecture under the supervision of VA; EB and MC analysed data with the help of CM, EB wrote the manuscript with contributions from SG, CM and BR.

2.7. Acknowledgements

This study has been funded by the Agence de l'eau Rhône-Méditerranée-Corse (French water agency). The authors would also like to thank Claude Miaud for his valuable advice, Gabriel Chambonnet for his participation in the field work and the Vanoise National park and the ski resorts of Les Arcs, Les Menuires and Les Saisies for their support and data.

This experiment has been conducted respecting French laws on protected species with the authorization of the Savoie prefecture whom we would like to thank for their trust.

3. Conclusion : l'hétérogénéité spatiale des tailles de populations peut avoir un effet important sur les distances génétiques mesurées

Dans ce chapitre, nous avons montré que, quand on utilise des distances génétiques populations-centrées dérivées de la Fst dans des études de génétique du paysage, **l'hétérogénéité des tailles efficaces de populations pouvait fausser la distance génétique mesurée**. Ceci est particulièrement notable dans deux de nos sites d'études : les domaines skiables des Arcs et des Menuires. Nous recommandons en conséquence de tester ce type d'influence de la SHNe pour ce type d'études, sous peine de risquer de se tromper dans l'identification des variables paysagères ayant un impact sur le flux de gènes.

Nous n'avons pour le moment testé que des modèles paysagers simples basés soit sur la topographie (pente et altitude) soit sur la configuration du réseau de zones humides. Or, les domaines skiables sont des paysages complexes qui comprennent également d'autres variables naturelles (type de végétation, cours d'eau...) ou anthropiques (pistes de ski, routes, bâtiments...) susceptibles de jouer un rôle dans la connectivité fonctionnelle. Nous allons les étudier dans le chapitre suivant en n'oubliant pas de tenir compte de la SHNe dans nos analyses.

Pour ce faire, nous allons nous concentrer sur l'étude du site le plus fragmenté génétiquement (Les Arcs) et de la zone témoin (la vallée du Ponthurin).

Chapitre 3



John P. Soule, vers 1876

**'Cause baby there ain't no mountain high enough
Ain't no valley low enough
Ain't no river wide enough
To keep me from getting to you babe.**

Marvin Gaye, *Ain't no mountain high enough*, 1966

1. Introduction : les surfaces de résistance comme moyen de représenter et tester la connectivité fonctionnelle du paysage

1.1. La surface de résistance pour représenter la perméabilité du paysage

Nous avons montré que dans les études de génétique du paysage, il était nécessaire de s'assurer de la fiabilité de ses données génétiques. La génétique du paysage consiste à déterminer l'impact de la structure du paysage sur les flux de gènes. Pour cela, un moyen commun de représenter le paysage est l'utilisation de **surfaces de résistance**. Une surface de résistance est une couche raster géoréférencée représentant le paysage. Chaque pixel contient une valeur représentant la résistance (l'inverse de la perméabilité) au mouvement du paysage à l'endroit correspondant (Murphy et al., 2008; Spear et al., 2016, 2010).

Tout l'enjeu de la génétique du paysage est de déterminer quelle surface de résistance explique au mieux la structure génétique observée. Pour ce faire, la surface de résistance est convertie en mesures de **distances de résistance** entre chaque couple d'observation. Ainsi, une comparaison est directement possible avec les distances génétiques, elles aussi mesurées deux à deux. Pour calculer des distances de résistance sur la base de surfaces de résistance, deux techniques principales sont utilisées (Figure 26) :

- Les chemins de moindre coût (*least-cost paths*) qui tentent de minimiser la résistance cumulée totale entre les deux points considérés (Adriaensen et al., 2003) ;
- Les chemins de résistance, basés sur la théorie des circuits, qui allient les chemins de moindre coût et l'existence de chemins alternatifs, ce qui se veut biologiquement plus justifié que les seuls chemins de moindre coût (Chandra et al., 1996; McRae, 2006).

1.2. Paramétrer une surface de résistance en génétique du paysage

La question du paramétrage des surfaces de résistance est âprement discutée dans la littérature (Milanesi et al., 2017; Spear et al., 2016, 2010; Zeller et al., 2012). En effet, la relation entre les variables paysagères – qui peuvent être soit continues comme l'altitude, la pente, etc. ou catégorielles comme la couverture du sol – et la résistance n'est jamais évidente. Utiliser des variables continues telles quelles dans les modèles (comme nous l'avons fait dans le chapitre 2) revient à faire l'hypothèse qu'il existe une relation linéaire entre variable et résistance.

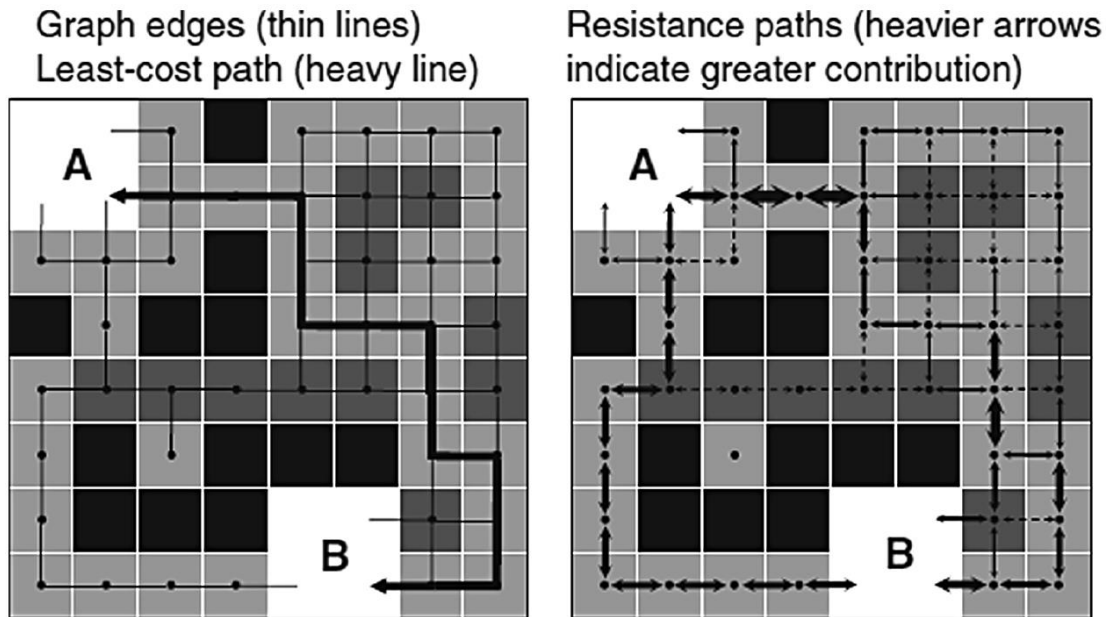


Figure 26 : Différence entre le calcul d'un chemin de moindre coût (gauche) et d'un chemin de résistance (droite) entre deux points A et B (Spear et al., 2016). La résistance de chaque pixel est d'autant plus grande qu'il est foncé. A droite, plusieurs chemins possibles sont calculés et la taille des flèches est d'autant plus importante que leur contribution à la connectivité est forte.

Or, cette relation peut être tout autre (e.g. Hanks and Hooten, 2013; Trumbo et al., 2013). Ainsi, faire et tester des hypothèses sur la relation variable-résistance sur la base de la connaissance que l'on a de la biologie de l'espèce cible devient nécessaire (Hall and Beissinger, 2014; Spear et al., 2016). Toutefois, il existe une multitude de relations possibles entre les variables paysagères et la résistance et il n'est pas aisé d'obtenir une surface de résistance optimale. Des techniques d'optimisation de surfaces en génétique du paysage existent depuis une dizaine d'années (Shirk et al., 2010; Wang et al., 2009). Elles consistent à faire varier manuellement ou de manière automatique les paramètres de la surface de résistance en tentant de maximiser la qualité du modèle (mesurée par l'AIC, la vraisemblance ou le coefficient de corrélation par exemple). Ces techniques sont de plus en plus automatisées et font appel à des algorithmes d'optimisation statistique (Hanks and Hooten, 2013; Peterman, 2018).

Dans ce chapitre, nous proposons une nouvelle méthode de paramétrage de résistances de résistance pour quantifier la perméabilité des domaines skiabiles pour la Grenouille rousse.

2. Landscape genetics reveals wetland network importance for the landscape connectivity of a mountain amphibian

Etienne Boncourt¹, Stéphanie Gaucherand¹ & Björn Reineking¹

¹ Univ. Grenoble Alpes, Irstea, LESSEM, 38000 Grenoble, France

Article soumis à la revue *Molecular ecology*.

2.1. Abstract

Linear human infrastructures can act as ecological barriers for animals and limit gene flow within a landscape. While the effects of roads and railways on animal movement have been widely studied, the effects of infrastructures related to mountain activities like ski runs are less well known. Here, we characterise the landscape-level genetic structure of the European common frog (*Rana temporaria*) with ten microsatellite markers and 46 sampling points located in a ski resort and a non anthropized landscape used as a control. We construct optimized resistance surfaces by combining circuit theory and simulated annealing. We analysed the importance of landscape variables related to key habitat features (distance to wetlands), topography (slope, elevation), main land cover classes, and specific potential anthropogenic barriers (roads, ski runs). Populations were strongly differentiated in the anthropized area and not differentiated in the control area. We found that a potential ski run effect on frog movement is overshadowed by the importance of short distances between wetlands (< 2km) to provide a high level of functional connectivity. The best models obtained explain 77% and 87% of the observed genetic differentiation in the two study sites, respectively. Our results are relevant in a perspective of conservation in human-transformed mountain landscapes and can inform recommendations for ski resort management.

Keywords: functional connectivity, optimization, resistance surface, ski resort, ski run, mountain ecology

2.2. Introduction

Landscape connectivity, i.e the degree to which the landscape facilitates or impedes movement, is essential for species persistence (Taylor et al., 2006). Indeed, dispersal, i.e. individual movement that has consequences on gene flow within a landscape (Ronce, 2007), strongly depends on landscape structure (Baguette et al., 2013). By modifying landscape structure – fragmenting and destroying natural habitat, building infrastructures that can act as ecological barriers – human activities can reduce or even cut off gene flow (Baguette et al., 2013; Vignieri, 2005). This loss of landscape connectivity can isolate populations (Baguette et al., 2013; Frankham et al., 2017) that are therefore at higher risk of extinction (Frankham, 2005; Frankham et al., 2017).

Resistance surfaces, i.e. layers representing the considered landscape to which we assign a resistance value per surface unit, synthesize landscape structure and can be useful for managing biodiversity (Hall and Beissinger, 2014; Spear et al., 2010; Zeller et al., 2012). Nevertheless, the way to parametrize these resistance values is still discussed and often relies on expert opinion (Milanesi et al., 2017; Spear et al., 2016, 2010). Unfortunately, expert based models do not always outperform randomness, which makes them rather unreliable (Charney, 2012; Shirk et al., 2010). The parametrization ideally relies on empirical data like habitat suitability models (Almpanidou et al., 2014; Wang et al., 2008), movement data (Stevens et al., 2006), or genetic data (Spear et al., 2016). Using genetic data is the most obvious way to estimate gene flow. Nevertheless, there is no consensus yet on how to best use this genetic information for the estimation of resistance surfaces. Promising methods have emerged to optimize the resistance surfaces parameters. These methods consist in using and evaluating – manually or automatically – different resistance surfaces for every landscape variable tested to get better models (Graves et al., 2013; Peterman, 2018; Vergara et al., 2017; Wang et al., 2009). Among them, the one implemented in the ResistanceGA R package (Peterman, 2018) proposes to use an automated optimization framework relying on genetic algorithms and provides promising results (e.g. Khimoun et al., 2017). Nevertheless, it allows testing only a limited number of different relationships between the studied landscape variables and resistance. Moreover, it does not allow the addition of competing hypothesis such as the effect of spatial heterogeneity in effective population sizes on measured genetic differentiation (Prunier et al., 2017).

Alpine ecosystems are important for biodiversity but are sensitive to human development, especially to new infrastructures related to tourism (Sato et al., 2013; Strong et al., 2002; WWF, 2005). Ski resort management modifies the vegetation, especially on ski runs (Kubota and Shimano, 2010). It has been shown that ski runs can then impact the community structure of several taxa like mammals (Hadley and Wilson, 2004), birds (Laiolo and Rolando, 2005), orthoptera (Keßler et al., 2012) or reptiles (Sato et al., 2014b). Nevertheless, little is known about the potential impacts of human winter leisure activities, especially ski runs, on connectivity (Sato et al., 2013).

Amphibians are particularly impacted by the loss of habitat at a global scale (Cushman, 2006; Wake and Vredenburg, 2008), resulting in worldwide population declines (McCallum, 2007; Stuart et al., 2004; Wake and Vredenburg, 2008). There are multiple causes to this decline, one of them being the low dispersal rate of amphibians, particularly in fragmented landscapes (Allentoft and O'Brien, 2010). Amphibians generally need to move to complete their life cycle. This is particularly true during the migration phases – when they move between their breeding sites, foraging sites and wintering sites – but also at a smaller time scale for their daily movement when they forage or search for a daytime refuge (Nathan et al., 2008; Pittman et al., 2014). Understanding how amphibians move in a landscape is a key component to improve their conservation and to better understand the decline of their populations (Pittman et al., 2014).

In this study (i) we test the effect of human infrastructures related to ski resorts, especially ski runs and roads, on landscape permeability for amphibians, (ii) more generally we study the drivers of amphibian movement in mountainous landscapes. To do this, we develop a new method of optimization of resistance surfaces coupled with stepwise variable selection. We perform the analysis on European common frog (*Rana temporaria* Linnaeus 1758) populations. This species is widely distributed across Europe. Its altitudinal range goes from 0 to almost 2800 m (Tiberti and von Hardenberg, 2012) due to exceptional adaptation to cold climates (Beattie, 1987; Ludwig et al., 2015; Miaud et al., 1999; Ryser, 1996). It is commonly found in the French Alps, included in the ski resorts wetlands. It is a mostly philopatric pond breeding amphibian (adults tend to stay close to the pond where they were born) and moves seasonally from habitat to habitat (Palo et al. 2004). It is known for being sensitive to modifications of the landscape matrix (Hitchings and Beebee, 1997; Johansson et al., 2005, Vos et al., 2007, Decout et al., 2012). It has already been used as a biological model for landscape genetic studies and genetic markers for this species have already been developed and tested (Berlin et al., 2000; Matsuba and Merilä, 2009; Rowe and Beebee, 2001).

2.3. Material and methods

2.3.1. Study area

The study area is located in the department of Savoie, France. We have two study sites: the ski resort of Les Arcs and its surroundings and the Ponthurin valley. The latter is located in the Vanoise national park and is used as a control area.

The ski resort landscape is highly anthropized, with ample presence of roads, ski runs, ski lifts and suburban areas – while the Ponthurin valley is wilder with little infrastructure beside trails. The elevation in the study area ranges from approximately 1000 to 3600 m.

2.3.2. Sampling

The field work took place in spring 2016 and 2017 (April-July). At both study sites, we visited every potential breeding site (inventoried lakes, ponds and wetlands, see below) of the study areas during the breeding season of the common frog. We collected at least 20 eggs or tadpoles – depending on the development stage of the clutches – from every breeding point we found.

Eventually, a total of 46 breeding points were successfully sampled and analysed: 34 in the ski resort and its surroundings, 11 in the control area and 1 located between them and included the analysis of both sites thereafter (Figure 27).

The sampling, and more generally the complete experiment were conducted respecting the French laws on protected and endangered species. It was authorized by the Prefecture (administrative centre) of the Savoie department and by the Vanoise national parc.

2.3.3. Lab work

We bred the eggs in the lab until they became large enough to extract sufficient genetic material. Once becoming tadpoles, we euthanized them and kept them in alcohol.

The DNA was extracted from the tail muscles of tadpoles. It was done with a Qiagen kit following manufacturers' instructions. A PCR was conducted using 11 microsatellite markers tested and used by Safner et al. (2011) and Testud (2014): BFG031, BFG142, BFG003, BFG161, BFG203, BFG115, BFG237 (Matsuba and Merilä, 2009), RtU4 (Berlin et al., 2000), Rtemp μ 1 and Rtemp μ 4 (Rowe and Beebee, 2001). Allele scoring was performed with Genemapper 5 (ThermoFisher Scientific). In order to avoid allele mis-scoring, two independent lectures of the microsatellite profiles were performed.

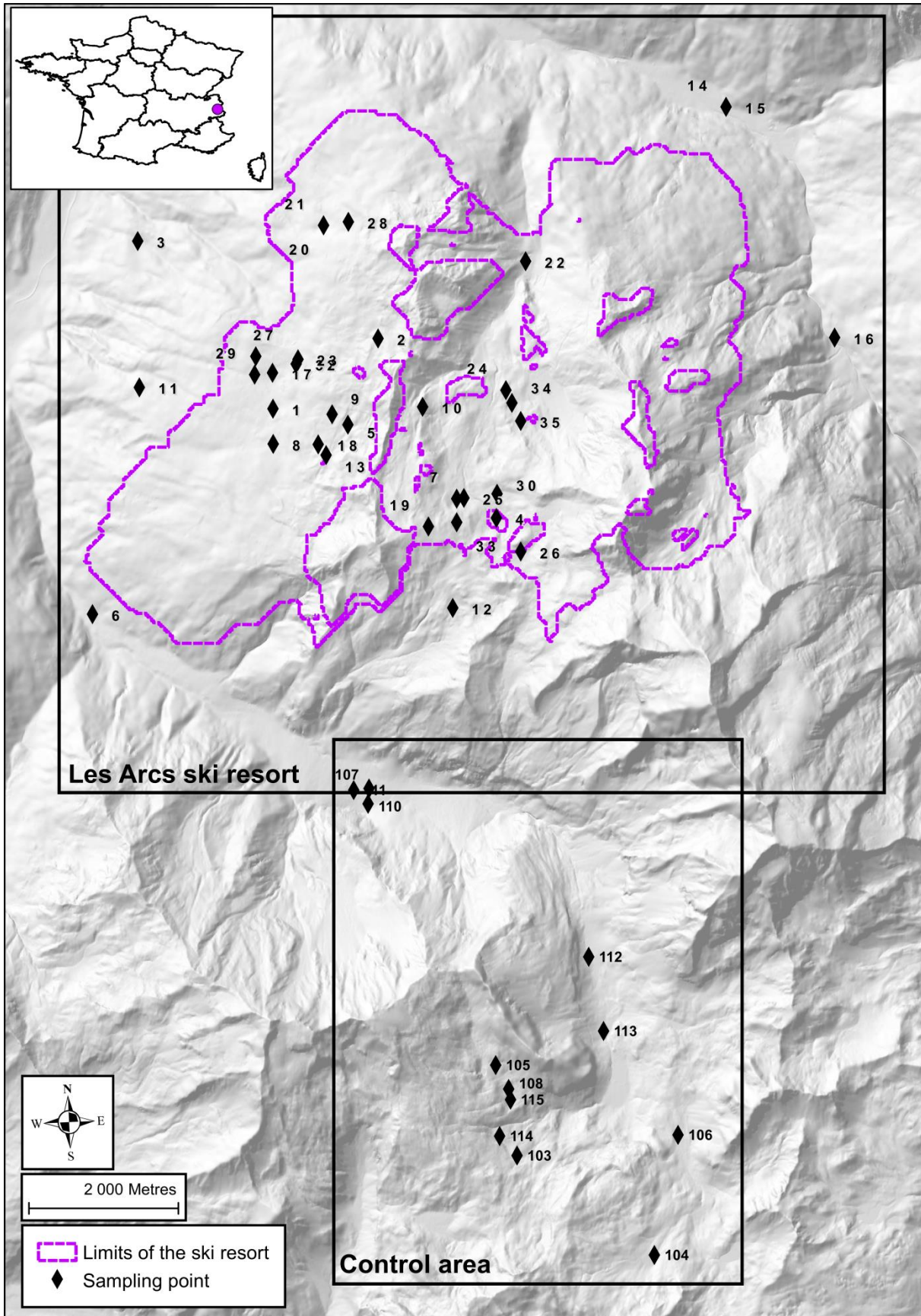


Figure 27 : Sampling design in the two study sites. 34 sampled points are exclusively located in the ski resort or its surroundings, 11 are located in the control area and the sampling site #107 is located both in the ski resort surroundings and the control area.

2.3.4. Population genetics

As missing values negatively impact genetic structure inference (Reeves et al., 2016), we chose to discard all individuals presenting more than 50% of missing data in their genotype (*i. e.* more than 5 loci among 10).

We performed population genetic analysis, specifically observed versus expected heterozygosity, using the POPGENREPORT package (Adamack and Gruber, 2014) in R (R Core Team, 2017). We checked for null alleles using the method by Brookfield (1996) and tested for Hardy–Weinberg proportions for all combinations of locations and loci.

2.3.5. Bayesian clustering

We performed a Bayesian clustering analysis with STRUCTURE (Pritchard et al., 2000). Following Gilbert et al. (2012), we utilised 100000 burn-in and 100000 repetitions. We activated the LOCPRIOR option that takes into account the sampling point *a priori* for assignment. We repeated the process 15 times for each value of K to gain in precision, using the pipeline StrAuto (Chhatre and Emerson, 2017) that allows an automation and parallelization of STRUCTURE runs.

To determine the true number of genetic clusters (K), we followed Evanno, Regnaut, & Goudet (2005) and used an ad hoc statistic, ΔK , based on the rate of change in the log probability of data between successive values of K. We calculated ΔK using the web application STRUCTURE HARVESTER (Earl and vonHoldt, 2012).

The modal value of the distribution of ΔK is interpreted as the best estimate of K and corresponds to the uppermost level of genetic structure (Earl and vonHoldt, 2012; Evanno et al., 2005). The height of this modal value is taken as an indicator of the strength of the signal.

Given a best value of K, we analysed all 15 different runs and identified major and minor patterns with CLUMPAK (Kopelman et al., 2015).

2.3.6. Genetic distance and SHNe

We calculated pairwise G_{st} (Nei, 1977) based on Wright's F-statistics F_{st} as a measure of genetic differentiation between sampling points using the R package ecodist (Goslee and Urban, 2007).

F_{st} -based statistics are not exactly a measure of gene flow but a measure of the balance between migration and genetic drift (Prunier et al., 2017). Genetic drift is the natural random fluctuation in allelic frequencies and can lead to genetic differentiation if not overshadowed by migrations (Allendorf, 1986). These fluctuations are all the more significant if at least one of the populations considered is small (Prunier et al., 2017; Whitlock and McCauley, 1999). As a consequence, F_{st} based genetic distances are sensitive to differences between populations sizes (Jaquièrey et al., 2011; Prunier et al., 2017; Richardson et al., 2016). This fact is often underestimated and not taken into account in

landscape genetic studies, which can lead to spurious conclusions (Prunier et al., 2017). Following Jérôme G. Prunier et al. (2017), to address that issue, we accounted for the potential influence of spatial heterogeneity of effective population sizes (SHNe) calculating the demographic metric d_i using the number of clutches in every sampling site as a proxy of the effective population size.

2.3.7. Landscape variables

Different types of factors can affect landscape resistance. These landscape variables can be related to the main habitat of frogs (wetlands), topography, land cover, or anthropogenic barriers. We assessed the effect of 9 landscape variables on gene flow (Figure 28). For that we created 10 layers divided in a. putative barriers; b. continuous landscape variables; c. land cover; d. a null model with a constant resistance throughout the landscape, which corresponds to an Isolation-by-distance (IBD) model. We set the resolution of all the resistance surfaces to 50 m as a compromise between a detailed representation of the landscape and computational tractability.

The putative barriers are represented as binary variables: roads and ski runs are made respectively from the primary and secondary roads and the permanent watercourses layers extracted from the `bd_topo` database provided by the Institut Géographique national (IGN – downloadable at <http://professionnels.ign.fr/bdtopo>), ski runs are based on the data provided by the ski resort of Les Arcs and the ridges are determined as the areas with a null flow accumulation calculated in a GIS.

The continuous variables elevation, slope and topographic wetness index are calculated from a 5 m resolution digital elevation model provided by the `bd_alti` database (<http://professionnels.ign.fr/bdtopo>). The distance from the wetlands is calculated in a GIS using the departmental wetland inventory (http://www.observatoire.savoie.equipement-agriculture.gouv.fr/Communes/situ_ze.php?TZ=9). This inventory is based on the presence of hygrophilous vegetation and includes wetlands or groups of wetlands with a surface of 1000 m² or more.

The land cover layer is based on the THEIA land cover map (made using Sentinel 2 images and downloadable at www.theia-land.fr/en/products/land-cover-map) that we reclassified in 7 classes: grassland, woody moorlands, forests, urban areas, mineral surfaces, water, and wetlands.

2.3.8. Optimization framework

Resistance values for each landscape variable were independently optimized maximizing the relationship between the pairwise genetic distances and the pairwise resistance distances between sampled points. For a given resistance value, resistance distances were calculated using the `commuteDistance` function (Chandra et al., 1996; Fouss et al., 2007; McRae, 2006) implemented in the R package `gdistance` (van Etten, 2017). `commuteDistance` is known for performing generally better than least-cost path (e.g. Khimoun et al., 2017). Genetic distance was then modelled as a function of the resistance distance and the SHNe metric d_i as fixed effects and the population as

random effect using a maximum-likelihood population effects mixed effects model (MLPE) (Clarke et al., 2002) implemented the `mlpe_rga` function of the R package `ResistanceGA` (Bates et al., 2015; Peterman, 2018).

Optimum resistance values were found by maximizing the likelihood of the MLPE using the simulated annealing algorithm implemented in the R package `GenSA` (Xiang et al., 2013). This package is known to perform better than most evolutionary algorithms in terms of the quality of the solution found and its speed (Mullen, 2014).

Every continuous variable was optimized testing two different transformations to cover different types of relationships between landscape variables and resistance: quadratic equation (3 parameters to estimate) and piecewise linear model with one slope discontinuity (4 parameters) (figure 3).

Every categorical variable was optimized assigning a resistance value to each class.

For every landscape variable, we set the minimum resistance value to 1. Once we got every variable optimized for every study site, we performed a forward model selection starting for the one with the highest likelihood. We then added stepwise all the other landscape variables as fixed effects to the MLPE until the Akaike information criterion (AIC) of the whole model increased, which would suggest an overfitted model (Burnham and Anderson, 2004) or the MLPE coefficients become negative, which would suggest that the newly added variable acts as a suppressor (Paulhus et al., 2004; Prunier et al., 2015). We selected the model with the lowest AIC as the best model (Burnham and Anderson, 2004).

We calculated the marginal and conditional coefficients of determination R^2_m and R^2_c of the best models using the `r.squaredGLMM` function implemented in the package `MuMIn` (Barton, 2018).

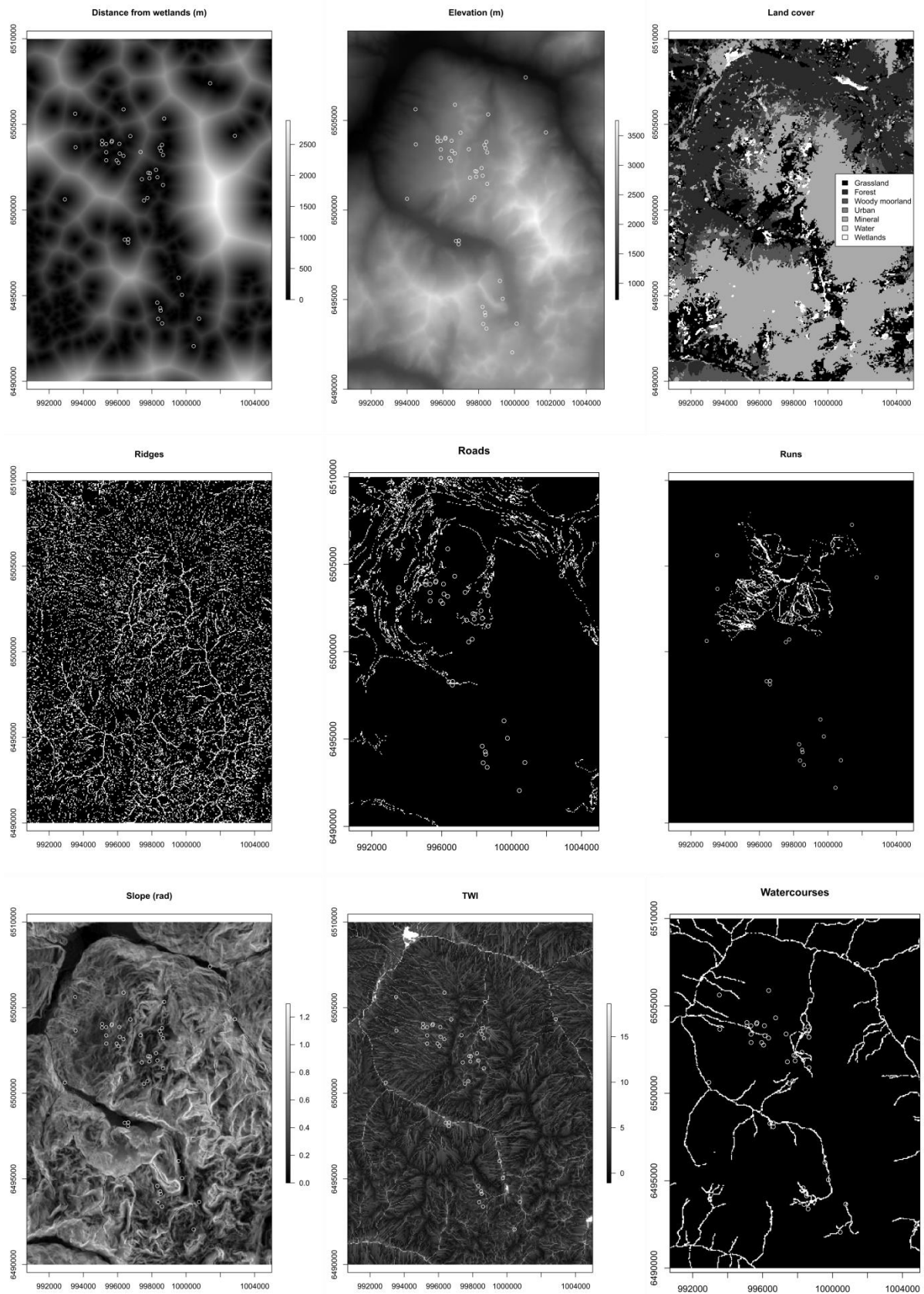


Figure 28 : The 9 landscape variables considered. For binary variables, putative barriers appear in white. Dots represent sampling points.

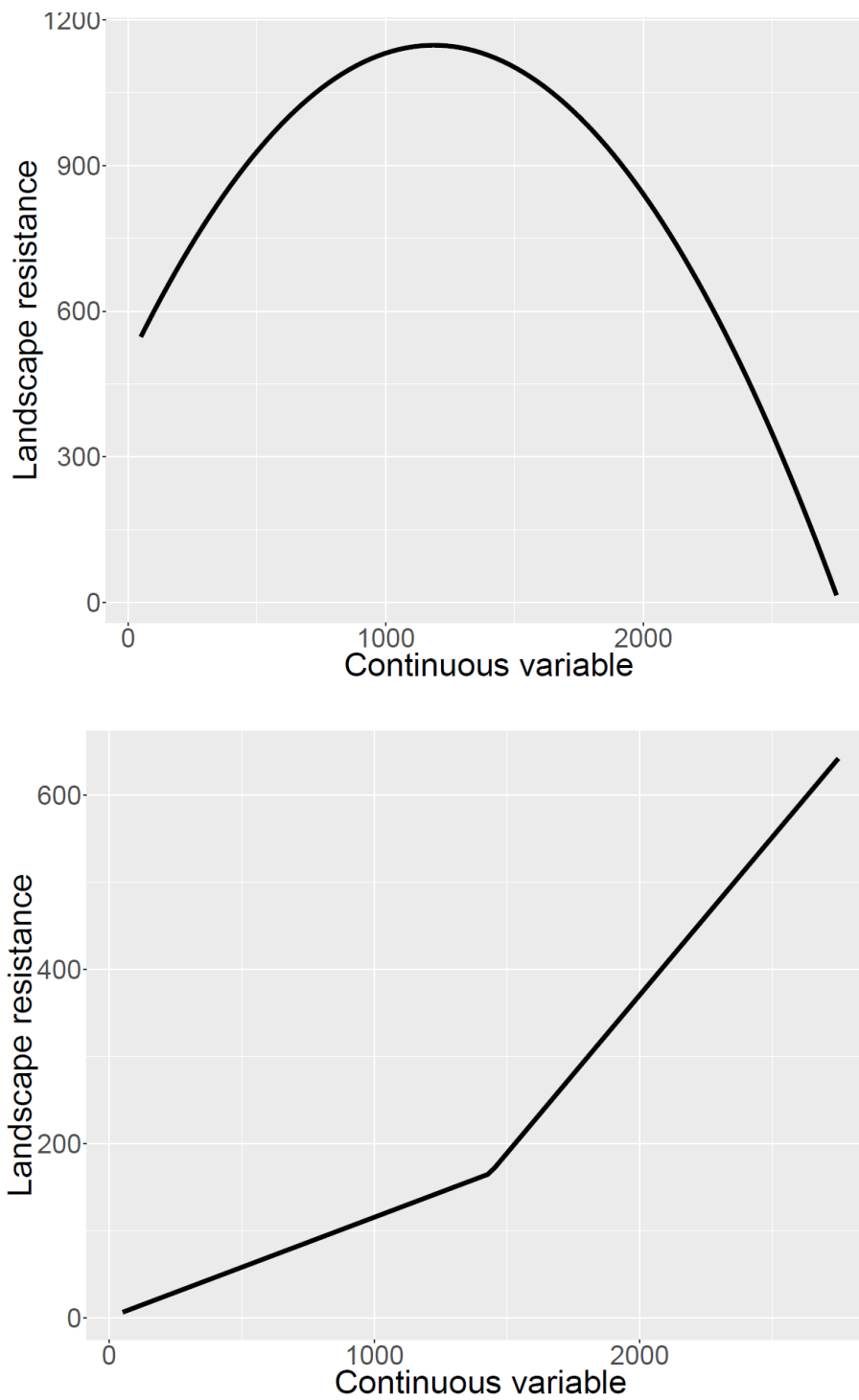


Figure 29 : Two types of transformations tested for continuous surfaces: quadratic equation (top) and piecewise linear model with one slope discontinuity (bottom)

2.4. Results

2.4.1. Population genetics

Cleaning of genetic data resulted in 817 genotyped individuals in 46 different sampled breeding sites (89% of the initial 920 individuals analysed). Only 16 combinations of locations and loci (involving 5 loci and 9 different sampled sites) out of 460 (3.5 %) departed from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) with a chi-square test performed with Bonferroni adjustment. We conclude that all loci were in HWE. Overall expected and observed heterozygosity for the 10 loci ranged from 0.257 and 0.234 to 0.932 and 0.876 (Tableau 6). A Bartlett test of homogeneity of variance yielded a non-significant result (Bartlett's K-squared: 0.049, $p = 0.8242$), also suggesting that the overall population did not depart from HWE.

Tableau 6 : Estimates of expected and observed heterozygosity for the 10 loci considered

Locus	Expected	Observed	% difference	Number of alleles
BFG031	0.808	0.732	9.368	14
BFG142	0.932	0.873	6.282	24
BFG003	0.805	0.780	3.103	13
BFG161	0.701	0.699	0.275	6
Rtemp μ 4	0.925	0.852	7.954	30
BFG203	0.924	0.819	11.362	37
BDG115	0.257	0.235	8.783	5
BFG237	0.911	0.876	3.859	20
Rtemp μ 1	0.741	0.720	2.721	15
RtU4	0.799	0.733	8.166	10

2.4.2. Genetic clustering

STRUCTURE combined with the Evanno method revealed that the modal value of the distribution of ΔK was maximized for $K = 2$, indicating two different genetic groups in the study area. The strength of the signal, *i.e.* the height of the modal value of the distribution of ΔK , was strong ($\Delta K > 900$) and there was no ambiguity on the value of K (see appendix).

The two genetic clusters were not perfectly spatially separated and did not correspond to readily identifiable topographic features (Figure 30). The control area appeared genetically homogeneous while there was a frontier between genetic groups in the middle of the ski resort, indicating possible ecological barriers.

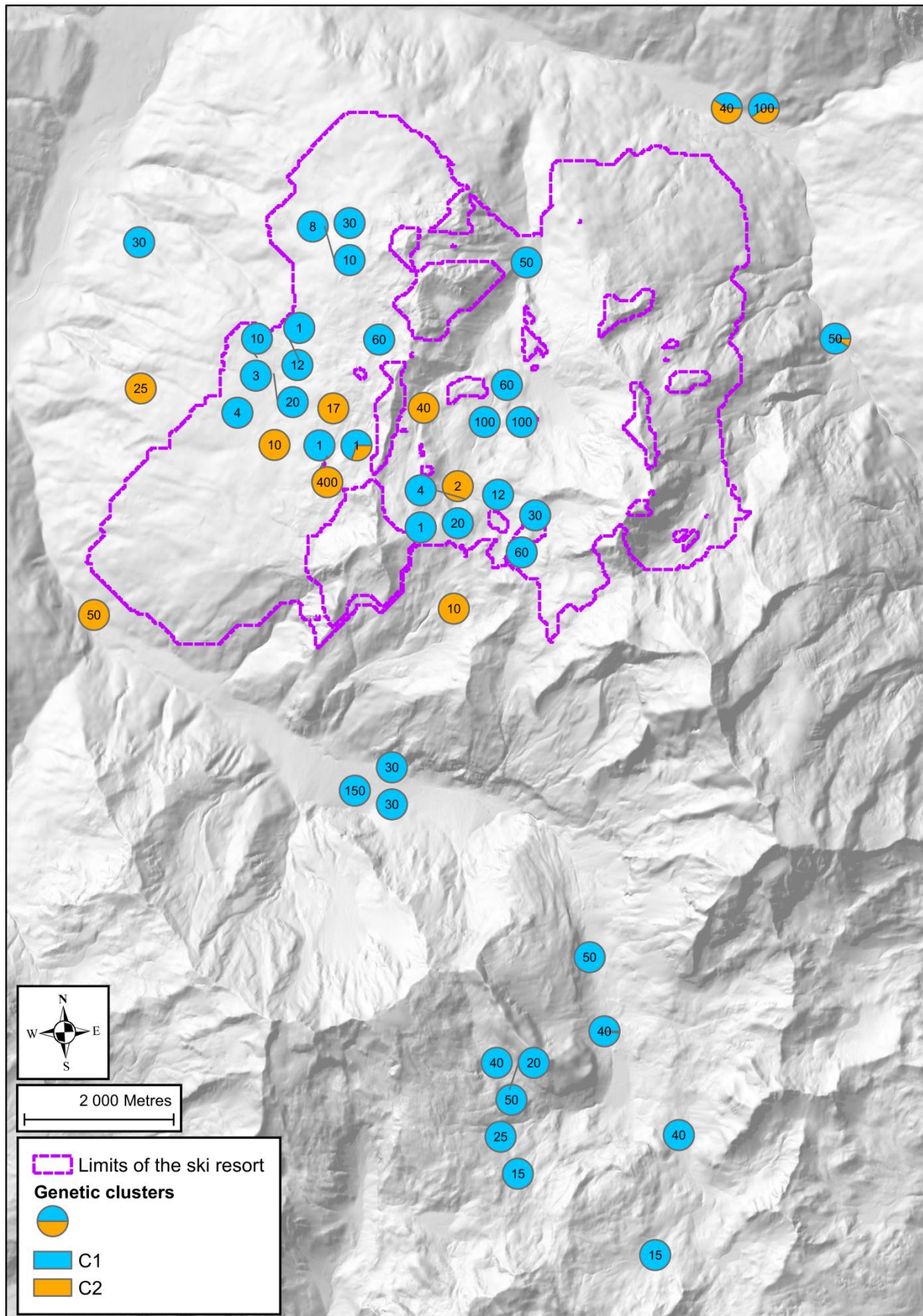


Figure 30 : Uppermost level of genetic structure determined using the STRUCTURE program and the Evanno method. Each pie chart represents the proportion of the two clusters for the sampling point considered. The number in each chart represents the observed number of clutches during the breeding season.

2.4.3. Optimization of resistance surfaces and variable selection

Tableau 7 : Best optimized univariate models for the control site

Landscape variable	Transformation	AIC	ΔAIC	R2m	R2c
Elevation	Piecewise linear model	-404.7	0.0	0.725	0.769
Topographic wetness index (TWI)	Piecewise linear model	-394.8	9.9	0.637	0.763
Slope	Piecewise linear model	-394.4	10.2	0.609	0.751
Elevation	Quadratic equation	-389.0	15.6	0.418	0.710
Watercourses	-	-386.0	18.7	0.286	0.658
Land use	-	-384.5	20.2	0.170	0.693
Distance from wetlands	Piecewise linear model	-384.3	20.3	0.185	0.709
Slope	Quadratic equation	-383.0	21.7	0.184	0.683
Ridges	-	-382.5	22.1	0.128	0.658
Distance from wetlands	Quadratic equation	-382.4	22.3	0.132	0.660
Null model	Every pixel with resistance = 1	-382.3	22.3	0.130	0.664
Topographic wetness index (TWI)	Quadratic equation	-381.8	22.9	0.121	0.662

The best univariate optimized model for the control area was elevation modified with a piecewise linear transformation (Tableau 7). The null model was outperformed by most of the optimized landscape models, with Δ AIC up to 22.3. We can note that the R2 was greatly improved in the best performing models compared with the null models (R2m ranging from 0.130 in the null model, which therefore corresponds to the R2 of the SHNe metric d_i , to 0.725). After the variable selection, the best model involved both elevation and slope (Figure 31A). It presented high R2 values: R2m = 0.74 and R2c = 0.77. The transformed elevation presented a threshold at 2074 m from which higher elevations become increasingly resistant to movement (Figure 32C). The relation between slope and resistance was nearly linear (Figure 32D). The elevation was more important in the model than the slope, with coefficients respectively of 7.7e-08 and 3.8e-08 in the final MLPE model.

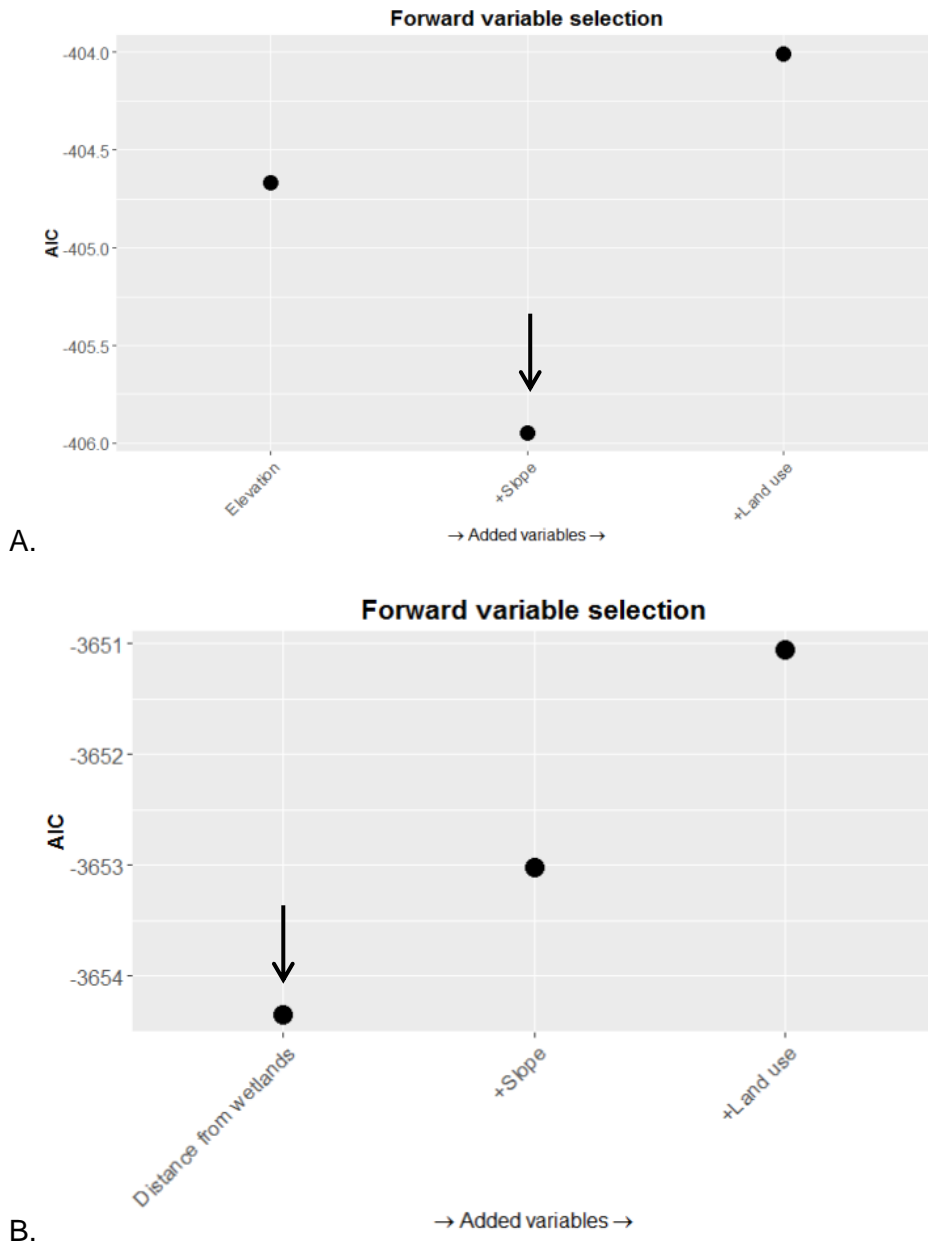


Figure 31 : Stepwise forward variable selection. Starting from the best univariate model (on the left), each variable is added to the model in order to improve its AIC. The selection is stopped when the model is not improving or when the MLPE coefficients become negative, which suggests that the model is overfitted. The arrows represent the best model for each study site. A – Control site. B – Ski resort.

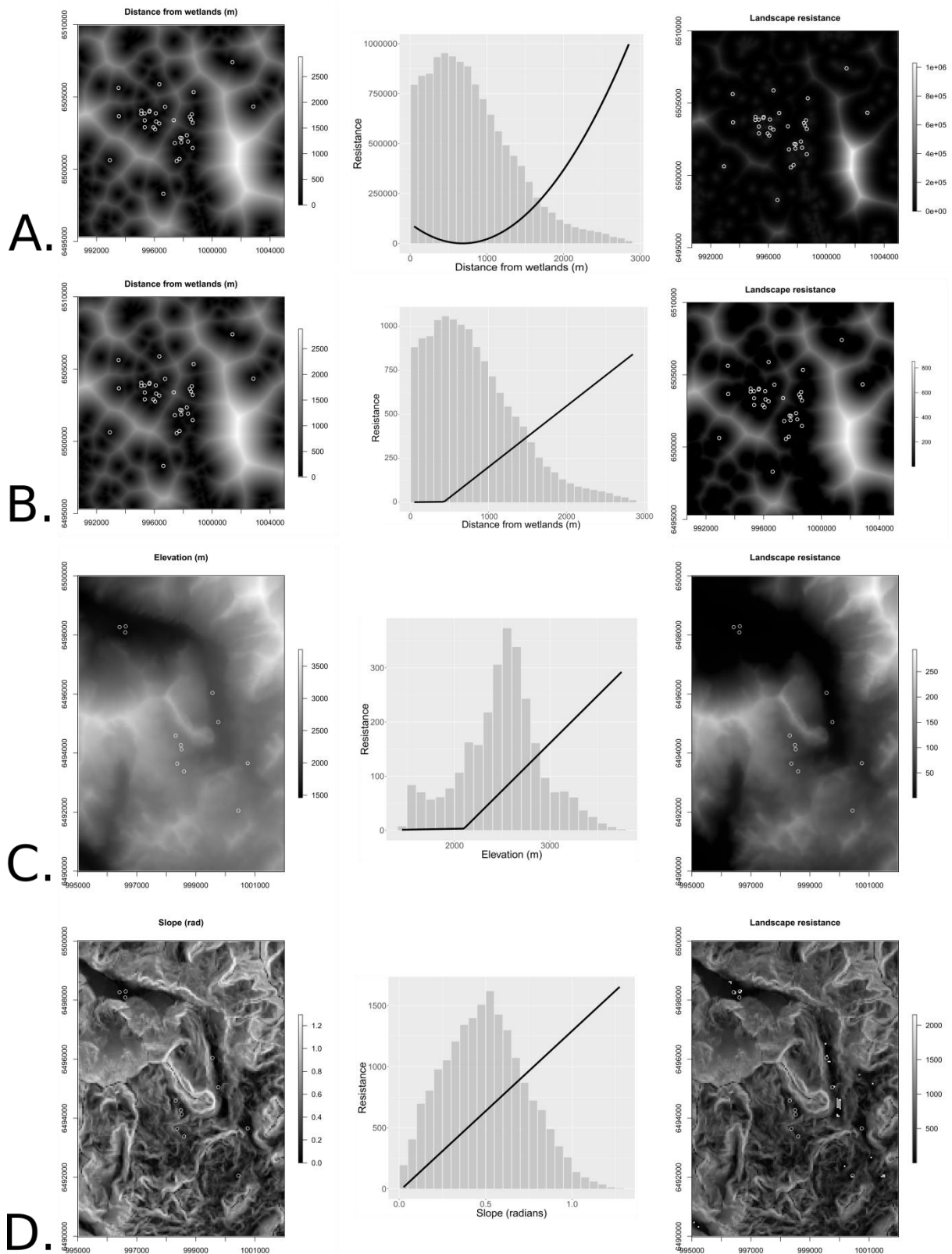


Figure 32 : Transformations applied to the 3 landscape variables kept in the final models: (A) distance from wetlands for the ski resort, (B) elevation and (C) slope for the control area; For each variable, the original variable is on the left, the transformation performed in the middle (with an histogram of the variable values in the considered study area) and the optimized resistance surface is on the right. White circles represent sampling points.

For the ski resort, the two best univariate optimized models are equivalent according to Burnham & Anderson (2004) ($\Delta AIC = 1.7 < 2$). They both involve the distance from wetlands, modified with either a quadratic equation or a piecewise linear modification (Tableau 8). The null model was outperformed by most of the optimized landscape models, with ΔAIC up to 26.9. Interestingly, the R^2 did not seem to be improved in the optimization process, with an almost constant R^2_m around 0.62 that corresponds to the R^2 of the SHNe metric d_i . After the variable selection, the best model was still a univariate model involving the distance from the wetlands, the two models (quadratic and piecewise linear transformations), giving the same result (Figure 31B). It presented high R^2 values: $R^2_m = 0.62$ and $R^2_c = 0.87$. With the quadratic model, the transformed distance from wetlands was increasing on most of its range and showed very high relative resistance values (up to $1.e6$, with the lower value set to 1) for high distances (Figure 32A). With a piecewise linear function, the resistance was constant when the distance from the wetlands was lower than 431 m and increased from 431 to 3000 m (Figure 32B).

Tableau 8 : Best optimized univariate models for the ski resort

Landscape variable	Transformation	AIC	ΔAIC	R^2_m	R^2_c
Distance from wetlands	Quadratic equation	-3654.4	0.0	0.624	0.873
Distance from wetlands	Piecewise linear model	-3652.6	1.7	0.621	0.879
Land use	-	-3648.2	6.1	0.619	0.874
Topographic wetness index (TWI)	Piecewise linear model	-3647.9	6.5	0.628	0.866
Slope	Piecewise linear model	-3641.7	12.6	0.619	0.878
Topographic wetness index (TWI)	Quadratic equation	-3638.8	15.5	0.621	0.867
Watercourses	-	-3635.1	19.2	0.626	0.873
Slope	Quadratic equation	-3633.4	21.0	0.618	0.872
Ski runs	-	-3632.2	22.2	0.631	0.878
Elevation	Piecewise linear model	-3629.8	24.5	0.626	0.864
Ridges	-	-3627.8	26.6	0.615	0.864
Roads	-	-3627.6	26.7	0.619	0.864
Null model	Every pixel with resistance = 1	-3627.5	26.9	0.616	0.863
Elevation	Quadratic equation	-3622.9	31.5	0.628	0.878

2.5. Discussion

Landscape genetics allows inferring landscape-related drivers of population connectivity. Our results show that genetic flow is mainly driven by landscape variables related to topography – elevation and slope – in the study site with a low level of anthropization. In particular, the effect of elevation increases for elevations above around 2100 m (Figure 32C). *Rana temporaria* is known for having an altitudinal limit around 2800 m (Tiberti and von Hardenberg, 2012) and breeding sites above 2600 m are very rare (Vences et al., 2003). We therefore interpret this resistance as the effect of the close limit of the species altitudinal range. The positive relation between slope and resistance (Figure 32D)

is consistent with earlier findings of slope effect on the movement of some frog species (Boone et al., 2006; Richards-Zawacki, 2009).

In this study, we hypothesized that variables directly related to human activities such as roads and ski runs act as ecological barriers for amphibians in anthropized areas. Our results show that, in the particular ski resort, the topographic variables and human variables related to human infrastructures are overshadowed by the effect of distance to wetlands. This is probably due to the fact that, in the control area, there is no point further than 1937 m from a wetland. In the ski resort, the maximum distance between a point and a wetland can reach 2884 m (Figure 33). Kovar, Brabec, Vita, & Bocek (2009) found that the maximum spring migration distance of *Rana temporaria* is 2214 m (95th percentile, but the 75th percentile is 346 m). The dispersal distance is therefore very low, especially in fragmented landscape (Joly et al., 2003; Vos et al., 2007). The maximum distance to wetlands in the ski resort is greater than the maximum migration distance, unlike the control area, which may explain this difference in the best performing models found.

The best models for the control area and the ski resort include remarkably few variables, with respectively two and one landscape variables. This excludes factors that have been described in the literature as affecting the genetic differentiation of anurans, like roads (Richardson, 2012), large rivers (Angelone et al., 2011) and moisture (Watts et al., 2015). This latter factor might be statistically related to the presence of wetlands, and therefore to the distance from wetlands (Ågren et al., 2014; Infascelli et al., 2013; Kopecký and Čížková, 2010). In landscape genetic studies, there is always a trade-off between the sample size and the number of genetic markers used (Landguth et al., 2012; Prunier et al., 2013). We already have a large number of samples: 817 individuals sampled in a relatively small study area compared to most of the landscape genetic studies on amphibians, e.g. Gutiérrez-Rodríguez, Gonçalves, Civantos, & Martínez-Solano (2017) or Gustafson, Newman, Rhen, & Tkach (2018). Nevertheless, we could increase the power of landscape genetic inferences by using more genetic markers (Landguth et al., 2012).

We conjecture that the distance from wetlands is all the more important as the habitat is dispersed in the studied area, with large distances between the habitat patches. This interpretation is consistent with the Amount of reachable habitat (ARH) hypothesis that highlights the importance of stepping stones habitat patches in fragmented landscapes (Martensen et al., 2017; Saura et al., 2014). It is also in line with recent work that linked genetic connectivity to stepping-stone wetland network (Angelone et al., 2011; Watts et al., 2015). In our model, all the wetlands are undifferentiated. A good extension to this work would be adding a measure of wetlands quality to study its effect on functional connectivity. Indeed, mountain wetlands are not equally suitable for frogs, depending for instance on the water body surface area, presence of invertebrates, etc. (Băncilă et al., 2017). Moreover, the presence of predators such as non-native fish could cause a loss of gene flow by acting as an ecological sink (Tiberti and von Hardenberg, 2012).

In ski resorts, short distances between habitat patches might therefore be more important for functional connectivity of frog populations than land cover between habitat patches. For instance, the presence of roads or ski runs is overshadowed by the distance between wetlands. This conclusion is particularly important in a perspective of conservation: the maintenance of ski areas and the development of new runs often result in the destruction of wetlands (Dubois and Gaucherand, 2012; Gaucherand and Isselin-Nondedeu, 2011; Gaucherand et al., 2009), which causes both a loss of habitat and an increase of the distance between them (Fahrig, 2003). We recommend maintaining or recreating stepping-stone wetlands in ski resorts in order to maintain a good connectivity for amphibian populations.

From a methodological point of view, the optimization of resistance surfaces improves the quality of landscape models measured with AIC. The role of expert opinion in this framework is limited to the choice of environmental variables and the type of tested transformations. Optimization of landscape resistance surfaces is developing quickly (i.e. Khimoun et al., 2017; Peterman, 2018) and we here proposed an approach involving the simulated annealing. This technique could be completed by adding more types of transformations. For example, the package *ResistanceGA* (Peterman, 2018) allows testing Ricker and monomolecular transformations. Indeed, the quadratic equation may not be sufficient (see for example Figure 32A, with an unexpected and probably artefact decrease of the landscape resistance between 0 and 700 m from wetlands). We recommend to carefully choose a small set of ecologically interpretable transformations launching the optimization process as it requires substantial computing resources, and also to avoid overfitting. A further area for improvement would be to directly optimize multivariate landscape resistance models, which is fairly straightforward when few variables are studied but more difficult and resource consuming when many variables are putatively involved (e.g. Gutiérrez-Rodríguez, Gonçalves, Civantos, & Martínez-Solano, 2017). Our method involving a stepwise variable selection based on AIC allows getting consistent results (Burnham and Anderson, 2004; Mazerolle, 2006).

Our study also highlights the importance of working with control areas or multiple landscapes in landscape genetic analyses, especially when testing the hypothesis of a human-induced impact on connectivity, which is still rarely done (Balkenhol and Fortin, 2016). In landscape ecology, replication is very difficult (Short Bull et al., 2011) and often replaced with pseudoreplication, i.e. replication at a small spatial scale within a single landscape (Hargrove and Pickering, 1992; Hurlbert, 1984).

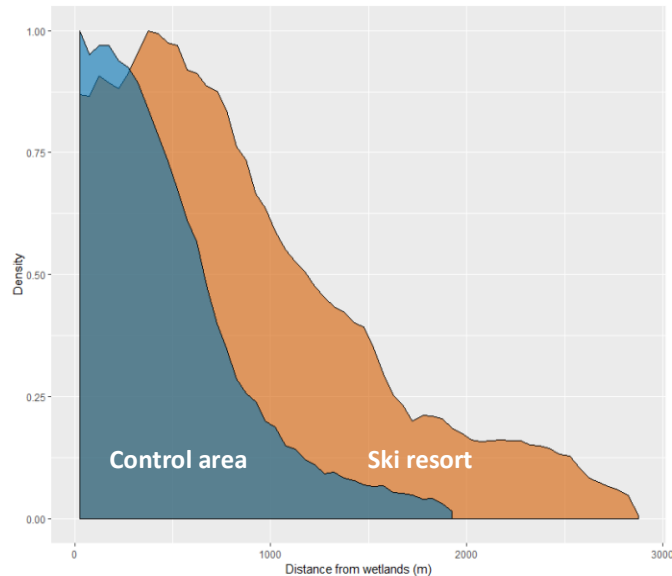


Figure 33 : Density plots of the distance from wetlands variable in the ski resort and the control area. The blue plot represents the control area while the orange plot represents the ski resort.

2.6. Author contributions

EB, SG and BR designed the study; EB performed the field work and laboratory work; EB analysed data and wrote the manuscript with contributions from SG and BR.

2.7. Acknowledgements

This study has been funded by the Agence de l'eau Rhône-Méditerranée-Corse (French water agency). The authors would also like to thank Claude Miaud, Claudine Montgelard and Véronique Arnal for their valuable advice, Gabriel Chambonnet for his participation in the field work and the Vanoise National park and the ski resort of Les Arcs for their support and data.

This experiment has been conducted respecting French laws on protected species with the authorization of the Savoie prefecture whom we would like to thank for their trust.

3. Conclusion : le réseau de zones humides, une clé pour la perméabilité de la Grenouille rousse

Nous avons vu que le site des Arcs présentait le niveau de fragmentation génétique le plus élevé des quatre sites étudiés (chapitre 2). Dans ce chapitre, nous avons démontré que cette fragmentation génétique était liée aux distances importantes existant entre les zones humides.

Le calcul d'indicateurs de fragmentation des zones humides basés sur la seule structure du paysage (sans approche fonctionnelle) confirme que le site des Arcs est effectivement celui avec le réseau de zones humides le moins dense : plus faible surface relative de zones humides dans le paysage, plus

grandes distances entre zones humides (Tableau 9)... Ces données sont confirmées par l'analyse de la distribution de la distance aux zones humides (principale variable explicative de la structuration génétique observée selon notre analyse) (Figure 34).

Tableau 9 : Indicateurs de fragmentation des zones humides dans les quatre sites d'étude calculés sur la base, pour chaque site, du plus petit rectangle incluant tous les points d'échantillonnage. Les indicateurs sont calculés au moyen du logiciel Fragstat (McGarigal et al., 2012). PLAND = Proportion en surface de zones humides dans le paysage. PD = Nombre de patches par unité de surface. LPI = Proportion prise par le plus grand patch dans le paysage. ENN_MN : distance moyenne entre un patch et son plus proche voisin. PLADJ : Proportion de pixels de zones humides contigus avec d'autres pixels de zones humides. PLAND, PD, ENN_MN et PLADJ sont exprimés en ratios avec le site avec la plus basse valeur.

Site	Wetland cover	PLAND	PD	LPI	ENN_MN	PLADJ
Arcs	1,6%	1,0	1,0	0,2%	1,6	1,1
Control	1,8%	1,1	1,9	0,5%	1,0	1,0
Menuires	5,4%	3,2	2,9	0,4%	1,0	1,2
Saisies	20,2%	12,2	2,5	16,6%	1,4	1,8

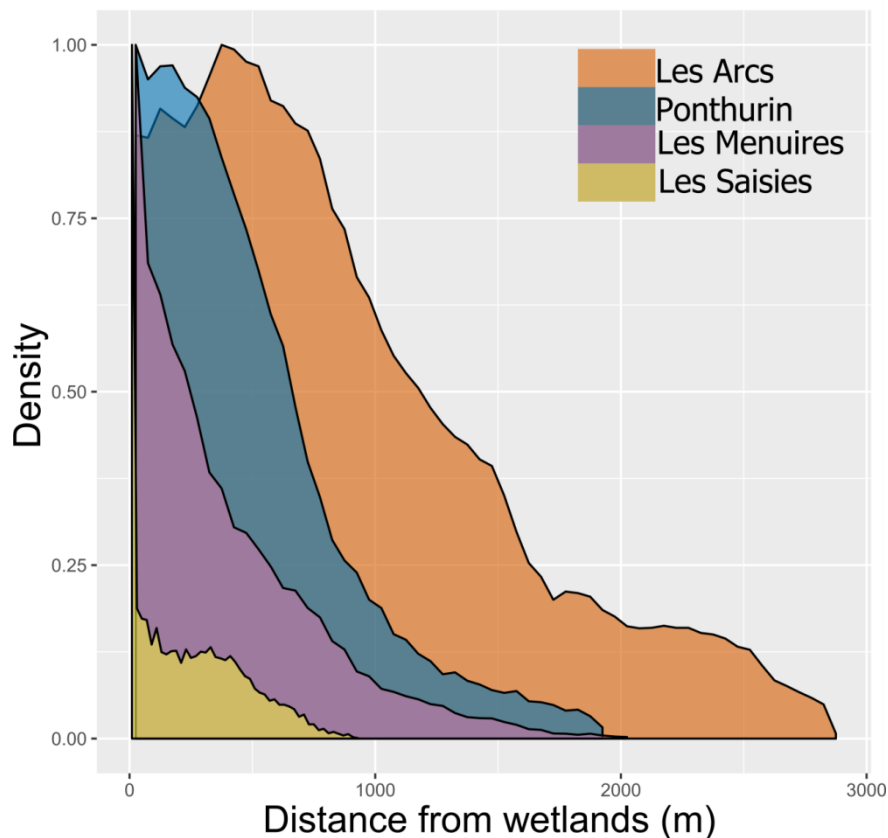
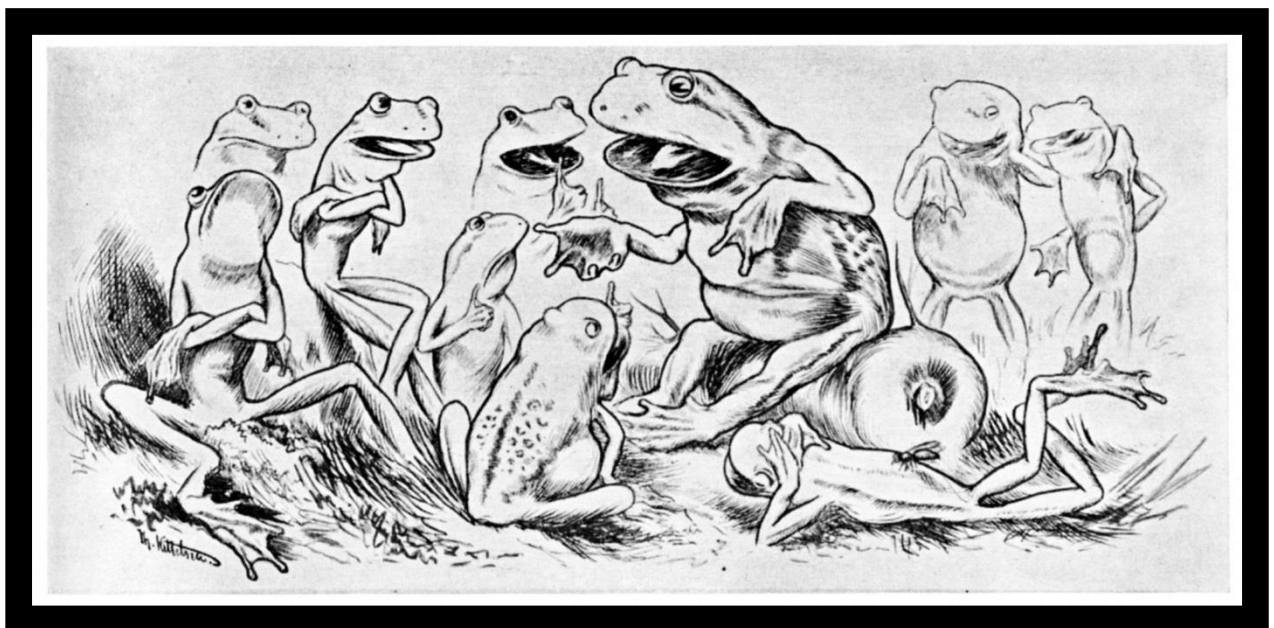


Figure 34 : Courbes de distribution des distances aux zones humides dans les quatre sites d'étude. Les Arcs présentent les plus grandes zones sans zones humides tandis que les Saisies ont le réseau de zones humides le plus dense.

Discussion



Theodor Kittelsen (1885)

J'ouvre le mur

Eugène Ionesco, *Contes*, 1969

1. Principaux résultats

1.1. Importance du réseau de zones humides pour la perméabilité des domaines skiables aux grenouilles rousses

1.1.1. La zone humide : un habitat clé

Même si elle est réputée ubiquiste, particulièrement en milieu montagnard (ACEMAV, 2003), **les zones humides restent un milieu clé** pour la Grenouille rousse.

En effet, au cours de notre phase de terrain, nous avons pu observer des grenouilles adultes se servir de zones humides et plans d'eau comme de lieux de reproduction, de quartiers d'été et de lieux d'hibernation (Figure 37).

Notre expérience de suivi individuel de grenouilles par GPS a permis de montrer que les habitats humides étaient fortement attractifs par rapport aux habitats plus secs comme les pelouses durant la période estivale (chapitre 1). Les berges des petits cours d'eau de la zone d'étude étaient eux-mêmes plus attractifs que le reste des zones humides.

1.1.2. La connectivité des domaines skiables pour la Grenouille rousse dépend fortement de la densité du réseau de zones humides

Nous avons étudié la structure génétique des populations de grenouilles rousses dans quatre paysages de montagne : trois domaines skiables et une zone peu anthropisée (chapitre 2). Sur ces quatre paysages, l'un présentait un fort niveau de fragmentation génétique des populations (le domaine skiable des Arcs). Il est intéressant de noter qu'il s'agit du site où l'habitat humide est également le plus fragmenté, avec notamment des zones humides de petites tailles et éloignées les unes des autres. Les trois autres sites, où l'habitat est moins fragmenté, montrent une moindre fragmentation génétique des populations de grenouilles, avec peu de différences entre la zone témoin, peu anthropisée, et les deux autres domaines skiables (Les Saisies et les Menuires).

Ce résultat est confirmé par la création de **surfaces de résistance optimisées** (chapitre 3). Nous avons montré que la résistance du paysage autour du domaine des Arcs est fortement dépendante de la **densité de zones humides** puisque les deux meilleurs modèles de résistance du paysage sont des modèles à une variable impliquant la distance aux zones humides. Dans ces modèles, il existe une relation positive entre les distances aux zones humides et la résistance du paysage. L'un des modèles met notamment en évidence une distance limite, autour de 430 m, à partir de laquelle la résistance du paysage augmente. En dessous de 430 m, la résistance est constante. Il est intéressant de mettre ce résultat en regard de la capacité de dispersion de la Grenouille rousse. D'après les observations de Kovar et al. (2009), 75 % des grenouilles ne parcourent pas plus de 346 m lors de leur migration

printanière (Figure 35). Ainsi, avoir un maillage dense de zones humides permet une meilleure dispersion puisque les grenouilles auront plus de chances d’atteindre une autre zone humide durant leur migration. Ces résultats corroborent les récentes études montrant l’importance des habitats en pas japonais (*stepping-stone*) pour la dispersion des individus (Saura et al., 2014). Dans la zone témoin, où l’habitat est moins fragmenté, la structure génétique des populations dépend uniquement de variables topographiques (altitude et pente).

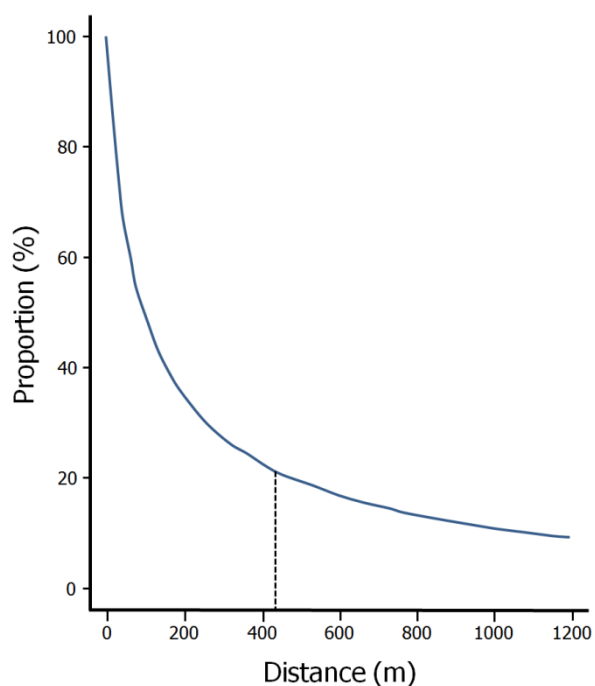


Figure 35 : Distribution des distances de migration de grenouilles rouges (d'après Kovar et al., 2009). La ligne pointillée verticale est placée à une distance d'environ 431 m.

Ainsi, maintenir un **réseau de zones humides dense** est un enjeu important pour préserver une bonne connectivité fonctionnelle du paysage pour les amphibiens de montagne. Pourtant, ce type de milieux est en régression, particulièrement dans les domaines skiabiles (Dubois and Gaucherand, 2012; Gaucherand and Isselin-Nondedeu, 2011; Gaucherand et al., 2009). En effet, l'aménagement de pistes de ski, de remontées mécaniques, de réseaux d'enneigeurs ou de routes peut entraîner la destruction totale ou partielle de zones humides (Figure 36). Mécaniquement, la perte de surface d'habitat entraîne une augmentation des distances entre les patches, donc une possible baisse de connectivité, ce qui valide notre hypothèse n°2 (voir encadré).

Hypothèse n°2 : La perte d'habitat entraîne une perte de connectivité

Il est intéressant de noter que dans une étude récente portant sur la Grenouille rousse dans les Alpes, la distances aux zones humides apparaît également comme le meilleur prédicteur de la présence de grenouilles (Decout et al., 2012). Ainsi, les modèles d'habitat (*habitat suitability models*) pourraient apparaître comme liée à la perméabilité, ce qui est une approximation souvent réalisée dans les

études de connectivité (Almpanidou et al., 2014; Milanesi et al., 2017; Wang et al., 2008). Toutefois, utiliser modèles d’habitats comme prédicteurs de la connectivité est susceptible de donner de mauvais résultats (e.g. Wasserman et al., 2010). En effet, la sélection d’habitat et les flux de gènes dépendent de comportements différents et sont des processus agissant à des échelles spatiales différentes (Spear et al., 2016). Les modèles d’habitat sont généralement élaborés d’après des données de présence d’individus et valorisent les plus fortes densités, par exemple les groupes d’individus sédentaires. A l’inverse, les événements de dispersion, donc ceux qui ont un impact sur le flux de gènes, peuvent être beaucoup plus diffus dans l’espace et regroupés dans le temps (comme les migrations saisonnières des amphibiens), ce qui n’est pas capté par les modèles d’habitats.

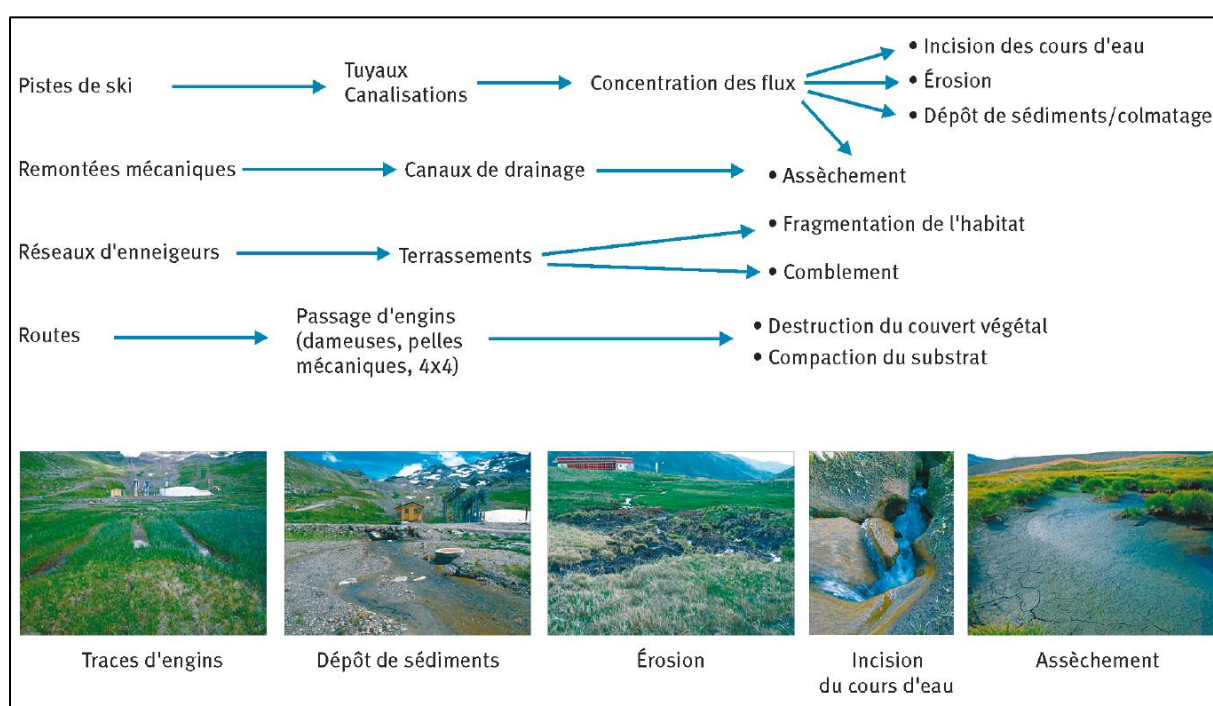


Figure 36 : Relations de cause à effet entre les travaux et les impacts observés sur la zone humide du domaine skiable de Val Thorens (Gaucherand and Isselin-Nondedeu, 2011).



Figure 37 : Grenouilles rouges occupant des plans d'eau dans des zones humides des Menuires (Savoie) à différents moments de leur vie. En haut à gauche : amplexus (accouplement) en milieu aquatique. En haut à droite : thermorégulation au bord de l'eau. En bas : grenouille morte dans un plan d'eau à la sortie de l'hibernation.

1.1.3. Les aménagements n'agissent pas directement comme des barrières

Nous n'avons **pas mis en évidence d'effet barrière lié aux infrastructures humaines des domaines skiables**. Parmi les modèles testés, certains

Hypothèse n°1 : Les infrastructures liées aux domaines skiables agissent comme des barrières écologiques

permettaient de tester spécifiquement cette hypothèse : routes, pistes de ski, lignes de crêtes et cours d'eau permanents ne semblent pas agir comme des barrières. Ceci permet de **rejeter notre hypothèse n°1**. Néanmoins, les effets indirects des aménagements, particulièrement la destruction de zones humides, ont bien un effet sur la connectivité (voir § 1.1.2).

Dans la littérature, les routes apparaissent pourtant comme une cause majeure de perte de connectivité des populations d'amphibiens (Jochimsen et al., 2004). Néanmoins, cette perte de connectivité est essentiellement due à un effet direct : l'écrasement d'individus par les véhicules. Or, les routes au sein des domaines skiables sont peu fréquentées, particulièrement en hiver et au printemps, quand la neige est encore présente. Elles sont également peu entretenues avec des produits chimiques comparativement aux routes de plaine. Ces produits peuvent être nocifs pour les

amphibiens, ce qui a tendance à les tenir éloignés des routes traitées chimiquement sans pour autant provoquer de mortalité directe (deMaynadier and Hunter Jr., 1995). Les routes au sein des domaines skiabiles étant relativement naturelles, de tels effets ne sont pas mesurés.

Les limites inhérentes à notre analyse impliquent de nuancer notre résultat sur le manque d'effet des infrastructures sur la connectivité. Ainsi, en génétique du paysage, il est toujours possible de ne pas mettre en évidence un effet pourtant existant si l'effort d'échantillonnage n'est pas suffisant (Landguth et al., 2012). En effet, l'analyse gagne en précision si l'on génotype plus d'individus, si l'on utilise plus de marqueurs génétiques ou si ceux-ci sont plus polymorphes (Landguth et al., 2012). Il est donc nécessaire de faire un compromis entre l'effort d'échantillonnage consenti et la précision souhaitée (Landguth et al., 2012; Prunier et al., 2013). Dans notre étude, les tailles d'échantillons sont importantes, avec plus de 2000 individus analysés sur des paysages de surface relativement faible comparé à la plupart des études de génétiques du paysages réalisées sur des amphibiens (e.g. Gustafson et al., 2018; Gutiérrez-Rodríguez et al., 2017). Ainsi :

- notre échantillonnage est quasi exhaustif en termes de nombre de populations représentées sur les quatre sites étudiés,
- le nombre d'individus analysés par patch (20) est réputé suffisant pour détecter la plupart des variations génétiques inter-populations (Hale et al., 2012).
- Toutefois, le nombre de marqueurs génétiques utilisés (11) est plutôt dans la fourchette basse de ce qui est nécessaire. Utiliser plus de marqueurs à l'avenir pourrait permettre de gagner en précision et peut-être détecter des effets du paysage plus fins (Landguth et al., 2012).

Le temps de réponse de la génétique aux modifications du paysage est également un point important en génétique du paysage. En effet, si ce temps de réponse est important, la structuration génétique observée correspondra à un paysage passé, qui pourra entre temps avoir été modifié (Epps and Keyghobadi, 2015). Des études par simulations ont permis de montrer que ce temps de réponse génétique dépend de plusieurs facteurs comme la distance de dispersion de l'espèce considérée, la méthode de calcul de la distance génétique choisie ou la taille des populations (Landguth et al., 2010; Lloyd et al., 2013). La plupart des distances génétiques dérivées de la F_{st} de Wright permettent théoriquement de détecter des ruptures de connectivité à partir de deux générations (Lloyd et al., 2013), même s'il faut s'attendre à un temps de réponse supérieur sur le terrain, où les conditions ne sont jamais aussi idéales que dans les données simulées (les ruptures de connectivité sont moins nettes, la variations de tailles de populations brouillent le signal, etc.). Dans une étude empirique sur la Grenouille-à-queue côtière (*Ascaphus truei* Stejneger 1899), Spear et Storfer (2008) ont montré, en utilisant 13 marqueurs microsatellites et des distances génétiques dérivées de la F_{st} , que la structuration génétique observée correspondait au paysage qui existait 20 à 40 ans plus tôt que la campagne de terrain.

Les stations de ski des Arcs ont commencé à être aménagées en 1968, soit environ 50 ans avant notre campagne de terrain (Station de ski des Arcs, 2019) :

- Les Arcs 1650 en 1968,
- Les Arcs 1800 en 1974,
- Les Arcs 2000 en 1979,
- Les Arcs 1950 en 2003.

En considérant un temps de génération comme l'âge moyen auquel les individus d'une population se reproduisent, on peut déduire en première approche que le temps de génération T pour la Grenouille rousse sera d'environ :

$$T = \frac{\text{âge de la maturité sexuelle} + \text{longévité}}{2} = \frac{3 + 8}{2} = 5,5 \text{ ans}$$

Une période de 50 ans correspond donc environ à 9 générations (les chiffres sur la longévité et la maturité sexuelle sont tirés de Miaud et al., 1999).

Même s'ils ont pu évoluer, notamment dans les plus hautes altitudes, les aménagements n'ont pas été bouleversés depuis au moins les années 1980 (Figure 38, Figure 39). De plus, les destructions de zones humides se sont ralenties au début des années 1990 du fait de l'évolution du cadre réglementaire (Cizel, 2017). Ainsi, nous pensons que le paysage capté par notre étude génétique doit correspondre peu ou prou au paysage actuel, même si l'urbanisation s'est accrue depuis (notamment avec la construction de la station des Arcs 1950 en contrebas des Arcs 2000).

En conclusion, nous pouvons affirmer que les variables retenues (densité du réseau de zones humides, altitude, pente) ont un impact sur le flux de gènes de grenouilles rousses dans les paysages étudiés. Nos modèles de résistance du paysage appliqués aux Arcs et à la vallée du Ponthurin permettent d'expliquer respectivement 62 et 73% de la variance de la distance génétique observée (avec les effets fixes ; ce chiffre monte à 87 et 77% en incluant l'effet population, voir chapitre 3). Il existe donc toujours une part de variance non expliquée qui peut être due à des variables paysagères non prises en compte.

Les Arcs en 2016

0 1 000 2 000 3 000 4 000 Mètres

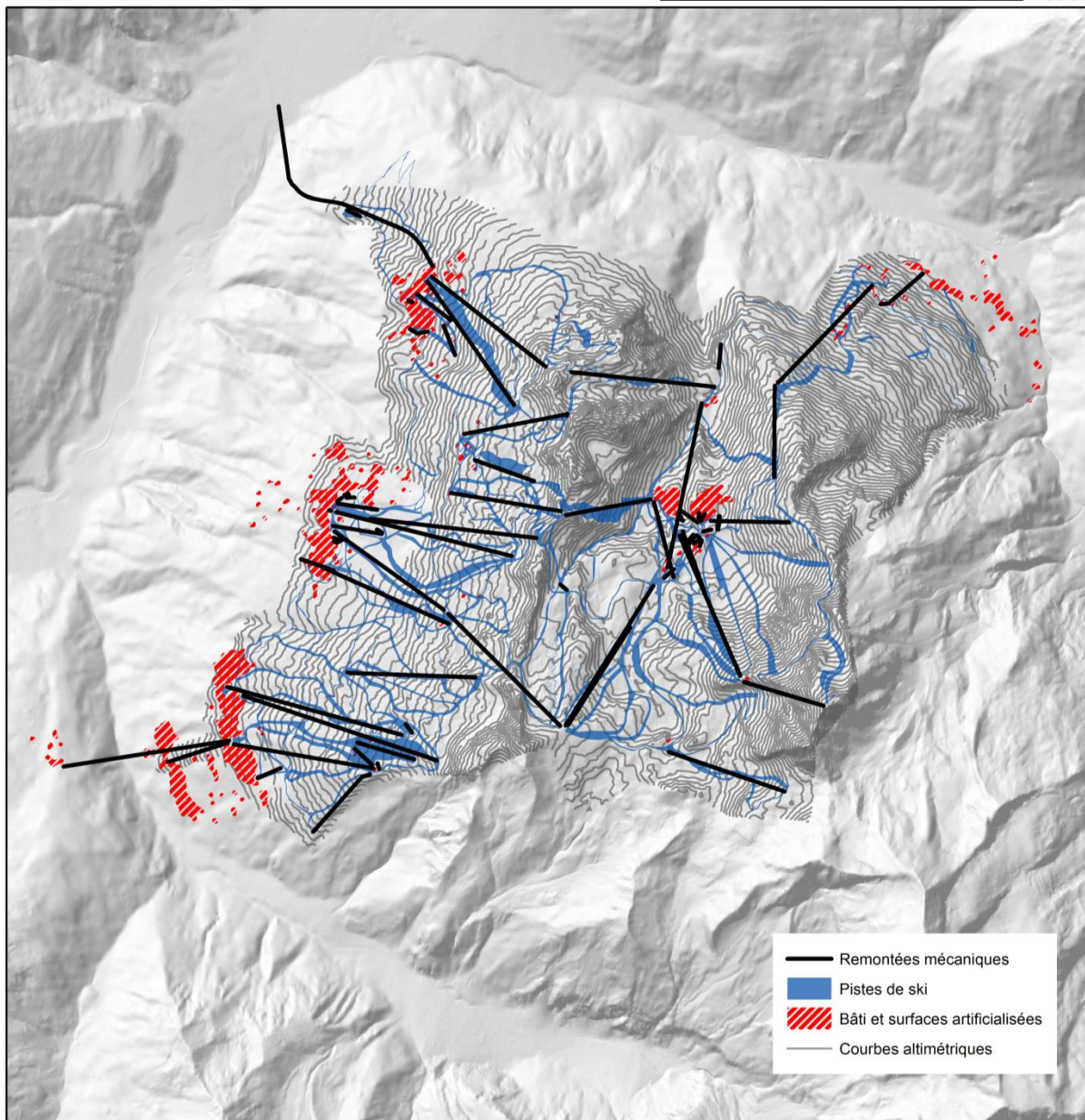


Figure 38 : Pistes de ski alpin des Arcs en 2016. Source : BD_Stations, domaine skiable des Arcs, BD Topo.

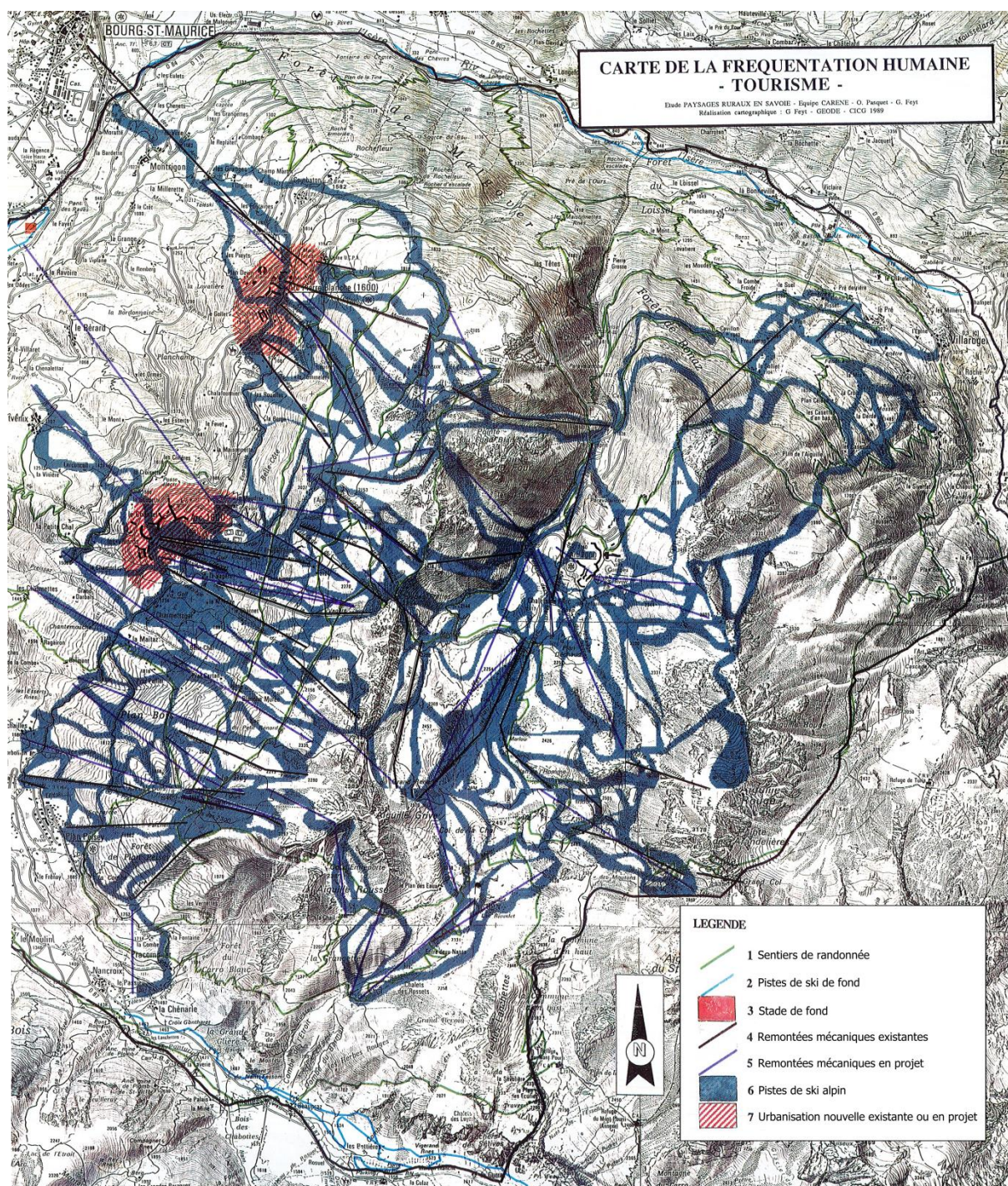


Figure 39 : Carte du domaine skiable des Arcs en 1989 (Equipe Carene - O. Pasquet, G. Feyt, 1989).

1.1.4. L'hétérogénéité spatiale des tailles efficaces de populations : un facteur potentiellement important peu pris en compte dans les études de génétique des populations

Prunier et al. (2017) ont démontré que les distances génétiques basées sur la F_{st} , très souvent utilisées dans les études de génétique du paysage basées sur les populations (par opposition à celles

basées sur les individus), étaient susceptibles de présenter un biais dû à l'hétérogénéité spatiale des tailles efficaces de populations (SHNe). La non prise en compte de la SHNe peut entraîner d'importantes erreurs concernant la détermination des facteurs influençant le flux de gènes. En particulier, nos premiers tests d'optimisation de surfaces de résistance ont montré que l'optimisation sans prise en compte des métriques de SHNe pouvaient donner lieu à des corrélations fallacieuses et donc à l'identification des mauvaises causes de flux de gènes et à la création de surfaces de résistance fausses (résultat non montré).

Dans deux de nos quatre sites, la **SHNe a un effet significatif sur la diversité génétique observée**. Ainsi, sur les sites des Arcs et des Menuires, la métrique de SHNe basée sur l'inverse d_i permet d'expliquer respectivement 61 et 45 % de la variance de G_{st} , ce qui est colossal. Nous recommandons de tester l'éventuelle influence de la SHNe sur les distances génétiques dans toutes les études de génétique du paysage entre populations.

Notons que l'originalité de notre étude est de comprendre un échantillonnage quasi-exhaustif des zones d'études, y compris de zones de reproduction de très petite taille (Figure 40). Beaucoup d'études de génétiques du paysage sur la Grenouille rousse se font à une échelle plus vaste (Miaud et al., 2015; Van Buskirk, 2005) en ne prenant en compte que les principales zones de reproduction, ce qui pourrait poser moins de problèmes en termes d'influence de la SHNe.



Figure 40 : Exemple de zone de reproduction de petite taille : une ornière située sur une piste de montagne dans la station des Arcs (Savoie).

1.2. Apports méthodologiques

1.2.1. Les balises GPS pour le suivi des amphibiens : une technique prometteuse mais encore limitée par l'état de la technologie

Nous avons effectué, à notre connaissance, la **première expérience documentée de suivi individuel d'amphibiens à l'aide de balises GPS**. Grâce aux progrès technologiques, notamment en termes de miniaturisation, ce type de matériel se démocratise et permet d'obtenir des données de localisation à intervalle de temps court et constant (Cagnacci et al., 2010; Christensen and Chow-Fraser, 2014; Hebblewhite and Haydon, 2010; Kays et al., 2015; Latham et al., 2015). Les prochaines années devraient voir le nombre de ce type d'étude augmenter, notamment sur des modèles biologiques de plus en plus petits.

Toutefois, cette miniaturisation a un coût, puisque le matériel utilisé n'est pas fiable à 100% : plusieurs balises n'ont pas fonctionné sur le terrain et les batteries ont une durée de vie de quelques jours à quelques semaines seulement. Ainsi, la quantité de données obtenues est restée limitée (20 localisations par grenouille en moyenne) par rapport aux études menées sur des animaux de plus grande taille : par exemple, 7500 localisations par puma (Zeller et al., 2016a), 160 par grizzli (Roever et al., 2010), etc. Ce nombre de données relativement faible n'a permis que d'étudier un nombre restreint de covariables environnementales dans les *step selection functions*. Ce suivi n'a donc pas permis de mener une vraie étude de connectivité comme il est possible d'en faire avec ce type d'outil statistique (e.g. Coulon et al., 2008; Mueller et al., 2014; van Toor et al., 2018; Zeller et al., 2016a).

Compte tenu de la faible durée de vie des batteries, il serait intéressant de redéployer ce type de matériel afin d'étudier les déplacements individuels lors d'un événement précis de migration pour étudier les trajectoires empruntées par les individus. Ces événements sont à la fois courts et importants en termes de flux de gènes dans le paysage, ce qui les rend intéressants. Toutefois, ce n'est pas aisé car cela implique d'équiper les grenouilles de balises à la sortie de l'hibernation juste avant le début de la migration, ce qui peut représenter une fenêtre temporelle très limitée, de l'ordre de quelques jours (ACEMAV, 2003). De plus, en sortie d'hivernage, les individus sont fragiles, ce qui peut rendre encore plus difficile leur équipement avec des balises.

Ce suivi GPS a néanmoins permis de tirer des conclusions sur les **préférences d'habitat** de la Grenouille rousse pendant la période estivale. En première approche, les modèles d'habitats sont parfois utilisés pour paramétrer des surfaces de résistance de le cadre d'études de connectivité (Wang et al., 2008; Zeller et al., 2012). Néanmoins, ceci suppose de faire l'hypothèse qu'un habitat favorable est également un habitat perméable, ce qui est une hypothèse forte parfois peu pertinente (voir § 1.1.2 et Wasserman et al., 2010). Ces préférences d'habitat ont néanmoins orienté nos recherches et nous ont amenés à étudier l'influence de la distance aux zones humides sur la résistance du paysage, variable qui a été retenue dans le modèle final de résistance pour les Arcs (voir chapitre 3 et § 1.1.2).

Même si les balises GPS deviennent de plus en plus légères, elles restent relativement lourdes pour des animaux de petite taille comme la Grenouille rousse ce qui a causé, dans notre étude, plusieurs blessures d'animaux. Cette fragilité de la peau des grenouilles est connue (Bull, 2000; Groff et al., 2015; Muths, 2003) et des efforts sont faits pour diminuer le risque de blessure (Groff et al., 2015), mais cela n'a pas été suffisant dans notre étude. Ceci pose à la fois un problème éthique (blessure d'animaux) et scientifique (dans quelle mesure ces blessures ont influencé les mouvements observés ?). Par ailleurs, ce problème de masse empêche de suivre le mouvement des juvéniles, notamment lors de la phase de dispersion post-métamorphose qui est pourtant critique en termes de flux de gènes (Pittman et al., 2014; Rothermel, 2004; Sinsch, 2014).

Il reste donc des améliorations techniques à apporter pour pouvoir effectuer des études de connectivité plus ambitieuses pour les amphibiens à l'aide de données de mouvements. Une alternative aux balises GPS pourrait être l'utilisation de balises passives (donc plus légères) sur le modèle du GPS inversé (Toledo et al., 2014; Weiser et al., 2016). Ces balises sont toutefois plus adaptées aux animaux volants et peuvent être sensibles aux microreliefs, ce qui pourrait s'avérer problématique pour l'étude des grenouilles (David Shohami, communication personnelle, 19 décembre 2018).

1.2.2. L'optimisation par recuit simulé pour produire des surfaces de résistance

La production de cartes de résistance du paysage est un enjeu important pour combler le manque de connaissances sur les mouvements de faune (Spear et al., 2016, 2010; Zeller et al., 2012). Les techniques d'optimisation de surfaces en génétique du paysage existent depuis une dizaine d'années (Shirk et al., 2010; Wang et al., 2009) mais font de plus en plus appel à des techniques éprouvées d'optimisation statistique couplées à des calculs de chemins issus de la théorie des circuits (Hanks and Hooten, 2013; Peterman, 2018).

Le récent package ResistanceGA (Peterman, 2018) est à ce jour la solution la plus simple et facile à utiliser pour optimiser des surfaces de résistance. Elle permet de créer des modèles de résistance du paysage à partir d'une ou plusieurs variables environnementales en utilisant une distance génétique comme donnée empirique de base pour paramétrer les modèles. Ce package présente l'avantage de n'avoir à faire que peu d'hypothèses sur la relation entre paysage et résistance, et donc à faire peu appel à un avis d'expert susceptible de conduire à de fausses conclusions (Charney, 2012; Milanese et al., 2017). Toutefois, la méthode ne permet pas d'inclure dans les modèles autre chose que des variables paysagères pour expliquer les distances génétiques observées. Or, comme montré dans notre chapitre 2, les différences génétiques entre populations déviées de la Fst peuvent parfois être dépendantes d'autres facteurs, notamment de l'hétérogénéité des tailles de populations (Prunier et al., 2017). Ainsi, dans nos quatre sites d'étude, l'hétérogénéité spatiale dans les tailles efficaces de populations (SHNe) pouvait expliquer jusqu'à 61% de la variance observée des distances génétiques.

Ce chiffre important mérite d'être pris en compte lors de l'utilisation de distances génétiques pour paramétrer des modèles de résistance.

Dans notre chapitre 3, nous avons donc proposé une **technique d'optimisation de surface de résistance basée sur la technique du recuit simulé** (*simulated annealing*) et permettant d'inclure des facteurs autres qu'environnementaux dans les modèles. Cette méthode a été volontairement pensée pour limiter les *a priori* qui sont souvent source de mauvaises conclusions. Ainsi, les seuls choix qu'a à faire l'opérateur sont le choix des variables environnementales étudiées et, dans le cas d'une variable continue, le choix d'un type de relation entre la variable et la résistance du paysage (dans notre cas, nous avons choisi d'étudier des relations linéaires, par morceaux ou non, et des polynômes du second ordre, mais les possibilités sont infinies). Ainsi, nous disposons d'une marge de manœuvre plus grande que si nous avons fait appel à un package préexistant comme ResistanceGA. Une telle méthode d'optimisation permet de sortir du « tout expert » pour paramétrer les surfaces de résistance à tester (d'après la synthèse de Zeller et al., 2012, 80% des études font appel à des *a priori* définis à dire d'expert et pour 43%, il s'agit de la seule source d'information utilisée). Toutefois, cette méthode est relativement coûteuse en termes de ressources informatiques (l'optimisation de chaque surface de résistance peut prendre jusqu'à une semaine de calcul sur un processeur).

En théorie, cette technique d'optimisation de surface de résistance pourrait également être utilisée en utilisant des données de mouvement au lieu de données génétiques comme données d'entrée des modèles. Ceci pourrait permettre de comparer les résultats obtenus par les deux méthodes et mieux appréhender la connectivité des paysages étudiés.

2. Perspectives

2.1. Toutes les zones humides ne se valent pas

Dans nos modèles paysagers, nous avons choisi une représentation simple des zones humides en nous basant sur l'inventaire départemental fournis par le Conservatoire des espaces naturels (CEN) complété par les données fournies par les domaines skiables et leurs inventaires environnementaux. Cet inventaire prend en compte indifféremment toutes les zones de plus de 1000 m² présentant une végétation hygrophile.

Or, toutes les zones humides ne se valent pas en termes de **qualité de l'habitat** pour les amphibiens. Ainsi, toute zone humide ne sera pas occupée par des grenouilles et ne servira pas de zone de reproduction (ce que nous avons observé sur le terrain). Băncilă et al. (2017) ont montré que la présence de grenouilles rousses dans les mares était dépendante de l'altitude, du caractère temporaire ou non du plan d'eau, de la surface d'eau libre, de la présence ou non d'invertébrés, etc. En tout, dans leur zone d'étude située dans les montagnes roumaines, *Rana temporaria* n'était présente que dans 69% des mares. Parmi elles, seules 70% étaient des lieux de reproduction.

La présence ou non de grenouilles dans les zones humides est donc dépendante de leurs caractéristiques naturelles (présence de proies, présence d'eau libre...). Si ce point n'est pas abordé dans leur étude, on peut également faire l'hypothèse qu'elle dépend également du degré de dégradation anthropogène des zones humides. Dans les domaines skiables par exemple, plusieurs zones humides visitées présentaient des signes d'anthropisation (Figure 36) :

- assèchement,
- remblais (Figure 41),
- drainage,
- introduction de prédateurs (poissons introduits dans les plans d'eau pour la pêche de loisir, Figure 42).

Ces perturbations peuvent potentiellement avoir un impact sur le taux d'occurrence (présence ou non d'individus), le choix de ces zones pour la reproduction et le succès reproductif. Par exemple, des pontes ont été observées dans des plans d'eau où des poissons avaient été introduits pour la pêche de loisir. La présence de poissons prédateurs est un facteur de moindre survie des larves et d'une moindre richesse en amphibiens (Hartel et al., 2007; Laurila and Aho, 1997; Pilliod et al., 2010; Tiberti and von Hardenberg, 2012). Il est donc possible que, en offrant des conditions *a priori* favorables à la reproduction mais en comportant également des prédateurs des œufs et/ou des larves, les lacsensemencés agissent comme des puits écologiques (Tiberti and von Hardenberg, 2012). Toutefois, cet effet peut être partiellement annulé si le plan d'eau comporte suffisamment de végétation pour servir d'abris aux têtards (Hartel et al., 2007). Notons que des prédateurs naturels des œufs ont également été observés sur le terrain, notamment le Triton alpestre (*Ichthyosaura alpestris*, Figure 42).

Nos études de suivi individuel et de génétique du paysage montrent toute l'importance de l'habitat zone humide pour la Grenouille rousse. Pour compléter les modèles paysagers, il pourrait donc être intéressant d'étudier la qualité de chaque site et sa contribution à la connectivité du paysage. Ceci pourrait être fait à partir d'observations de terrain (pour quantifier le niveau d'impact anthropique sur les sites, qualifier la végétation ou inventorier d'éventuels prédateurs) et/ou de télédétection (détermination de la surface en eau libre). Ceci pourrait permettre de déterminer les facteurs influençant la présence de grenouilles et d'étudier le lien existant avec la dispersion et la perméabilité écologique (Ficetola et al., 2012). Une étude de ce type a été envisagée dans le cadre de cette thèse, mais la piste a été abandonnée, faute de temps. L'auteur de ces lignes se réserve le loisir de se repencher sur ce problème à l'avenir.



Figure 41 : Zone humide impactée par les aménagements liés à la station de ski, ici une gare de remontée mécanique du domaine skiable des Arcs (Savoie). La zone humide est partiellement drainée et remblayée. En 2016, des grenouilles rouges venaient tout de même y pondre.



Figure 42 : Deux prédateurs se nourrissant d’œufs ou de têtards de grenouilles. Gauche : triton alpestre, prédateur naturel observé dans le domaine skiable des Menuires (Savoie). Droite : poissons introduits dans un lac du domaine skiable des Arcs (Savoie) pour la pêche de loisir. Photo de droite : Sébastien De Danieli.

2.2. Les domaines skiables : des paysages avec une grande variation intra annuelle

La **saisonnalité** est un parent pauvre de l’étude de la connectivité paysagère. Pourtant, le paysage varie beaucoup au cours d’une année, ce qui est susceptible de modifier sa perméabilité aux déplacements. De plus en plus d’études de connectivité s’intéressent aux variations intra-annuelles du paysage, mais il s’agit principalement d’études récentes (e.g. Martensen et al., 2017; Mui et al., 2017; Osipova et al., 2018).

Nous avons vu que la Grenouille rousse a une activité qui varie grandement selon les saisons. Notamment, elle se déplace plus lors des périodes de migration (printemps, automne) que durant l’été. Or, ces saisons correspondent à des moments où le paysage est particulièrement hétérogène en montagne, notamment du point de vue de l’enneigement (Figure 44 et Figure 43). Comme observé

sur le terrain, les grenouilles arrivent à se déplacer sur la neige, mais il est légitime de penser que celle-ci a une résistance au mouvement supérieure à de la végétation (du fait du froid, du manque d’abris et du risque accru de prédation). Il est donc probable que la connectivité du paysage pour les grenouilles varie grandement au cours d’une année, notamment lorsqu’elles se déplacent pour se reproduire, soit un moment charnière en termes de flux de gènes.

Nous pensons que cet aspect serait à approfondir à l’avenir. Des tests préliminaires à partir des cartes d’enneigement de Theia (Figure 43) ont été effectués durant ce travail de thèse (en faisant varier la résistance de la neige dans des modèles mixtes du type de ceux utilisés dans les chapitres 2 et 3), mais aucun résultat significatif n’en a été tiré.

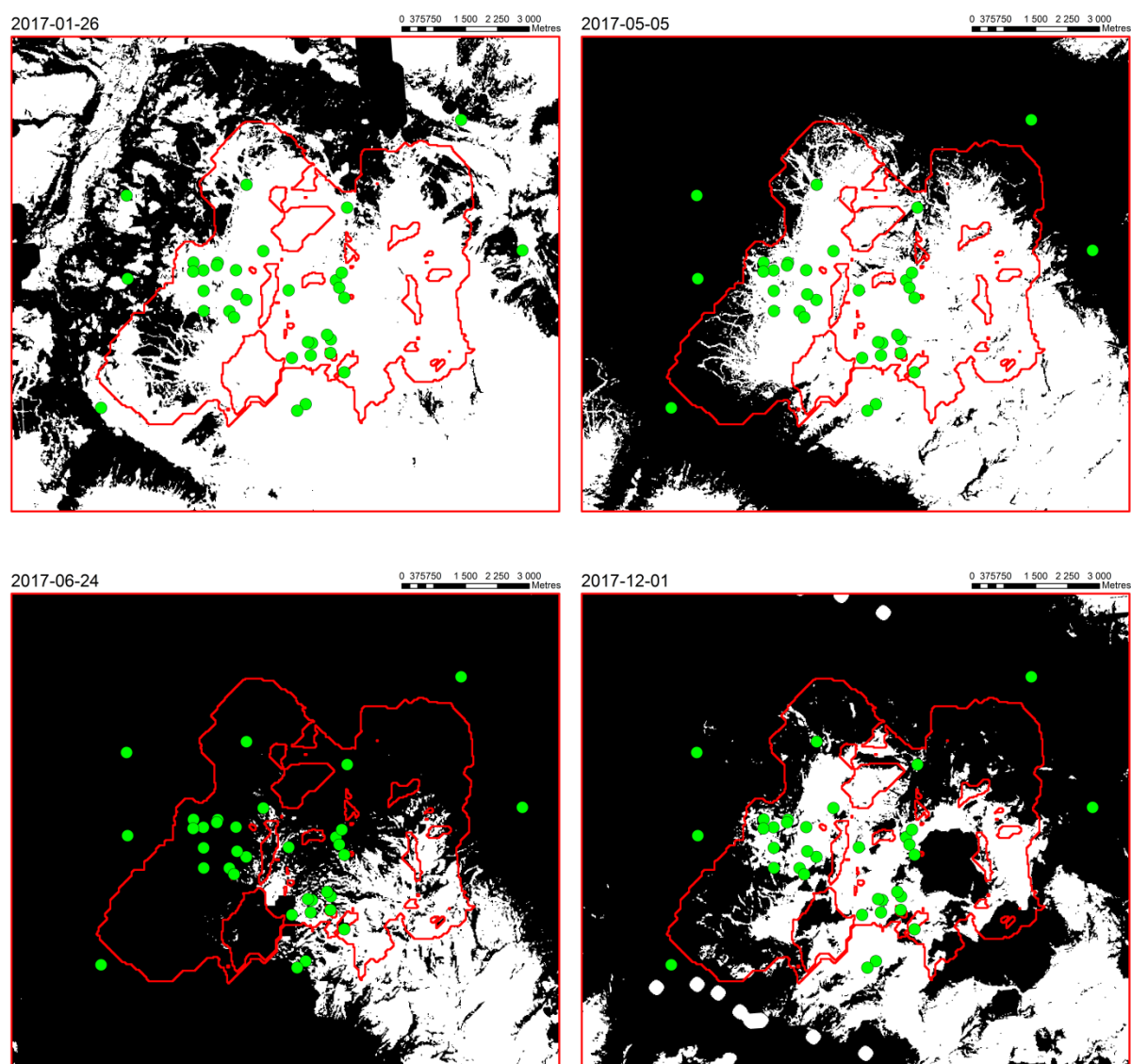


Figure 43 : Cartes d’enneigement du domaine skiable des Arcs (Savoie) obtenues à partir du produit Neige de Theia (<http://www.theia-land.fr/fr/produits/neige>). Ces cartes sont obtenues par traitement des images Sentinel 2 à 20m de résolution. La neige apparaît en blanc, les limites du domaine skiable gravitaire en rouge et les points de prélèvements en vert. Les cartes représentent l’enneigement en janvier, mai, juin et décembre 2017 (de gauche à droite et de haut en bas).



Figure 44 : Une piste de ski de la station des Arcs 1800 (Savoie) prise le 27 mai 2016, soit durant la période de migration et de reproduction de la Grenouille rousse. A cette saison, de la neige est encore présente de manière hétérogène dans le paysage.

2.3. L'optimisation de surfaces de résistance et la multicolinéarité en génétique du paysage

La **colinéarité des variables paysagères** est un problème central en génétique du paysage (Prunier et al., 2015). En effet, les chemins de moindre coûts ou chemins de résistance sont tous dérivés de la structure du paysage et sont donc souvent fortement corrélés, ce qui rend difficile l'identification des meilleurs prédicteurs de la distance génétique.

Plusieurs méthodes existent pour traiter au mieux des données multicolinéaires (Dormann et al., 2013). Les généticiens du paysage se sont emparés du sujet en utilisant très tôt des tests de Mantel (Cushman et al., 2006), mais ceux-ci sont de plus en plus critiqués pour leur faible capacité à détecter les effets du paysage sur le flux de gènes (Guillot and Rousset, 2013; Legendre and Fortin, 2010; Zeller et al., 2016b). Il est ainsi plutôt conseillé d'utiliser des approches multivariées (Bolliger et al., 2014; Legendre and Fortin, 2010)

Nous avons choisi d'utiliser une méthode de **sélection de variables par étapes** (*stepwise selection*) en utilisant l'AIC comme métrique à minimiser. L'AIC favorise les modèles parcimonieux (avec peu de variables) en pénalisant l'ajout de variables peu explicatives (Burnham and Anderson, 2004). Ainsi, les méthodes de sélection de variables peuvent être utilisées pour éliminer des variables corrélées, puisque l'ajout au modèle d'une variable corrélée aux autres n'apporte pas d'information supplémentaire et est pénalisé par l'AIC. Toutefois, la sélection de variables par étapes peut poser des problèmes, notamment si la sélection ne part pas dans le bon sens dès le départ (Dormann et al., 2013).

L'analyse de commonalités (Newton and Spurrell, 1969; Ray-Mukherjee et al., 2014) est une piste prometteuse pour s'affranchir des problèmes de multicolinéarité en génétique du paysage (Prunier et al., 2015). Toutefois, cette technique n'est pas adaptée à l'utilisation de modèles mixtes (MLPE –

Jérôme Prunier, communication personnelle, 31 janvier 2019) et n'est pas applicable dans un contexte d'optimisation de surfaces de résistance (Prunier et al., 2015). L'intégration de méthodes plus robustes pour traiter les données multicollinéaires dans notre processus d'optimisation constitue une piste de réflexion potentielle pour l'avenir.

3. Pour aller plus loin : du comportement individuel à la structure génétique de la métapopulation

Ces travaux de thèse font appel à deux techniques différentes pour estimer la connectivité fonctionnelle du paysage : le suivi individuel et la mesure de flux de gènes entre populations de grenouilles.

Une même propriété du complexe [paysage+animaux] peut donc être évaluée de manières très différentes. Le suivi GPS de grenouilles éclaire sur des mouvements individuels dont on peut tirer, avec suffisamment de données, des conclusions sur les comportements collectifs. La génétique du paysage permet, elle, d'étudier la structure des populations et d'inférer des conclusions sur les processus de dispersion.

Il existe un lien biologique entre les mouvements individuels et la structure génétique observée dans la métapopulation : les individus se déplacent durant leur vie, beaucoup restent cantonnés à leur patch d'habitat (philopatrie) et quelques-uns s'aventurent dans des lieux inconnus plus ou moins éloignés (Pittman et al., 2014; Sinsch, 2014), ce qui, s'ils se reproduisent, entraîne un flux de gènes dans le paysage.

Toutefois, il est bien plus compliqué de combiner tous ces processus dans un même modèle allant de l'individu à la métapopulation. Par exemple, les distances de déplacements observées par suivi individuel ou capture-marquage-recapture sont souvent beaucoup plus faibles que celles déduites des données génétiques (Sinsch, 2014). Ceci est notamment dû à l'actuelle faiblesse des analyses de mouvements d'amphibiens par rapport à d'autres groupes, notamment du fait des balises GPS qui ne sont pas encore parfaitement miniaturisées (voir § 1.2.1). En effet, le suivi de mouvements individuels est généralement effectué sur un effectif restreint. Il omet donc souvent les individus les plus mobiles qui participent à la dispersion inter patches ou inter populations, ce qui entraîne une sous-estimation des distances maximales de dispersion et une mauvaise estimation de la perméabilité du paysage (Sinsch, 2014).

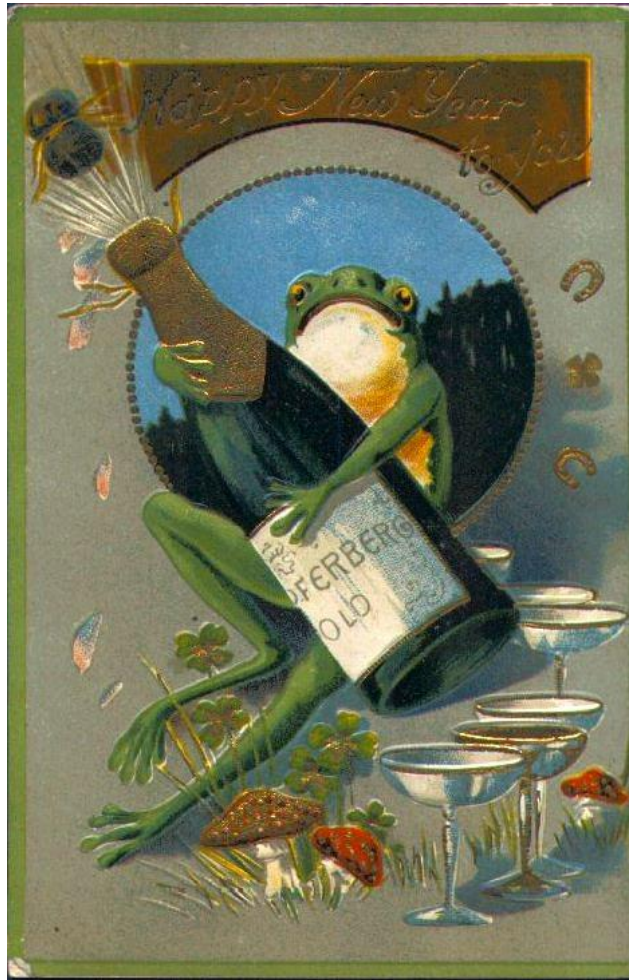
Par ailleurs, la dispersion résulte à la fois du comportement des adultes (par exemple lors de la migration printanière) et des juvéniles (lorsqu'ils se dispersent peu après leur transformation) (Pittman et al., 2014; Rothermel, 2004; Sinsch, 2014). Or, le mouvement des juvéniles est peu connu car techniquement difficile à mesurer (Rothermel, 2004). En mesurant des flux de gènes par analyses génétiques, il est impossible de discriminer les flux dus à la dispersion des adultes de ceux dus à la

dispersion des juvéniles alors qu'ils proviennent de deux processus biologiques distincts. Or, le paysage n'est pas forcément aussi perméable aux mouvements d'adultes que de juvéniles (Rothermel, 2004). En basant des actions de préservation de la connectivité du paysage sur la foi des seules analyses génétiques, il est en réalité possible d'en occulter tout ce qui touche à la dispersion des juvéniles qui sont supposément plus sensibles à la structure du paysage, notamment de la microtopographie (Rothermel, 2004), et donc de passer à côté de possibles barrières écologiques.

Il existe donc des questions scientifiques à lever sur les relations entre mouvements, structure du paysage, dynamique (Cagnacci et al., 2010; Morales et al., 2010) et structure génétique des populations, notamment d'amphibiens (Sinsch, 2014). Ces questions peuvent avoir des implications en termes de conservation des populations. Des défis motivants pour la suite.



Bibliographie



Illustrateur inconnu, 1908

Le savoir, n'est-ce pas, est un bien précieux, trop précieux pour ne pas être partagé !

Alain Ayrolles, *Chasseurs de chimères*, 2006

- ACEMAV (2003). Les Amphibiens de France, Belgique et Luxembourg (Mèze, France: Duguet R., & Melki R. ed.).
- Adamack, A.T., and Gruber, B. (2014). PopGenReport : simplifying basic population genetic analyses in R. *Methods in Ecology and Evolution* 5, 384–387.
- Adriaensen, F., Chardon, J.P., De Blust, G., Swinnen, E., Villalba, S., Gulinck, H., and Matthysen, E. (2003). The application of 'least-cost' modelling as a functional landscape model. *Landscape and Urban Planning* 64, 233–247.
- Ågren, A.M., Lidberg, W., Strömberg, M., Ogilvie, J., and Arp, P.A. (2014). Evaluating digital terrain indices for soil wetness mapping – a Swedish case study. *Hydrology and Earth System Sciences* 18, 3623–3634.
- Alcala, N., and Rosenberg, N.A. (2018). G'_{ST} , Jost's D , and F_{ST} are similarly constrained by allele frequencies: a mathematical, simulation, and empirical study. *Molecular Ecology*.
- Allendorf, F.W. (1986). Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity. *Zoo Biology* 5, 181–190.
- Allentoft, M., and O'Brien, J. (2010). Global Amphibian Declines, Loss of Genetic Diversity and Fitness: A Review. *Diversity* 2, 47–71.
- Almpanidou, V., Mazaris, A.D., Mertzanis, Y., Avraam, I., Antoniou, I., Pantis, J.D., and Sgardelis, S.P. (2014). Providing insights on habitat connectivity for male brown bears: A combination of habitat suitability and landscape graph-based models. *Ecological Modelling* 286, 37–44.
- Angelone, S., Kienast, F., and Holderegger, R. (2011). Where movement happens: scale-dependent landscape effects on genetic differentiation in the European tree frog. *Ecography* 34, 714–722.
- Avgar, T., Potts, J.R., Lewis, M.A., and Boyce, M.S. (2016). Integrated step selection analysis: bridging the gap between resource selection and animal movement. *Methods in Ecology and Evolution* 7, 619–630.
- Baguette, M., and Van Dyck, H. (2007). Landscape connectivity and animal behavior: functional grain as a key determinant for dispersal. *Landscape Ecology* 22, 1117–1129.
- Baguette, M., Blanchet, S., Legrand, D., Stevens, V.M., and Turlure, C. (2013). Individual dispersal, landscape connectivity and ecological networks: Dispersal, connectivity and networks. *Biological Reviews* 88, 310–326.
- Balkenhol, N., and Fortin, M.-J. (2016). Basics of study design: sampling landscape heterogeneity and genetic variation for landscape genetic studies. In *Landscape Genetics: Concepts, Methods, Applications*, (Wiley Blackwell), pp. 58–76.
- Băncilă, R.I., Cogălniceanu, D., Ozgul, A., and Schmidt, B.R. (2017). The effect of aquatic and terrestrial habitat characteristics on occurrence and breeding probability in a montane amphibian: insights from a spatially explicit multistate occupancy model. *Population Ecology* 59, 71–78.
- Barton, K. (2018). MuMin: Multi-model inference.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., and Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using **lme4**. *Journal of Statistical Software* 67.

- Beattie, R.C. (1987). The reproductive biology of common frog (*Rana temporaria*) populations from different altitudes in northern England. *Journal of Zoology* 211, 387–398.
- Berlin, S., Merilä, J., and Ellegren, H. (2000). Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the common frog, *Rana temporaria*. *Molecular Ecology* 9, 1919–1952.
- Bjørneraas, K., Solberg, E.J., Herfindal, I., Moorter, B.V., Rolandsen, C.M., Tremblay, J.-P., Skarpe, C., Sæther, B.-E., Eriksen, R., and Astrup, R. (2011). Moose *Alces alces* habitat use at multiple temporal scales in a human-altered landscape. *Wildlife Biology* 17, 44–54.
- Bolliger, J., Lander, T., and Balkenhol, N. (2014). Landscape genetics since 2003: status, challenges and future directions. *Landscape Ecology* 29, 361–366.
- Bonte, D., Van Dyck, H., Bullock, J.M., Coulon, A., Delgado, M., Gibbs, M., Lehouck, V., Matthysen, E., Mustin, K., Saastamoinen, M., et al. (2012). Costs of dispersal. *Biological Reviews* 87, 290–312.
- Boone, R.B., Johnson, C.M., and Johnson, L.B. (2006). Simulating wood frog movement in central Minnesota, USA using a diffusion model. *Ecological Modelling* 198, 255–262.
- Boyer, M., and Mainguet, M. (2018). Economie des sports d’hiver : grâce aux Alpes du Nord, la France tutoie les sommets. *Le Monde* (19 Février 2018).
- Braaker, S., Kormann, U., Bontadina, F., and Obrist, M.K. (2017). Prediction of genetic connectivity in urban ecosystems by combining detailed movement data, genetic data and multi-path modelling. *Landscape and Urban Planning* 160, 107–114.
- Breder, C.M., Breder, R.B., and Redmond, A.C. (1927). Frog tagging: a method of studying anuran life habits. *Zoologica* 9, 201–229.
- Brookfield, J.F.Y. (1996). A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Mol Ecol* 5, 453–455.
- Bull, E.L. (2000). Comparison of two radio transmitter attachments on Columbia spotted frogs (*Rana luteiventris*). *Herpetological Review* 26–28.
- Burnham, K.P., and Anderson, D.R. (2004). Multimodel Inference: Understanding AIC and BIC in Model Selection. *Sociological Methods & Research* 33, 261–304.
- Cagnacci, F., Boitani, L., Powell, R.A., and Boyce, M.S. (2010). Animal ecology meets GPS-based radiotelemetry: a perfect storm of opportunities and challenges. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365, 2157–2162.
- Calabrese, J.M., and Fagan, W.F. (2004). A comparison-shopper’s guide to connectivity metrics. *Frontiers in Ecology and the Environment* 2, 529–536.
- Centre de ressources Trame verte et bleue (2019). Références juridiques - <http://www.trameverteetbleue.fr/presentation-tvb/references-juridiques> - Consulté le 15 janvier 2019.
- Chandra, A.K., Raghavan, P., Ruzzo, W.L., Smolensky, R., and Tiwari, P. (1996). The electrical resistance of a graph captures its commute and cover times. *Computational Complexity* 6, 312–340.

- Chapuis, M.-P., and Estoup, A. (2007). Microsatellite Null Alleles and Estimation of Population Differentiation. *Molecular Biology and Evolution* 24, 621–631.
- Charney, N.D. (2012). Evaluating expert opinion and spatial scale in an amphibian model. *Ecological Modelling* 242, 37–45.
- Chhatre, V.E., and Emerson, K.J. (2017). StrAuto: automation and parallelization of STRUCTURE analysis. *BMC Bioinformatics* 18.
- Christensen, R.J., and Chow-Fraser, P. (2014). Use of GPS loggers to enhance radio-tracking studies of semi-aquatic freshwater turtles. *Herpetological Conservation and Biology* 9, 18–28.
- Cizel, O. (2017). Zones humides : l'évolution du cadre juridique. *Sciences Eaux & Territoires* 22–27.
- Clarke, R.T., Rothery, P., and Raybould, A.F. (2002). Confidence limits for regression relationships between distance matrices: Estimating gene flow with distance. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics* 7, 361–372.
- Cogălniceanu, D., Băncilă, R., Plăiașu, R., Samoilă, C., and Hartel, T. (2012). Aquatic habitat use by amphibians with specific reference to *Rana temporaria* at high elevations (Retezat Mountains National Park, Romania). *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology* 48, 355–362.
- Cooke, A.S. (1975). Spawn site selection and colony size of the frog (*Rana temporaria*) and the toad (*Bufo bufo*). *Journal of Zoology* 175, 29–38.
- Coulon, A., Morellet, N., Goulard, M., Cargnelutti, B., Angibault, J.-M., and Hewison, A.J.M. (2008). Inferring the effects of landscape structure on roe deer (*Capreolus capreolus*) movements using a step selection function. *Landscape Ecology* 23, 603–614.
- Coulon, A., Aben, J., Palmer, S.C.F., Stevens, V.M., Callens, T., Strubbe, D., Lens, L., Matthysen, E., Baguette, M., and Travis, J.M.J. (2015). A stochastic movement simulator improves estimates of landscape connectivity. *Ecology* 96, 2203–2213.
- Crofoot, M.C., Gilby, I.C., Wikelski, M.C., and Kays, R.W. (2008). Interaction location outweighs the competitive advantage of numerical superiority in *Cebus capucinus* intergroup contests. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 577–581.
- Cumin, G. (1970). Les stations intégrées. *Urbanisme* 50–53.
- Cushman, S.A. (2006). Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: A review and prospectus. *Biological Conservation* 128, 231–240.
- Cushman, S.A., McKelvey, K.S., Hayden, J., and Schwartz, M.K. (2006). Gene Flow in Complex Landscapes: Testing Multiple Hypotheses with Causal Modeling. *The American Naturalist* 168, 486–499.
- Cushman, S.A., McRae, B.H., and McGarigal, K. (2016). Basics of landscape ecology: an introduction to landscapes and population processes for landscape geneticists. In *Landscape Genetics: Concepts, Methods, Applications*, pp. 11–34.
- Decout, S., Manel, S., Miaud, C., and Luque, S. (2012). Integrative approach for landscape-based graph connectivity analysis: a case study with the common frog (*Rana temporaria*) in human-dominated landscapes. *Landscape Ecology* 27, 267–279.

- deMaynadier, P.G., and Hunter Jr., M.L. (1995). The relationship between forest management and amphibian ecology: a review of the North American literature. *Environmental Reviews* 3, 230–261.
- Dormann, C.F., Elith, J., Bacher, S., Buchmann, C., Carl, G., Carré, G., Marquéz, J.R.G., Gruber, B., Lafourcade, B., Leitão, P.J., et al. (2013). Collinearity: a review of methods to deal with it and a simulation study evaluating their performance. *Ecography* 36, 27–46.
- Dubois, C., and Gaucherand, S. (2012). Les zone humides du domaine skiable : présentation, évolution, plan d’action – Commune des Gets.
- Earl, D.A., and vonHoldt, B.M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* 4, 359–361.
- Epps, C.W., and Keyghobadi, N. (2015). Landscape genetics in a changing world: disentangling historical and contemporary influences and inferring change. *Molecular Ecology* 24, 6021–6040.
- Equipe Carene - O. Pasquet, G. Feyt (1989). Paysages ruraux en Savoie - Opérations pilotes de gestion d’espaces façonnés par l’agriculture - Phase constat et tendances (Chambre d’agriculture de Savoie - Conseil général de Savoie).
- van Etten, J. (2017). *R* Package **gdistance** : Distances and Routes on Geographical Grids. *Journal of Statistical Software* 76.
- Evanno, G., Regnaut, S., and Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology* 14, 2611–2620.
- Fahrig, L. (2003). Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34, 487–515.
- Fahrig, L. (2007). Non-optimal animal movement in human-altered landscapes. *Functional Ecology* 21, 1003–1015.
- Fahrig, L. (2017a). *Forty years of bias in habitat fragmentation research* (Oxford University Press).
- Fahrig, L. (2017b). Ecological Responses to Habitat Fragmentation Per Se. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 48, 1–23.
- Ficetola, G.F., Manenti, R., De Bernardi, F., and Padoa-Schioppa, E. (2012). Can patterns of spatial autocorrelation reveal population processes? An analysis with the fire salamander. *Ecography* 35, 693–703.
- Fischer, J., and Lindenmayer, D.B. (2007). Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. *Global Ecology and Biogeography* 16, 265–280.
- Fortin, D., Beyer, H.L., Boyce, M.S., Smith, D.W., Duchesne, T., and Mao, J.S. (2005). Wolves influence elk movements: behavior shapes a trophic cascade in Yellowstone National Park. *Ecology* 86, 1320–1330.
- Fouss, F., Pirotte, A., Renders, J., and Saerens, M. (2007). Random-Walk Computation of Similarities between Nodes of a Graph with Application to Collaborative Recommendation. *IEEE Transactions on Knowledge and Data Engineering* 19, 355–369.

- François, H. (2007). De la station ressource pour le territoire au territoire ressource pour la station - Le cas des stations de moyenne montagne périurbaines de Grenoble - Thèse de doctorat.
- Frankham, R. (2005). Genetics and extinction. *Biological Conservation* 126, 131–140.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Ralls, K., Eldridge, M.D.B., Dudash, M.R., Fenster, C.B., Lacy, R.C., and Sunnucks, P. (2017). Genetic management of fragmented animal and plant populations (Oxford, United Kingdom: Oxford University Press).
- Gasc, J.-P., Cabela, A., Crnobrnja-Isailovic, J., Dolmen, D., Grossenbacher, K., Haffner, P., Lescure, J., Martens, H., Martinez Rica, J.P., Maurin, H., et al. (2009). Atlas of Amphibians and Reptiles in Europe (Paris: Muséum national d'Histoire naturelle).
- Gaucherand, S., and Isselin-Nondedeu, F. (2011). Utilisation du système d'information géographique comme outil de gestion de zones humides d'altitude: le cas du domaine skiable de Val Thorens. *Sciences Eaux & Territoires* 5, 60–62.
- Gaucherand, S., Evette, A., François, H., Paccard, P., Perretier, C., and Wlerick, L. (2009). Wetlands and ski resorts in the French Alps: main issues and innovative ideas for the preservation of wetlands in ski areas. (EGU General assembly, Vienna), p.
- Gilbert, K.J., Andrew, R.L., Bock, D.G., Franklin, M.T., Kane, N.C., Moore, J.-S., Moyers, B.T., Renaut, S., Rennison, D.J., Veen, T., et al. (2012). Recommendations for utilizing and reporting population genetic analyses: the reproducibility of genetic clustering using the program STRUCTURE. *Molecular Ecology* 21, 4925–4930.
- Goslee, S.C., and Urban, D.L. (2007). The **ecodist** Package for Dissimilarity-based Analysis of Ecological Data. *Journal of Statistical Software* 22.
- Graves, T.A., Beier, P., and Royle, J.A. (2013). Current approaches using genetic distances produce poor estimates of landscape resistance to interindividual dispersal. *Molecular Ecology* 22, 3888–3903.
- Groff, L.A., Pitt, A.L., Baldwin, R.F., Calhoun, A.J.K., and Loftin, C.S. (2015). Evaluation of a waistband for attaching external radiotransmitters to anurans: Attaching Radiotransmitters to Anurans. *Wildlife Society Bulletin* 39, 610–615.
- Groff, L.A., Loftin, C.S., and Calhoun, A.J.K. (2017). Predictors of breeding site occupancy by amphibians in montane landscapes: Wetland Occupancy by Pool-Breeding Amphibians. *The Journal of Wildlife Management* 81, 269–278.
- Guillot, G., and Rousset, F. (2013). Dismantling the Mantel tests. *Methods in Ecology and Evolution* 4, 336–344.
- Gustafson, K.D., Newman, R.A., Rhen, T., and Tkach, V.V. (2018). Spatial and genetic structure of directly-transmitted parasites reflects the distribution of their specific amphibian hosts. *Population Ecology* 60, 261–273.
- Gutiérrez-Rodríguez, J., Gonçalves, J., Civantos, E., and Martínez-Solano, I. (2017). Comparative landscape genetics of pond-breeding amphibians in Mediterranean temporal wetlands: The positive role of structural heterogeneity in promoting gene flow. *Molecular Ecology* 26, 5407–5420.

- Haddad, N.M., Brudvig, L.A., Clobert, J., Davies, K.F., Gonzalez, A., Holt, R.D., Lovejoy, T.E., Sexton, J.O., Austin, M.P., Collins, C.D., et al. (2015). Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Science Advances* *1*, e1500052.
- Hadley, G.L., and Wilson, K.R. (2004). Patterns of density and survival in small mammals in ski runs and adjacent forest patches. *Journal of Wildlife Management* *68*, 288–298.
- Hale, M.L., Burg, T.M., and Steeves, T.E. (2012). Sampling for Microsatellite-Based Population Genetic Studies: 25 to 30 Individuals per Population Is Enough to Accurately Estimate Allele Frequencies. *PLoS ONE* *7*, e45170.
- Hall, L.A., and Beissinger, S.R. (2014). A practical toolbox for design and analysis of landscape genetics studies. *Landscape Ecology* *29*, 1487–1504.
- Hanks, E.M., and Hooten, M.B. (2013). Circuit Theory and Model-Based Inference for Landscape Connectivity. *Journal of the American Statistical Association* *108*, 22–33.
- Hanski, I. (1994). A Practical Model of Metapopulation Dynamics. *The Journal of Animal Ecology* *63*, 151.
- Hanski, I., and Gilpin, M. (1991). Metapopulation dynamics: brief history and conceptual domain. *Biological Journal of the Linnean Society* *42*, 3–16.
- Hanski, I., Moilanen, A., Pakkala, T., and Kuussaari, M. (1996). The Quantitative Incidence Function Model and Persistence of an Endangered Butterfly Metapopulation. *Conservation Biology* *10*, 578–590.
- Hargrove, W.W., and Pickering, J. (1992). Pseudoreplication: a sine qua non for regional ecology. *Landscape Ecology* *6*, 251–258.
- Hartel, T., Nemes, S., Cogălniceanu, D., Öllerer, K., Schweiger, O., Moga, C.-I., and Demeter, L. (2007). The effect of fish and aquatic habitat complexity on amphibians. *Hydrobiologia* *583*, 173–182.
- Hebblewhite, M., and Haydon, D.T. (2010). Distinguishing technology from biology: a critical review of the use of GPS telemetry data in ecology. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* *365*, 2303–2312.
- Hitchings, S.P., and Beebee, T.J. (1997). Genetic substructuring as a result of barriers to gene flow in urban *Rana temporaria* (common frog) populations: implications for biodiversity conservation. *Heredity* *79*, 117.
- Holderegger, R., and Di Giulio, M. (2010). The genetic effects of roads: A review of empirical evidence. *Basic and Applied Ecology* *11*, 522–531.
- Hurlbert, S.H. (1984). Pseudoreplication and the Design of Ecological Field Experiments. *Ecological Monographs* *54*, 187–211.
- Infascelli, R., Faugno, S., Pindozi, S., Boccia, L., and Merot, P. (2013). Testing Different Topographic Indexes to Predict Wetlands Distribution. *Procedia Environmental Sciences* *19*, 733–746.
- Jaquiéry, J., Broquet, T., Hirzel, A.H., Yearsley, J., and Perrin, N. (2011). Inferring landscape effects on dispersal from genetic distances: how far can we go? *Molecular Ecology* *20*, 692–705.

Jenkins, D.G., Carey, M., Czerniewska, J., Fletcher, J., Hether, T., Jones, A., Knight, S., Knox, J., Long, T., Mannino, M., et al. (2010). A meta-analysis of isolation by distance: relic or reference standard for landscape genetics? *Ecography* no-no.

Jochimsen, D.M., Peterson, C.R., Andrews, K.M., and Gibbons, J.W. (2004). A Literature Review of the Effects of Roads on Amphibians and Reptiles and the Measures Used to Minimize Those Effects. Idaho Fish and Game Department - USDA Forest Service 80p.

Johansson, M., Primmer, C.R., Sahlsten, J., and Merilä, J. (2005). The influence of landscape structure on occurrence, abundance and genetic diversity of the common frog, *Rana temporaria*. *Global Change Biology* 11, 1664–1679.

Joly, P., Morand, C., and Cohas, A. (2003). Habitat fragmentation and amphibian conservation: building a tool for assessing landscape matrix connectivity. *Comptes Rendus Biologies* 326, 132–139.

Jost, L. (2008). G_{ST} and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology* 17, 4015–4026.

Karum (2012). Observatoire environnemental du domaine skiable des Arcs - Etat initial 2012.

Karum (2014). Observatoire KARUM - Domaine skiable des Menuires - St-Martin-de-Belleville - Etat initial - Campagne 2014.

Kays, R., Crofoot, M.C., Jetz, W., and Wikelski, M. (2015). Terrestrial animal tracking as an eye on life and planet. *Science* 348, aaa2478.

Keßler, T., Cierjacks, A., Ernst, R., and Dziock, F. (2012). Direct and indirect effects of ski run management on alpine Orthoptera. *Biodiversity and Conservation* 21, 281–296.

Khimoun, A., Peterman, W., Eraud, C., Faivre, B., Navarro, N., and Garnier, S. (2017). Landscape genetic analyses reveal fine-scale effects of forest fragmentation in an insular tropical bird. *Molecular Ecology* 26, 4906–4919.

Kimura, M., and Weiss, G.H. (1964). The stepping stone model of population structure and the decrease of genetic correlation within distance. *Genetics* 49, 16.

Klaassen, R.H.G., Hake, M., Strandberg, R., Koks, B.J., Trierweiler, C., Exo, K.-M., Bairlein, F., and Alerstam, T. (2014). When and where does mortality occur in migratory birds? Direct evidence from long-term satellite tracking of raptors. *Journal of Animal Ecology* 83, 176–184.

Knafou, R. (1978). Les stations intégrées de sports d'hiver des Alpes françaises (Paris).

Kopecký, M., and Čížková, Š. (2010). Using topographic wetness index in vegetation ecology: does the algorithm matter?: Topographic wetness index in vegetation ecology. *Applied Vegetation Science* 13, 450–459.

Kopelman, N.M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N.A., and Mayrose, I. (2015). CLUMPAK : a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across *K*. *Molecular Ecology Resources* 15, 1179–1191.

Kovar, R., Brabec, M., Vita, R., and Bocek, R. (2009). Spring migration distances of some Central European amphibian species. *Amphibia-Reptilia* 30, 367–378.

- Kubota, H., and Shimano, K. (2010). Effects of ski resort management on vegetation. *Landscape and Ecological Engineering* 6, 61–74.
- Laiolo, P., and Rolando, A. (2005). Forest bird diversity and ski-runs: a case of negative edge effect. *Animal Conservation* 8, 9–16.
- Landguth, E.L., Cushman, S.A., Schwartz, M.K., McKELVEY, K.S., Murphy, M., and Luikart, G. (2010). Quantifying the lag time to detect barriers in landscape genetics. *Molecular Ecology* 19, 4179–4191.
- Landguth, E.L., Fedy, B.C., OYLER-McCANCE, S.J., Garey, A.L., Emel, S.L., Mumma, M., Wagner, H.H., Fortin, M.-J., and Cushman, S.A. (2012). Effects of sample size, number of markers, and allelic richness on the detection of spatial genetic pattern. *Molecular Ecology Resources* 12, 276–284.
- LaPoint, S., Gallery, P., Wikelski, M., and Kays, R. (2013). Animal behavior, cost-based corridor models, and real corridors. *Landscape Ecology* 28, 1615–1630.
- Latham, A.D.M., Latham, M.C., Anderson, D.P., Cruz, J., Herries, D., and Hebblewhite, M. (2015). The GPS craze: six questions to address before deciding to deploy GPS technology on wildlife. *New Zealand Journal of Ecology* 39, 11.
- Laurila, A., and Aho, T. (1997). Do Female Common Frogs Choose Their Breeding Habitat to Avoid Predation on Tadpoles? *Oikos* 78, 585.
- Legendre, P., and Fortin, M.-J. (2010). Comparison of the Mantel test and alternative approaches for detecting complex multivariate relationships in the spatial analysis of genetic data: *Molecular Ecology Resources* 10, 831–844.
- Levins, R. (1969). Some Demographic and Genetic Consequences of Environmental Heterogeneity for Biological Control. *Bulletin of the Entomological Society of America* 15, 237–240.
- Lima, S.L., and Zollner, P.A. (1996). Towards a behavioral ecology of ecological landscapes. *Trends in Ecology & Evolution* 11, 131–135.
- Lloyd, M.W., Campbell, L., and Neel, M.C. (2013). The Power to Detect Recent Fragmentation Events Using Genetic Differentiation Methods. *PLoS ONE* 8, e63981.
- Ludwig, G., Sinsch, U., and Pelster, B. (2013). Migratory behaviour during autumn and hibernation site selection in common frogs (*Rana temporaria*) at high altitude. *The Herpetological Journal* 23, 121–124.
- Ludwig, G., Sinsch, U., and Pelster, B. (2015). Behavioural adaptations of *Rana temporaria* to cold climates. *Journal of Thermal Biology* 49–50, 82–90.
- Manel, S., and Holderegger, R. (2013). Ten years of landscape genetics. *Trends in Ecology & Evolution* 28, 614–621.
- Manel, S., Schwartz, M.K., Luikart, G., and Taberlet, P. (2003). Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology & Evolution* 18, 189–197.
- Manly, B.F.J., McDonald, L.L., Thomas, D.L., McDonald, T.L., and Erickson, W.P. (2004). *Resource selection by animals: Statistical design and analysis for field studies (2nd edition)* (New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow: Kluwer Academic Publishers).

- Marsh, D.M., and Trenham, P.C. (2001). Metapopulation Dynamics and Amphibian Conservation. *Conservation Biology* 15, 10.
- Martensen, A.C., Saura, S., and Fortin, M.-J. (2017). Spatio-temporal connectivity: assessing the amount of reachable habitat in dynamic landscapes. *Methods in Ecology and Evolution* 8, 1253–1264.
- Martof, B. (1953). Home Range and Movements of the Green Frog, *Rana clamitans*. *Ecology* 34, 529–543.
- Matsuba, C., and Merilä, J. (2009). Isolation and characterization of 145 polymorphic microsatellite loci for the common frog (*Rana temporaria*): Permanent genetic resources note. *Molecular Ecology Resources* 9, 555–562.
- Matthews, K.R. (2003). Response of Mountain Yellow-Legged Frogs, *Rana muscosa*, to Short Distance Translocation. *Journal of Herpetology* 37, 621–626.
- Mazerolle, M. (2006). Improving data analysis in herpetology: using Akaike's Information Criterion (AIC) to assess the strength of biological hypotheses. *Amphibia-Reptilia* 27, 169–180.
- Mazerolle, M.J., and Desrochers, A. (2005). Landscape resistance to frog movements. *Canadian Journal of Zoology* 83, 455–464.
- McCallum, M.L. (2007). Amphibian Decline or Extinction? Current Declines Dwarf Background Extinction Rate. *Journal of Herpetology* 41, 483–491.
- McGarigal, K., Cushman, S.A., and Ene, E. (2012). FRAGSTATS v4: Spatial Pattern Analysis Program for Categorical and Continuous Maps. Computer software program produced by the authors at the University of Massachusetts, Amherst. Available at the following web site: <http://www.umass.edu/landeco/research/fragstats/fragstats.html>.
- McRae, B.H. (2006). Isolation by resistance. *Evolution* 60, 1551–1561.
- Meirmans, P.G., and Hedrick, P.W. (2011). Assessing population structure: FST and related measures: Invited technical review. *Molecular Ecology Resources* 11, 5–18.
- Miaud, C., Guyétant, R., and Elmberg, J. (1999). Variations in life-history traits in the common frog *Rana temporaria* (Amphibia: Anura): a literature review and new data from the French Alps. *Journal of Zoology* 249, 61–73.
- Miaud, C., Montgelard, C., Arnal, V., and Manel, S. (2015). Connectipop38 : comprendre les relations entre le paysage et la structuration des populations animales (Ecole pratique des hautes études, Laboratoire population environnement développement).
- Milanesi, P., Holderegger, R., Caniglia, R., Fabbri, E., Galaverni, M., and Randi, E. (2017). Expert-based versus habitat-suitability models to develop resistance surfaces in landscape genetics. *Oecologia* 183, 67–79.
- Morales, J.M., Moorcroft, P.R., Matthiopoulos, J., Frair, J.L., Kie, J.G., Powell, R.A., Merrill, E.H., and Haydon, D.T. (2010). Building the bridge between animal movement and population dynamics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365, 2289–2301.

- Mueller, T., Lenz, J., Caprano, T., Fiedler, W., and Böhning-Gaese, K. (2014). Large frugivorous birds facilitate functional connectivity of fragmented landscapes. *Journal of Applied Ecology* *51*, 684–692.
- Mui, A.B., Caverhill, B., Johnson, B., Fortin, M.-J., and He, Y. (2017). Using multiple metrics to estimate seasonal landscape connectivity for Blanding’s turtles (*Emydoidea blandingii*) in a fragmented landscape. *Landscape Ecology* *32*, 531–546.
- Mullen, K.M. (2014). Continuous Global Optimization in R. *Journal of Statistical Software* *60*.
- Murphy, M.A., Evans, J.S., Cushman, S.A., and Storfer, A. (2008). Representing genetic variation as continuous surfaces: an approach for identifying spatial dependency in landscape genetic studies. *Ecography* *31*, 685–697.
- Murphy, M.A., Dezzani, R., Pilliod, D.S., and Storfer, A. (2010). Landscape genetics of high mountain frog metapopulations. *Molecular Ecology* *19*, 3634–3649.
- Muths, E. (2003). A Radio Transmitter Belt for Small Ranid Frogs. *Herpetological Review* *34*, 345–348.
- Nagy, M., Ákos, Z., Biro, D., and Vicsek, T. (2010). Hierarchical group dynamics in pigeon flocks. *Nature* *464*, 890–893.
- Nathan, R., Getz, W.M., Revilla, E., Holyoak, M., Kadmon, R., Saltz, D., and Smouse, P.E. (2008). A movement ecology paradigm for unifying organismal movement research. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *105*, 19052–19059.
- Nei, M. (1977). F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Annals of Human Genetics* *41*, 225–233.
- Newton, R.G., and Spurrell, D.J. (1969). Element Analysis-The Anatomy of Multiple Regression. *The Statistician* *19*, 143.
- Northrup, J.M., Pitt, J., Muhly, T.B., Stenhouse, G.B., Musiani, M., and Boyce, M.S. (2012). Vehicle traffic shapes grizzly bear behaviour on a multiple-use landscape. *Journal of Applied Ecology* *49*, 1159–1167.
- Osipova, L., Okello, M.M., Njumbi, S.J., Ngene, S., Western, D., Hayward, M.W., and Balkenhol, N. (2018). Using step-selection functions to model landscape connectivity for African elephants: accounting for variability across individuals and seasons. *Animal Conservation*.
- Paulhus, D.L., Robins, R.W., Trzesniewski, K.H., and Tracy, J.L. (2004). Two Replicable Suppressor Situations in Personality Research. *Multivariate Behavioral Research* *39*, 303–328.
- Peterman, W.E. (2018). ResistanceGA : An R package for the optimization of resistance surfaces using genetic algorithms. *Methods in Ecology and Evolution* *9*, 1638–1647.
- Pilliod, D.S., Hossack, B.R., Bahls, P.F., Bull, E.L., Corn, P.S., Hokit, G., Maxell, B.A., Munger, J.C., and Wyrick, A. (2010). Non-native salmonids affect amphibian occupancy at multiple spatial scales: Multi-scale fish effects on amphibians. *Diversity and Distributions* *16*, 959–974.
- Pittman, S.E., Osbourn, M.S., and Semlitsch, R.D. (2014). Movement ecology of amphibians: A missing component for understanding population declines. *Biological Conservation* *169*, 44–53.

- Pritchard, J.K., Stephens, M., and Donnelly, P. (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* 155, 945–959.
- Prunier, J.G., Kaufmann, B., Fenet, S., Picard, D., Pompanon, F., Joly, P., and Lena, J.P. (2013). Optimizing the trade-off between spatial and genetic sampling efforts in patchy populations: towards a better assessment of functional connectivity using an individual-based sampling scheme. *Molecular Ecology* 22, 5516–5530.
- Prunier, J.G., Colyn, M., Legendre, X., Nimon, K.F., and Flamand, M.C. (2015). Multicollinearity in spatial genetics: separating the wheat from the chaff using commonality analyses. *Molecular Ecology* 24, 263–283.
- Prunier, J.G., Dubut, V., Chikhi, L., and Blanchet, S. (2017). Contribution of spatial heterogeneity in effective population sizes to the variance in pairwise measures of genetic differentiation. *Methods in Ecology and Evolution* 8, 1866–1877.
- R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Ray-Mukherjee, J., Nimon, K., Mukherjee, S., Morris, D.W., Slotow, R., and Hamer, M. (2014). Using commonality analysis in multiple regressions: a tool to decompose regression effects in the face of multicollinearity. *Methods in Ecology and Evolution* 5, 320–328.
- Reeves, P.A., Bowker, C.L., Fettig, C.E., Tembrock, L.R., and Richards, C.M. (2016). Effect of error and missing data on population structure inference using microsatellite data.
- Relethford, J.H. (1991). Genetic Drift and Anthropometric Variation in Ireland. *Human Biology* 63, 155–165.
- Richard, Y., and Armstrong, D.P. (2010). Cost distance modelling of landscape connectivity and gap-crossing ability using radio-tracking data. *Journal of Applied Ecology* 47, 603–610.
- Richardson, J.L. (2012). Divergent landscape effects on population connectivity in two co-occurring amphibian species. *Molecular Ecology* 21, 4437–4451.
- Richardson, J.L., Brady, S.P., Wang, I.J., and Spear, S.F. (2016). Navigating the pitfalls and promise of landscape genetics. *Molecular Ecology* 25, 849–863.
- Richards-Zawacki, C.L. (2009). Effects of slope and riparian habitat connectivity on gene flow in an endangered Panamanian frog, *Atelopus varius*. *Diversity and Distributions* 15, 796–806.
- Roever, C.L., Boyce, M.S., and Stenhouse, G.B. (2010). Grizzly bear movements relative to roads: application of step selection functions. *Ecography* 33, 1113–1122.
- Ronce, O. (2007). How Does It Feel to Be Like a Rolling Stone? Ten Questions About Dispersal Evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 38, 231–253.
- Rothermel, B.B. (2004). Migratory success of juveniles: a potential constraint on connectivity for pond-breeding amphibians. *Ecological Applications* 14, 1535–1546.
- Rowe, G., and Beebee, T.J.C. (2001). Polymerase chain reaction primers for microsatellite loci in the common frog *Rana temporaria*. *Molecular Ecology Notes* 1, 6–4.

- Rowley, J., and Alford, R. (2007). Techniques for tracking amphibians: The effects of tag attachment, and harmonic direction finding versus radio telemetry. *Amphibia-Reptilia* 28, 367–376.
- Ryser, J. (1996). Comparative life histories of low- and high-altitude populations of the common frog *Rana temporaria*. *Amphibia-Reptilia* 17, 183–195.
- Safner, T., Miaud, C., Gaggiotti, O., Decout, S., Rioux, D., Zundel, S., and Manel, S. (2011). Combining demography and genetic analysis to assess the population structure of an amphibian in a human-dominated landscape. *Conservation Genetics* 12, 161–173.
- Sato, C.F., Wood, J.T., and Lindenmayer, D.B. (2013). The Effects of Winter Recreation on Alpine and Subalpine Fauna: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE* 8, e64282.
- Sato, C.F., Wood, J.T., Schroder, M., Green, K., Osborne, W.S., Michael, D.R., and Lindenmayer, D.B. (2014a). An experiment to test key hypotheses of the drivers of reptile distribution in subalpine ski resorts. *Journal of Applied Ecology* 51, 13–22.
- Sato, C.F., Wood, J.T., Schroder, M., Michael, D.R., Osborne, W.S., Green, K., and Lindenmayer, D.B. (2014b). Designing for conservation outcomes: the value of remnant habitat for reptiles on ski runs in subalpine landscapes. *Landscape Ecology* 29, 1225–1236.
- Saura, S., Bodin, Ö., and Fortin, M.-J. (2014). Stepping stones are crucial for species' long-distance dispersal and range expansion through habitat networks. *Journal of Applied Ecology* 51, 171–182.
- Segelbacher, G., Cushman, S.A., Epperson, B.K., Fortin, M.-J., Francois, O., Hardy, O.J., Holderegger, R., Taberlet, P., Waits, L.P., and Manel, S. (2010). Applications of landscape genetics in conservation biology: concepts and challenges. *Conservation Genetics* 11, 375–385.
- Semlitsch, R.D. (2000). Principles for Management of Aquatic-Breeding Amphibians. *The Journal of Wildlife Management* 64, 615.
- Serrouya, R., Paetkau, D., McLELLAN, B.N., Boutin, S., Campbell, M., and Jenkins, D.A. (2012). Population size and major valleys explain microsatellite variation better than taxonomic units for caribou in western Canada. *Molecular Ecology* 21, 2588–2601.
- Shirk, A.J., Wallin, D.O., Cushman, S.A., Rice, C.G., and Warheit, K.I. (2010). Inferring landscape effects on gene flow: a new model selection framework. *Molecular Ecology* 19, 3603–3619.
- Short Bull, R.A., Cushman, S.A., Mace, R., Chilton, T., Kendall, K.C., Landguth, E.L., Schwartz, M.K., Mckelvey, K., Allendorf, F.W., and Luikart, G. (2011). Why replication is important in landscape genetics: American black bear in the Rocky Mountains. *Molecular Ecology* 20, 1092–1107.
- Signer, J., Fieberg, J., and Avgar, T. (2018). Animal Movement Tools (amt): R-Package for Managing Tracking Data and Conducting Habitat Selection Analyses. *ArXiv:1805.03227 [q-Bio]*.
- Sinsch, U. (2014). Movement ecology of amphibians: from individual migratory behaviour to spatially structured populations in heterogeneous landscapes. *Canadian Journal of Zoology* 92, 491–502.
- Spear, S.F., and Storfer, A. (2008). Landscape genetic structure of coastal tailed frogs (*Ascaphus truei*) in protected vs. managed forests. *Molecular Ecology* 17, 4642–4656.
- Spear, S., Cushman, S., and McRae, B.H. (2016). Resistance surface modelling in landscape genetics. In *Landscape Genetics: Concepts, Methods, Applications*, (Wiley Blackwell), pp. 129–148.

- Spear, S.F., Balkenhol, N., Fortin, M.-J., Mcrae, B.H., and Scribner, K. (2010). Use of resistance surfaces for landscape genetic studies: considerations for parameterization and analysis: Resistance surfaces in landscape genetics. *Molecular Ecology* 19, 3576–3591.
- Squires, J.R., DeCesare, N.J., Olson, L.E., Kolbe, J.A., Hebblewhite, M., and Parks, S.A. (2013). Combining resource selection and movement behavior to predict corridors for Canada lynx at their southern range periphery. *Biological Conservation* 157, 187–195.
- SRCE Rhône-Alpes (2014). Schéma régional de cohérence écologique de Rhône-Alpes.
- Station de ski des Arcs (2019). L'histoire de la station de ski des Arcs - <https://www.lesarcs.com/histoire.html> - consulté le 9 février 2019.
- Stevens, V.M., Verkenne, C., Vandewoestijne, S., Wesselingh, R.A., and Baguette, M. (2006). Gene flow and functional connectivity in the natterjack toad. *Molecular Ecology* 15, 2333–2344.
- Storfer, A., Murphy, M.A., Spear, S.F., Holderegger, R., and Waits, L.P. (2010). Landscape genetics: where are we now? *Molecular Ecology* 19, 3496–3514.
- Strong, A.M., Rimmer, C.C., McFarland, K.P., and Hagen, K. (2002). Effects of mountain resorts on wildlife. *Vt Law Rev* 689–716.
- Stuart, S.N., Chanson, J.S., Cox, N.A., Young, B.E., Rodrigues, A.S.L., Fishman, D.L., and Waller, R.W. (2004). Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* 306, 1783–1786.
- Tattersall, G.J., and Ultsch, G.R. (2008). Physiological Ecology of Aquatic Overwintering in Ranid Frogs. *Biological Reviews* 83, 119–140.
- Taylor, P.D., Fahrig, L., Henein, K., and Merriam, G. (1993). Connectivity Is a Vital Element of Landscape Structure. *Oikos* 68, 571.
- Taylor, P.D., Fahrig, L., and With, K.A. (2006). Landscape connectivity: a return to the basics. In *Connectivity Conservation*, K.R. Crooks, and M. Sanjayan, eds. (Cambridge: Cambridge University Press), pp. 29–43.
- Testud, G. (2014). Echelles temporelle et spatiale de la structuration génétique chez la grenouille rousse (*Rana temporaria*) (master thesis).
- Thomas, B., Holland, J.D., and Minot, E.O. (2011). Wildlife tracking technology options and cost considerations. *Wildlife Research* 38, 653.
- Thurfjell, H., Ciuti, S., and Boyce, M.S. (2014). Applications of step-selection functions in ecology and conservation. *Movement Ecology* 2, 4.
- Tiberti, R., and von Hardenberg, A. (2012). Impact of introduced fish on Common frog (*Rana temporaria*) close to its altitudinal limit in alpine lakes. *Amphibia-Reptilia* 33, 303–307.
- Toledo, S., Kishon, O., Orchan, Y., Bartan, Y., Sapir, N., Vortman, Y., and Nathan, R. (2014). Lightweight low-cost wildlife tracking tags using integrated transceivers. In *2014 6th European Embedded Design in Education and Research Conference (EDERC)*, (Milano, Italy: IEEE), pp. 287–291.

van Toor, M.L., Kranstauber, B., Newman, S.H., Prosser, D.J., Takekawa, J.Y., Technitis, G., Weibel, R., Wikelski, M., and Safi, K. (2018). Integrating animal movement with habitat suitability for estimating dynamic migratory connectivity. *Landscape Ecology* 33, 879–893.

Trochet, A., Moulherat, S., Calvez, O., Stevens, V., Clobert, J., and Schmeller, D. (2014). A database of life-history traits of European amphibians. *Biodiversity Data Journal* 2, e4123.

Trumbo, D.R., Spear, S.F., Baumsteiger, J., and Storfer, A. (2013). Rangewide landscape genetics of an endemic Pacific northwestern salamander. *Molecular Ecology* 22, 1250–1266.

Tucker, M.A., Böhning-Gaese, K., Fagan, W.F., Fryxell, J.M., Van Moorter, B., Alberts, S.C., Ali, A.H., Allen, A.M., Attias, N., Avgar, T., et al. (2018). Moving in the Anthropocene: Global reductions in terrestrial mammalian movements. *Science* 359, 466–469.

Turchin, P. (1998). *Quantitative analysis of movements: measuring and modeling population redistribution in animals and plants* (Sinauer).

Van Buskirk, J. (2005). Local and landscape influence on amphibian occurrence and abundance. *Ecology* 86, 1936–1947.

Vences, M., Galán, P., Palanca, A., Vieites, D.R., Nieto, S., and Rey, J. (2000). Summer microhabitat use and diel activity cycles in a high altitude Pyrenean population of *Rana temporaria*. *Herpetological Journal* 10, 49–56.

Vences, M., Grossebacher, K., Puente, M., Palanca, A., and Vieites, D.R. (2003). The Cambale's fairy tale: elevational limits of *Rana temporaria* (Amphibia: Ranidae) and other European amphibians revisited. 14.

Vences, M., Susanne Hauswaldt, J., Steinfartz, S., Rupp, O., Goesmann, A., Künzel, S., Orozco-Wengel, P., Vieites, D.R., Nieto-Roman, S., Haas, S., et al. (2013). Radically different phylogeographies and patterns of genetic variation in two European brown frogs, genus *Rana*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 68, 657–670.

Vergara, M., Cushman, S.A., and Ruiz-González, A. (2017). Ecological differences and limiting factors in different regional contexts: landscape genetics of the stone marten in the Iberian Peninsula. *Landscape Ecology* 32, 1269–1283.

Verity, R., and Nichols, R.A. (2014). What is genetic differentiation, and how should we measure it- G_{ST} , D , neither or both? *Molecular Ecology* 23, 4216–4225.

Vignieri, S.N. (2005). Streams over mountains: influence of riparian connectivity on gene flow in the Pacific jumping mouse (*Zapus trinotatus*). *Molecular Ecology* 14, 1925–1937.

Vos, C.C., Goedhart, P.W., Lammertsma, D.R., and Spitzen-Van der Sluijs, A.M. (2007). Matrix permeability of agricultural landscapes: an analysis of movements of the common frog (*Rana temporaria*). *The Herpetological Journal* 17, 174–182.

Wagner, H.H., and Fortin, F., Marie-Josée (2016). Basics of spatial data analysis: linking landscape and genetic data for landscape genetic studies. In *Landscape Genetics: Concepts, Methods, Applications*, (Wiley Blackwell), pp. 77–98.

- Waits, L.P., and Storfer, A. (2016). Basics of population genetics: quantifying neutral and adaptive genetic variation for landscape genetic studies. In *Landscape Genetics: Concepts, Methods, Applications*, (Wiley Blackwell), pp. 35–57.
- Wake, D.B., and Vredenburg, V.T. (2008). Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *105*, 11466–11473.
- Wang, I.J., Savage, W.K., and Bradley Shaffer, H. (2009). Landscape genetics and least-cost path analysis reveal unexpected dispersal routes in the California tiger salamander (*Ambystoma californiense*). *Molecular Ecology* *18*, 1365–1374.
- Wang, Y.-H., Yang, K.-C., Bridgman, C.L., and Lin, L.-K. (2008). Habitat suitability modelling to correlate gene flow with landscape connectivity. *Landscape Ecology*.
- Wasserman, T.N., Cushman, S.A., Schwartz, M.K., and Wallin, D.O. (2010). Spatial scaling and multi-model inference in landscape genetics: *Martes americana* in northern Idaho. *Landscape Ecology* *25*, 1601–1612.
- Watts, A.G., Schlichting, P.E., Billerman, S.M., Jesmer, B.R., Micheletti, S., Fortin, M.-J., Funk, W.C., Hapeman, P., Muths, E., and Murphy, M.A. (2015). How spatio-temporal habitat connectivity affects amphibian genetic structure. *Frontiers in Genetics* *6*.
- Weiser, A.W., Orchan, Y., Nathan, R., Charter, M., Weiss, A.J., and Toledo, S. (2016). Characterizing the accuracy of a self-synchronized reverse-GPS wildlife localization system. In *Information Processing in Sensor Networks (IPSN), 2016 15th ACM/IEEE International Conference On*, (IEEE), pp. 1–12.
- Whitlock, M.C. (2011). $G'st$ and D do not replace F_{ST} . *Molecular Ecology* *20*, 1083–1091.
- Whitlock, M.C., and McCauley, D.E. (1999). Indirect measures of gene flow and migration: $F_{ST} \approx 1/(4Nm)$. *9*.
- Williams, T.M., Wolfe, L., Davis, T., Kendall, T., Richter, B., Wang, Y., Bryce, C., Elkaim, G.H., and Wilmers, C.C. (2014). Instantaneous energetics of puma kills reveal advantage of felid sneak attacks. *Science* *346*, 81–85.
- Wright, S. (1931). Evolution in Mendelian populations. *Genetics* *16*, 97–159.
- Wright, S. (1943). Isolation by distance. *Genetics* *28*, 114–138.
- WWF (2005). *Ecoregion Conservation Plan for the Alps*.
- Xiang, Y., Gubian, S., Suomela, B., and Hoeng, J. (2013). Generalized Simulated Annealing for Global Optimization: The GenSA Package. *5*, 16.
- Zeller, K.A., McGarigal, K., and Whiteley, A.R. (2012). Estimating landscape resistance to movement: a review. *Landscape Ecology* *27*, 777–797.
- Zeller, K.A., McGarigal, K., Cushman, S.A., Beier, P., Vickers, T.W., and Boyce, W.M. (2016a). Using step and path selection functions for estimating resistance to movement: pumas as a case study. *Landscape Ecology* *31*, 1319–1335.

Zeller, K.A., Creech, T.G., Millette, K.L., Crowhurst, R.S., Long, R.A., Wagner, H.H., Balkenhol, N., and Landguth, E.L. (2016b). Using simulations to evaluate Mantel-based methods for assessing landscape resistance to gene flow. *Ecology and Evolution* 6, 4115–4128.

Annexes



Kawanabe Kyosai, entre 1871 et 1889

And they've built a great wall through my valleys, and fished all the fish from my rills.

George R. R. Martin, *A Storm of Swords*, 2000

Sampled sites locations and observed number of clutches

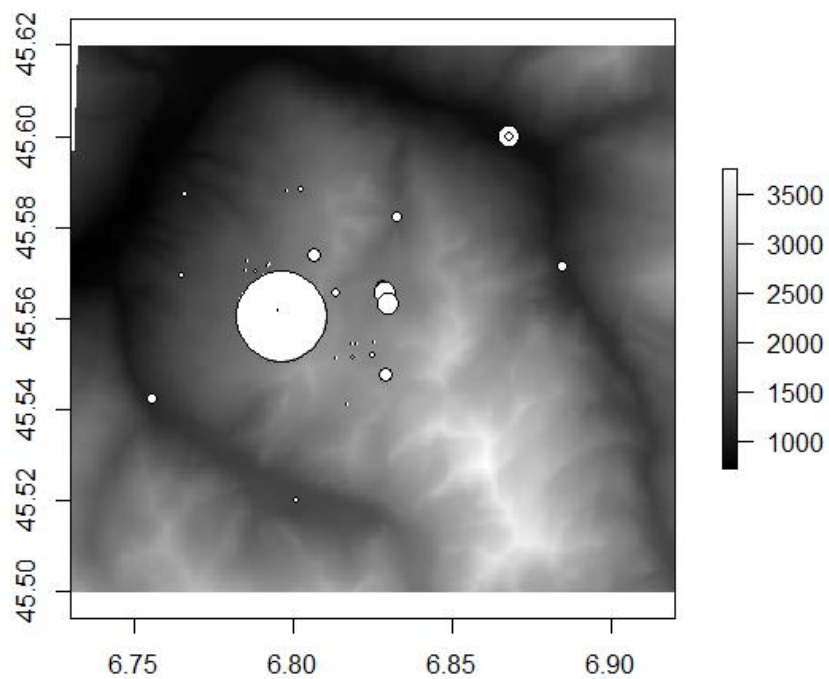
Site	Id	Observed number of clutches	Longitude	Latitude	Number of analyzed individuals
Les Arcs	1	4	6.787666667	45.5661389	20
Les Arcs	2	60	6.80625	45.5739722	20
Les Arcs	3	30	6.765869022	45.58710185	20
Les Arcs	4	30	6.825027778	45.5516944	20
Les Arcs	5	1	6.800388889	45.5637778	20
Les Arcs	6	50	6.755085468	45.54244651	20
Les Arcs	7	2	6.818388889	45.55425	20
Les Arcs	8	10	6.787416667	45.5618889	20
Les Arcs	9	17	6.797741175	45.56511099	20
Les Arcs	10	40	6.813333333	45.5655	20
Les Arcs	11	25	6.764964581	45.56948236	20
Les Arcs	12	10	6.816805556	45.5411111	20
Les Arcs	13	400	6.796378612	45.56023599	20
Les Arcs	14	100	6.867821932	45.59982472	20
Les Arcs	15	40	6.867821932	45.59982472	20
Les Arcs	16	50	6.884472549	45.57142534	19
Les Arcs	17	20	6.787888889	45.5704722	20
Les Arcs	18	1	6.795138889	45.5615833	20
Les Arcs	19	1	6.813333333	45.5510556	20
Les Arcs	20	10	6.797861111	45.5879167	20
Les Arcs	21	8	6.797861111	45.5879167	20
Les Arcs	22	50	6.832166667	45.5824167	20
Les Arcs	23	1	6.792361111	45.5719444	20
Les Arcs	24	60	6.827722222	45.5670278	13
Les Arcs	25	4	6.819611111	45.5542778	14
Les Arcs	26	60	6.828916667	45.5475	20
Les Arcs	27	10	6.785138889	45.5725278	17
Les Arcs	28	30	6.802138889	45.5881944	20
Les Arcs	29	3	6.784791469	45.57034608	17
Les Arcs	30	12	6.825361111	45.5545833	19
Les Arcs	32	12	6.792027778	45.5713889	10
Les Arcs	33	20	6.818194444	45.5513889	20
Les Arcs	34	100	6.828638889	45.5654444	17
Les Arcs	35	100	6.83	45.5632222	16
Les Arcs	107	30	6.801	45.51986	19
Les Menuires	36	150	6.52176	45.38261	20
Les Menuires	37	40	6.55499	45.31678	18
Les Menuires	38	10	6.51718	45.39261	17
Les Menuires	39	150	6.5242	45.34443	20

Les Menuires	40	30	6.53355	45.37406	20
Les Menuires	41	15	6.5442	45.37637	20
Les Menuires	42	2	6.50811	45.38046	19
Les Menuires	43	15	6.50739	45.37806	18
Les Menuires	44	7	6.52636	45.37248	7
Les Menuires	45	100	6.55273	45.3219	3
Les Menuires	46	2	6.52253	45.39112	19
Les Menuires	47	3	6.52369	45.38075	20
Les Menuires	48	120	6.56376	45.30801	12
Les Menuires	49	8	6.55031	45.32003	19
Les Menuires	50	10	6.53433	45.36755	11
Les Menuires	51	25	6.53533	45.35181	16
Les Menuires	52	15	6.53913	45.36848	4
Les Menuires	53	7	6.51932	45.31874	14
Les Menuires	54	35	6.558631	45.312091	7
Les Menuires	55	80	6.54666	45.35165	12
Les Menuires	56	10	6.53898	45.36907	6
Les Menuires	57	25	6.5471	45.34823	18
Les Menuires	58	20	6.52571	45.36903	14
Les Menuires	59	10	6.5353	45.31878	20
Les Menuires	60	15	6.52647	45.37212	19
Les Menuires	61	25	6.53266	45.36618	19
Les Menuires	62	120	6.54322	45.33934	20
Les Menuires	63	100	6.56913	45.31139	20
Les Menuires	64	10	6.54873	45.36538	17
Les Menuires	65	10	6.55098	45.36209	19
Les Menuires	66	250	6.5771	45.30762	20
Les Menuires	67	30	6.5573	45.35037	20
Les Menuires	68	2	6.53588	45.37153	20
Les Menuires	69	30	6.55505	45.33013	20
Les Menuires	70	10	6.50792	45.37918	20
Les Menuires	71	40	6.5319	45.35496	20
Les Menuires	72	1	6.47812	45.41471	20
Les Menuires	73	28	6.5606	45.32768	20
Les Menuires	74	6	6.50619	45.31222	20
Les Menuires	75	40	6.50539	45.31456	14
Les Menuires	76	50	6.55901	45.33694	20
Les Menuires	78	12	6.51518	45.30121	20
Les Menuires	79	60	6.5576	45.35225	0
Les Menuires	80	30	6.51076	45.30475	16
Les Menuires	81	20	6.50541	45.30611	20
Les Menuires	82	30	6.54711	45.35806	20
Les Menuires	83	20	6.54549	45.36211	16
Les Menuires	84	22	6.5083	45.30376	19
Les Menuires	85	6	6.54403	45.34254	9
Les Saisies	86	150	6.52415	45.78991	14

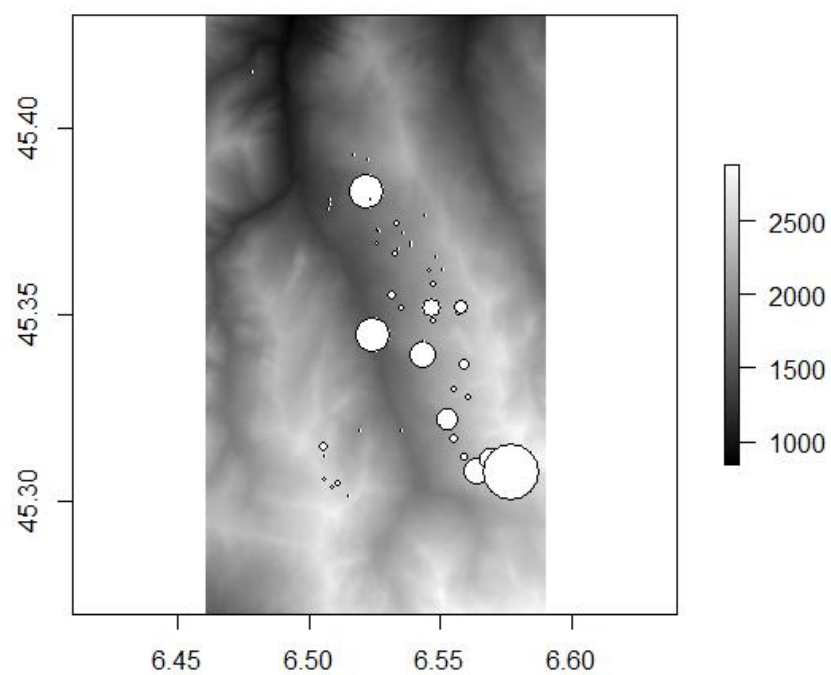
Les Saisies	87	10	6.57754	45.76552	18
Les Saisies	88	300	6.52836	45.77164	20
Les Saisies	89	30	6.53199	45.75527	20
Les Saisies	90	7	6.51811	45.76691	19
Les Saisies	91	6	6.53059	45.75603	20
Les Saisies	92	200	6.54692	45.76436	20
Les Saisies	93	130	6.5258	45.78217	17
Les Saisies	94	12	6.51506	45.76149	19
Les Saisies	95	200	6.59433	45.77485	20
Les Saisies	96	20	6.59596	45.77932	19
Les Saisies	97	400	6.59433	45.77637	20
Les Saisies	98	20	6.55266	45.76187	20
Les Saisies	99	8	6.58166	45.77411	20
Les Saisies	100	120	6.52738	45.762011	12
Les Saisies	101	500	6.53106	45.75625	1
Ponthurin valley	102		6.83699	45.50099	0
Ponthurin valley	103	15	6.82325	45.47482	20
Ponthurin valley	104	15	6.84594	45.46205	18
Ponthurin valley	105	40	6.82038	45.48583	15
Ponthurin valley	106	40	6.85098	45.47635	20
Ponthurin valley	107	30	6.801	45.51986	19
Ponthurin valley	108	20	6.82241	45.48287	11
Ponthurin valley	109	6	6.84197	45.48111	16
Ponthurin valley	110	30	6.80071	45.51802	0
Ponthurin valley	111	150	6.79835	45.51974	9
Ponthurin valley	112	50	6.8372	45.49832	14
Ponthurin valley	113	40	6.83911	45.4893	1
Ponthurin valley	114	25	6.82046	45.47727	15
Ponthurin valley	115	50	6.82264	45.48159	17

Number of clutches per breeding site (visually estimated relative abundance)

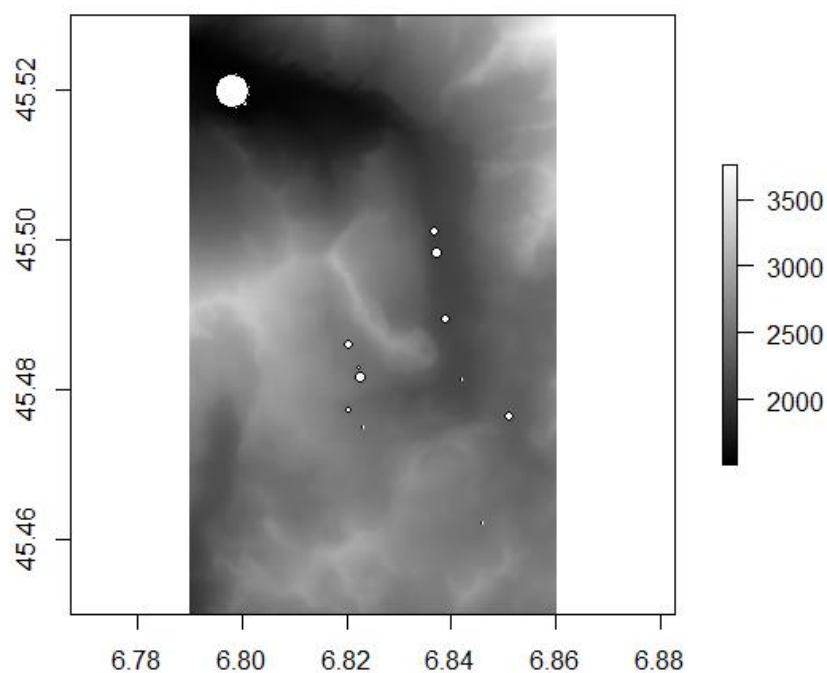
Les Arcs - Elevation (m) and relative population sizes



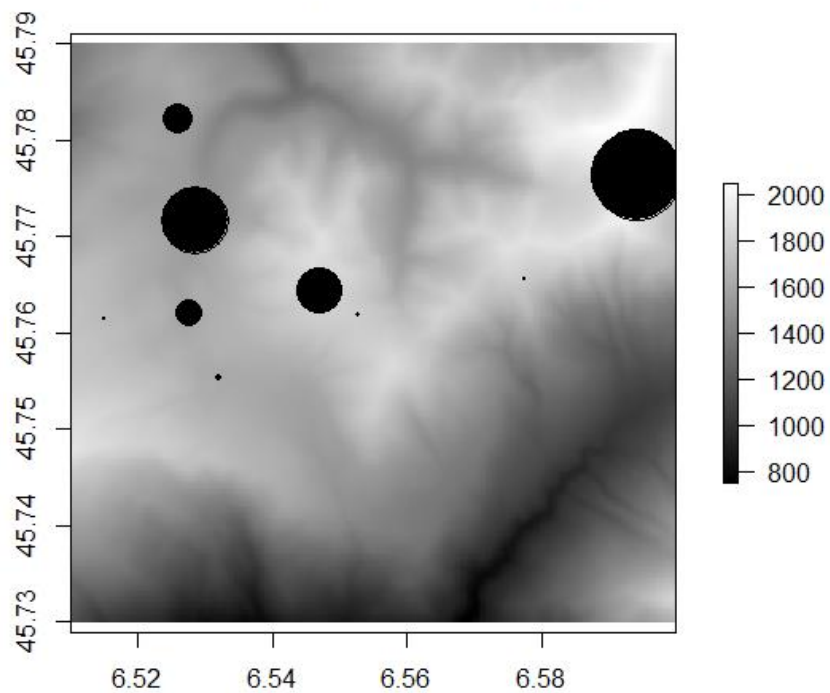
Les Menuires - Elevation (m) and relative population sizes



Ponthurin - Elevation (m) and relative population sizes



Les Saisies - Elevation (m) and relative population sizes



Microsatellite markers description

Locus	Repeated pattern	Reference	Mitigation temperature	Colour F*	Post-PCR multiplex
BFG031	(GT)18	Matsuba and Merilä, 2009	55	Fam	M1
BFG142	(TCTA)21(TCTA)2		55	Vic	M1
BFG003	(GA)19(AG)8		55	Ned	M1
BFG161	(AGAA)15		55	Pet	M1
BFG203	(TTCT)23(TTCT)4		57	Ned	M2
BFG160	(TCTA)11		57	Pet	M2
BFG115	(AC)10		60	Vic	M3
BFG237	(GATA)19		60	Pet	M3
Rtempμ4	(AC)16	Rowe and Beebee, 2001	57	Vic	M2
Rtempμ1	(CA)4(GG)1(CA)24		60	Fam	M3
RtU4	(GT)23(T)13	Berlin et al., 2000	45	Ned	M3

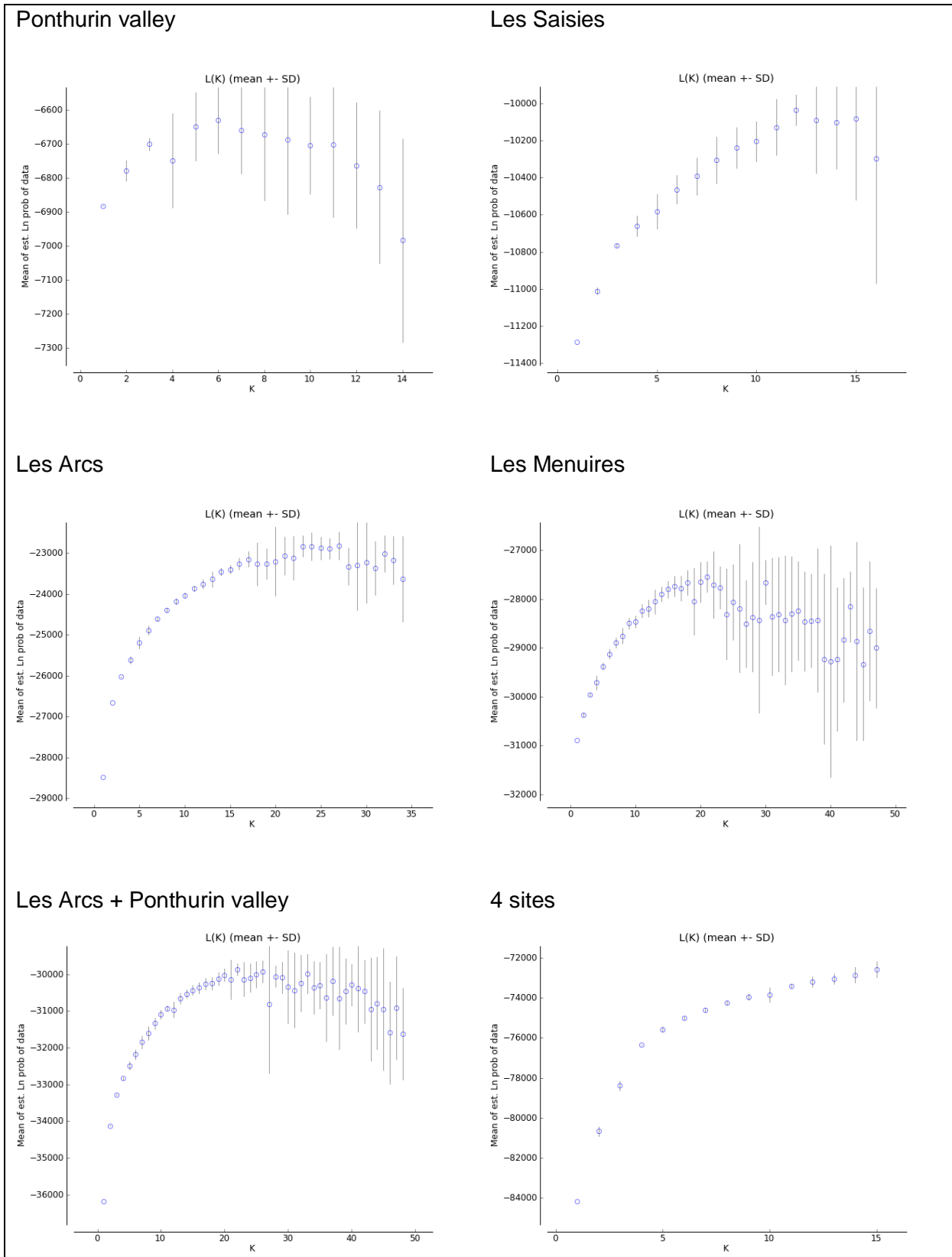
Microsatellites amplification protocol

Dilutions were performed to change from a 50 pM solution (picoMolar) to a 2 pM solution.

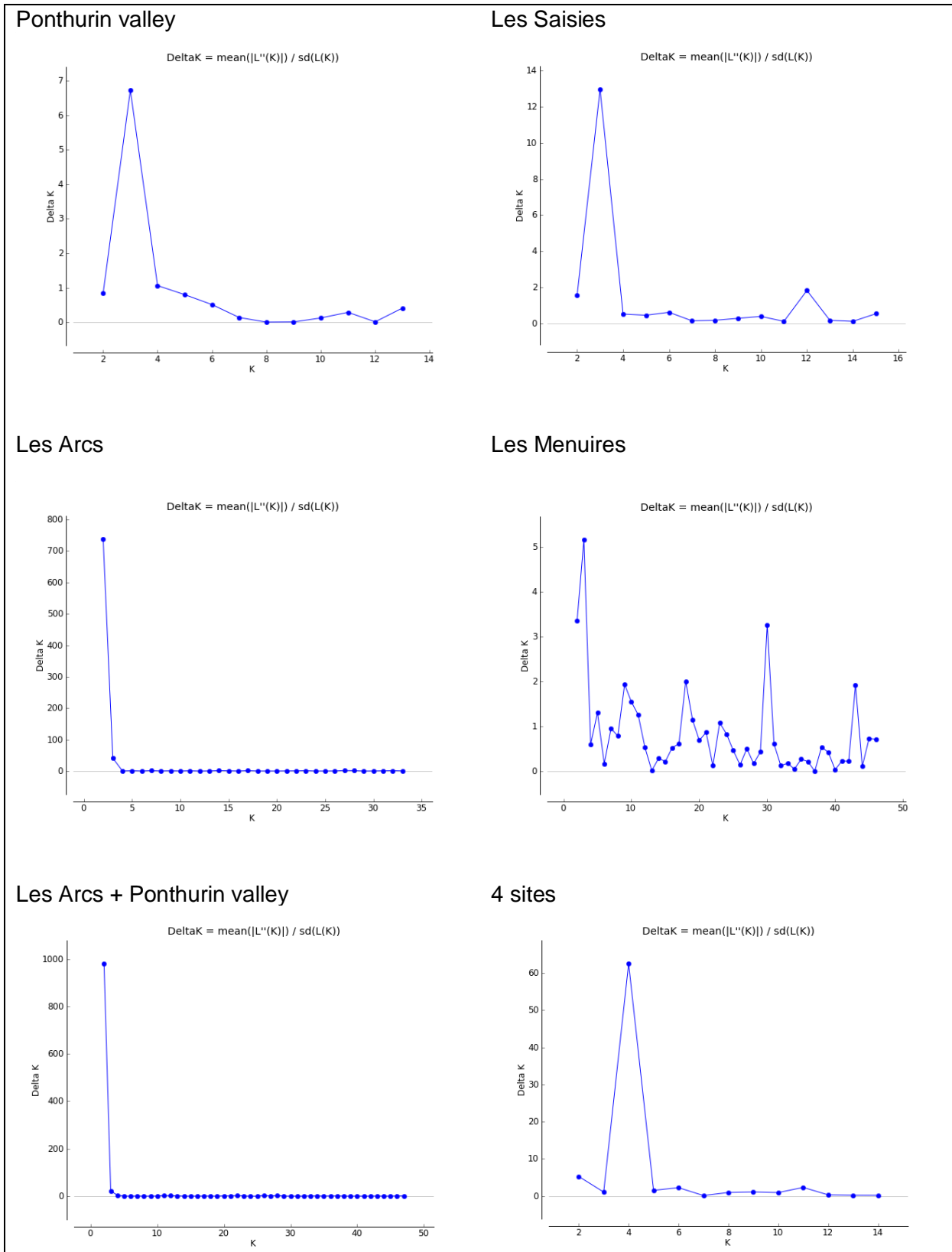
For each DNA plate, six PCR mixes are prepared, three multiplexes mixes (named M1, M2 and M3) and three monoplexes mixes (named BFG161, Rtempμ4 and RtU4). For a monoplex (a single primer pair), 1 μl of pure genomic DNA is added to the PCR mix consisting of 5 μl of QIAGEN Multiplex PCR Master Mix (containing HotStarTaq® DNA Polymerase, Multiplex PCR Buffer*, dNTP Mix), 1 μl of 2 pM Forward solution, 1 μl of 2 pM Reverse solution and 2 μl of sterile water. For a multiplex, 1 μl of pure genomic DNA is added to the PCR mix consisting of 5 μl of QIAGEN Multiplex PCR Master Mix, 1 μl of the 2 pM multiplex solution and 3 μl of sterile water. This protocol was repeated for all 17 pure DNA plates.

The PCR plates are centrifuged, then the Chain Polymerization Reactions (PCR) are initiated in a thermocycler by a denaturation step of 15 min at 95°C followed by 30 cycles composed of a denaturation step (30 sec at 94°C), hybridization (1 min 30 at the hybridization (TM) temperature) and elongation (1 min at 72°C), then the cycle is terminated by a final elongation step of 30 min at 60°C. At the end of the cycle, the plates are stored in the refrigerator, less than 48 hours, waiting for electrophoresis gels. A total of 6 PCRs are performed for each pure DNA plate. After electrophoresis, the PCR plates were stored at -20°C until the genotyping plates were prepared.

Mean estimate In probability of data (STRUCTURE)

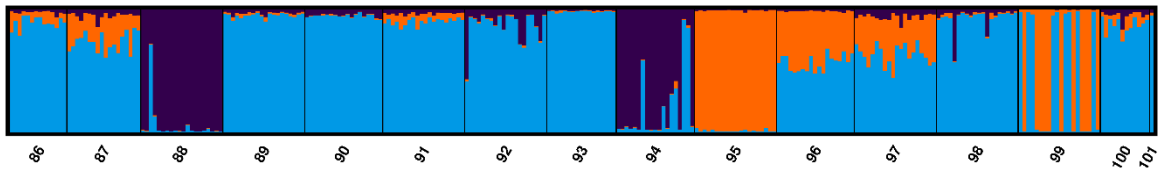


DeltaK analysis for the four study sites (Evanno method)

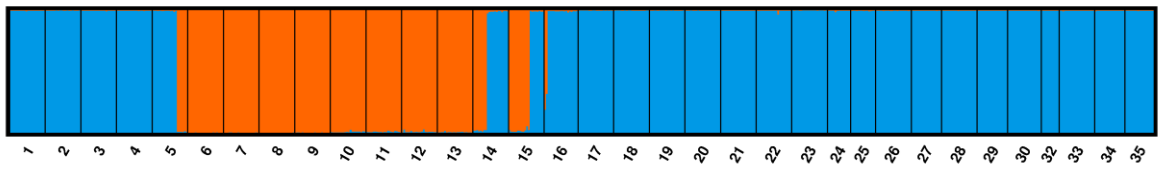


Major assignment barplots

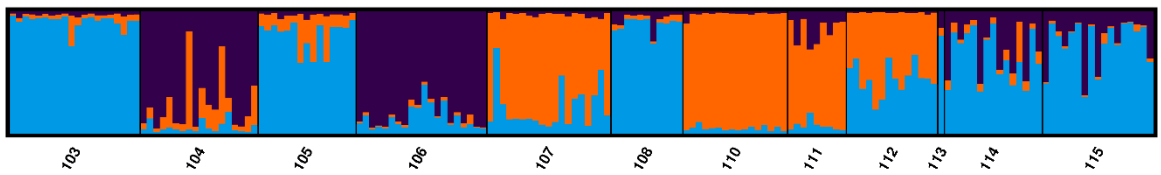
Les Saisies



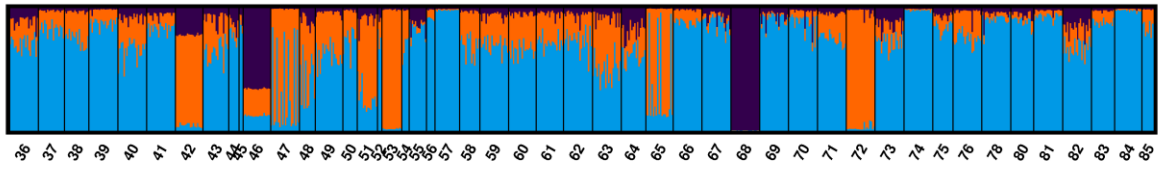
Les Arcs



Ponthurin valley



Les Menuires



Les Arcs + Ponthurin valley



Résumé

La dispersion des animaux est un processus clé pour le maintien des populations et métapopulations. En particulier, les amphibiens se déplacent beaucoup durant leur cycle de vie fait de migrations saisonnières. Ceci les rend sensibles à la structure du paysage. En effet, les modifications anthropiques comme l'aménagement d'infrastructures linéaires peuvent constituer des barrières écologiques pour les animaux et limiter le flux de gènes dans le paysage. Si les effets des routes et des lignes de chemin de fer sur les déplacements des animaux ont été largement étudiés, les effets des infrastructures liées aux activités de sport d'hiver comme les pistes de ski et les remontées mécaniques sont moins bien connus. Ainsi, la perméabilité des milieux de montagne anthropisés est peu connue. Cette thèse vise à quantifier la perméabilité écologique (ou connectivité fonctionnelle), des domaines skiables pour un amphibien de montagne largement répandu : la Grenouille rousse (*Rana temporaria* Linnaeus 1758). Pour ce faire, nous combinons un suivi individuel de déplacements et une étude de génétique du paysage pour mieux comprendre les facteurs influençant les déplacements de grenouilles et les flux de gènes dans le paysage. Le suivi individuel est réalisé au moyen de balises GPS et d'analyses de sélection de pas (*step selection analysis*). L'étude de génétique du paysage est réalisée en prélevant des échantillons d'ADN dans trois domaines skiables de Savoie ainsi que dans une zone témoin située dans le Parc national de la Vanoise. Nous avons testé l'influence de plusieurs variables paysagères liées à la topographie (pente, altitude...), les habitats (réseau de zones humides, couverture du sol...) ou les activités humaines (présence de routes, de pistes de ski) sur le flux de gènes. En utilisant une nouvelle méthode d'optimisation de surface de résistance, nous montrons l'importance du réseau de zones humides pour les amphibiens de montagne. D'une part, elles servent d'habitat préférentiel et d'autre part, un réseau dense de zones humides permet d'assurer une bonne connectivité des paysages pour la Grenouille rousse. Nous mettons également en évidence que l'hétérogénéité des tailles efficaces de populations dans un paysage peut fausser les distances génétiques mesurées entre populations et nous recommandons l'utilisation de techniques pour s'affranchir de tels problèmes. Nos travaux sont importants dans une perspective de gestion durable des domaines skiables, l'aménagement de pistes de ski ou autres infrastructures de loisir pouvant être accompagné de destructions de zones humides.

Abstract

Animal dispersal is a key process for maintaining populations and metapopulations. In particular, amphibians move a lot during their life cycle made of seasonal migrations. This makes them sensitive to the structure of the landscape. Indeed, anthropogenic changes such as linear infrastructure can act as ecological barriers for animals and limit gene flow within the landscape. While the effects of roads and railways on animal movements have been widely studied, the effects of infrastructure related to winter sports activities such as ski slopes and lifts are less well known. Thus, the permeability of anthropized mountain environments is little known. This thesis aims to quantify the ecological permeability (or functional connectivity) of ski areas for a widely distributed mountain amphibian: the European common frog (*Rana temporaria* Linnaeus 1758). To do this, we combine individual movement tracking and landscape genetics studies to better understand the factors influencing frog movements and gene flow within the landscape. Individual tracking is carried out by means of GPS tags and step selection analysis. The landscape genetics study is carried out by gathering DNA samples from three ski areas in Savoie and a control area located in the Vanoise National Park. We tested the influence of several landscape variables related to topography (slope, altitude...), habitats (wetland network, land cover...) or human activities (presence of roads, ski slopes) on gene flow. By using a new method of resistance surface optimization, we show the importance of the wetland network for mountain amphibians. On the one hand, they serve as preferential habitat and, on the other hand, a dense network of wetlands ensures good landscape connectivity for the Common frog. We also highlight that the heterogeneity in effective population sizes in a landscape can distort the genetic distances measured between populations and we recommend the use of techniques to overcome such problems. Our work is important for the sustainable management of ski areas, the development of ski slopes or other recreational infrastructure that can be accompanied by the destruction of wetlands.