



HAL
open science

Étude de la perméabilité de la LGV Bretagne – Pays de la Loire (BPL) aux déplacements des amphibiens

Guillaume Testud

► **To cite this version:**

Guillaume Testud. Étude de la perméabilité de la LGV Bretagne – Pays de la Loire (BPL) aux déplacements des amphibiens. Biodiversité et Ecologie. Université Paris sciences et lettres, 2020. Français. NNT: 2020UPSLP043 . tel-03178294

HAL Id: tel-03178294

<https://theses.hal.science/tel-03178294v1>

Submitted on 23 Mar 2021

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 DE DOCTORAT
DE L'UNIVERSITÉ PSL

Préparée à l'École Pratique des Hautes Études

Étude de la perméabilité de la LGV Bretagne Pays de la Loire (BPL) aux déplacements des amphibiens

Soutenue par

Guillaume TESTUD

Le 29 octobre 2020

École doctorale n° 472

**École doctorale de l'École
Pratique des Hautes Études**

Spécialité

**Biologie des populations,
génétique et éco-éthologie**

Composition du jury :

Sandra, LUQUE
Directeur de recherche, INRAE *Présidente du jury*

David, LESBARRÈRES
Associate professor, Laurentian University *Rapporteur*

Françoise, BUREL
Directeur de recherche, Université de Rennes
Rapportrice

Alain, MORAND
Ingénieur d'études, CEREMA *Examineur*

Sylvie, VANPEENE
Ingénieure en chef, INRAE *Examinatrice*

Joachim, LEMERI
Directeur adjoint - Ingénierie de projets, biodiversité et
management des connaissances - DDDIT, Eiffage *Invité*

Dorothee, LABARRAQUE
Responsable technique et innovation, Egis *Invitée*
Co-encadrante
Cifre

Claude, MIAUD
Directeur de recherche, EPHE *Directeur de thèse*

Remerciements

Je souhaiterais tout d'abord remercier tous les membres du jury. Que ce soit Sandra Luque qui a présidée ce jury, David Lesbarreres et Françoise Burel qui ont accepté d'être rapporteurs de ma thèse, mais aussi Sylvie Vanpeene, et Alain Morand qui ont accepté d'être examinateurs et Joachim Lemerli membre invité. J'ai fortement apprécié de discuter à leurs coté pour répondre aux nombreuses questions pertinentes lors de ma soutenance. C'est un honneur d'avoir eu un jury aussi riche.

Le terrain de ma thèse n'aurait pas pu être conduit sans de nombreuses personnes. Je tiens à remercier Camille Clowez et Marie-Aurélia Sabatte (ainsi que sa cheville) pour m'avoir permis de finir les dernières semaines du terrain de 2019. Je remercie chaleureusement Annick Lucas et Philippe Geniez pour m'avoir accompagné sur le terrain quelques semaines en 2018. Je me rappellerai toujours les courses de Philippe dans les tunnels emmitoufflé dans un millier de couches de vêtements. Je remercie très chaleureusement Philippe Evrard pour sa venue sur mon terrain de thèse et ses supers photos. Je remercie fortement tous mes stagiaires qui ont participé aux différentes campagnes de terrain avec qui j'aurais passé des moments très agréables et sans qui je n'aurais pas pu conduire mes sessions de terrains correctement : Eva Garcia en 2017, Anthony Martin, François Le Hérissé, Julien Maziere, Margot Piccinin et Adrien Parais en 2018, et Emelie Segrestan, Lynda Farineau et Clément Fauconnier en 2019. Je remercie également les étudiants de l'université d'Angers et de l'association PEGAZH qui ont participé à des journées de terrain. Je remercie les associations LPO Sarthe et Mayenne Nature Environnement et tout particulièrement Frédéric Lécureur et Magali Perrin avec qui j'ai pu interagir, ainsi que le CPIE de la Flèche. Je souhaite également remercier Hippolyte Pouchelle et Vincent Pereira pour avoir participé avec Claude Miaud et moi-même aux premières journées de prospection pour la sélection des secteurs d'étude. Je souhaite remercier tout particulièrement Annick et Jean-Luc Janvier du Gite des Acacias à Vallon-sur-Gées pour leur hospitalité et leur gentillesse et Pierre-Louis Chevreau du département de la Sarthe et Romain Mariot du CPIE de la Flèche pour m'avoir mis en contact avec eux. Ce fut également une très grande surprise de rencontrer des passionnés d'écologie pendant le terrain de 2017 et je remercie donc Fred et Arnaud du ranch de la Juqueliere pour tous les très nombreux moments passés et discussions en leur compagnie qui seront

inoublables, je n'oublie pas non plus Newton (leur chien) et Mitochondrie (leur chèvre) chargés du contrôle qualité du travail des stagiaires et tous leurs nombreux assistants : chats, poules et chevaux. Je remercie Philippe Cordier et toutes les personnes de la société Biolog-id que j'ai pu rencontrer au cours de cette thèse pour leur professionnalisme et leur savoir-faire.

Je remercie fortement tous mes coauteurs Alan Vergnes, Philippe Cordier, Damien Picard, Quentin Lepetitcorps, Clément Fauconnier et Thierry Lengagne pour leurs participations et leurs remarques constructives en vue de la publication de mes travaux de thèse.

Je remercie Aurelie Coulon et Damien Picard pour leur participation à mes comités de thèse et leurs nombreux conseils constructifs et avisés. Je remercie également tous les membres du comité scientifique de l'observatoire environnemental de la LGV qui m'ont permis d'avoir un autre regard sur ma thèse.

Je souhaite remercier les chercheurs de Lyon avec qui j'ai pu interagir au cours de ma licence et de mon master et tout particulièrement Bernard Kauffman, Dominique Allainé, Aurélie Cohas, Jean Paul Léna, Pierre Joly et Thierry Lengagne.

Je remercie Clément Bourge, Marion Aubrat et Joachim Lemeris de la société Eiffage qui ont montré un grand intérêt pour les questions écologiques et mes travaux de thèse.

Je remercie tous mes collègues d'Egis que j'ai pu côtoyer, et tout particulièrement Katia Abad pour sa disponibilité inégalable, Hippolyte Pouchelle, Erwan Carfantan, Morgan Deviras, Laetitia Carrasqueira, Leïla Tomayan, Gaëlle Fournier Le Ray et Mathieu Grosjean et Stéphane Pradon.

Je remercie le CEFÉ et le CNRS pour m'avoir accueilli au cours de cette thèse et tous les membres du CEFÉ avec qui j'ai pu interagir au cours de ma thèse. Je remercie le groupe "Mouvement" au Centre d'écologie fonctionnelle et évolutive (CEFÉ) pour leurs conseils constructifs. Je remercie le personnel administratif du CNRS et de l'EPHE qui a su apporter des solutions à tous mes besoins. Je remercie également tout particulièrement Anne Gorgeon, Florence Bruno et Frédéric Breton.

Je remercie tous les membres de l'équipe BEV avec qui j'ai pu passer des moments très agréables Marion, Charlotte, Julie, Lara, Christelle, Marie (s), Marie Aurelia, Anais, Pauline, Coline, Santa, Queen Emilie 1^{ère} du nom reine des bureaux et ambassadrice de Belgique,

Bastien, Julie (s), William Marie, Sebastia, Tim, Typhaine, Leyli, Delphine, Thani, Jessica, Thibaut, Pierre-Edouard, Julia, Juliette, Jan, Guilhem, Roger Prodon, Stephanie Manel et Aurélien Besnard. Je remercie tout particulièrement et très chaleureusement Claudine Montgellard, je garderai en mémoire son grand sens de l'humour. Je souhaite remercier encore une fois Philippe Geniez, pour ses milliards de blagues, ses discussions, sa sympathie et sa disponibilité.

Je remercie la SHF, le groupe herpato de Pays de la Loire et tous les herpétologues que j'ai pu côtoyer au cours de ma thèse : Jonathan Jumeau, Antonin Conan *Antoninus fricadellus*, Martin Bonhomme et ses padawans, Jérôme Prunier, Hugo Cayuela, Jean Raffaëlli, Philippe Evrard, Audrey Trochet et Sandra Guerin.

Je remercie mes nombreux amis de la danse de Lyon, Le Mans, Toulouse et Montpellier qui m'auront permis d'être complètement épanoui au cours de ma thèse.

Je remercie ma famille qui a toujours été là et qui m'a toujours soutenu dans mes choix et tout particulièrement ma sœur et ma grand-mère.

Je souhaite remercier mes amies les plus proches qui m'ont toujours soutenu : Marie, Cyril, Matthias, Virginie, Antonin.

Je remercie mes voisins et distributeur officiels de fruits frais Flo et Flavie ainsi que Papa Nico pour tous les moments de détente passés en leur compagnie.

Je souhaiterais remercier Melanie avec qui je ne compte plus les super bachatas et moments cuisine.

Je remercie Clairette du Chili avec qui j'ai pu garder des liens très forts malgré la distance.

JE rémèrci mons relécteurs eN Chefs Steves Maréchal avec qui j'ai vécu mes meilleures années de fac à base de pizza et foot. Il a été parmi mes meilleurs soutiens au cours de cette thèse.

Je souhaite remercier Quentin Le Petitcorps, le grand Terrainator que j'ai rencontré au premier jour de terrain en 2017 et qui a été présent tout au long de ma thèse. J'ai eu énormément de chance de pouvoir compter sur lui et il m'a permis de vivre des mois de terrain terriblement agréables malgré la neige, la glace, la pluie, les fuites dans les wedders, les fortes

chaleurs. Quentin est devenu bien plus qu'un ami et je lui souhaite énormément de bonheur à lui et sa petite famille.

Je remercie Agathe Legrand, la petite Terrainator qui effraie les tritons plus vite que son ombre, plusieurs témoins pouvant le confirmer !!! Elle m'a toujours soutenu et a su à n'importe quelle heure du jour ou de la nuit être une oreille attentive à qui je pouvais partager mes réflexions et mes doutes. Je la remercie également énormément pour ses nombreuses relectures de ce manuscrit.

Je remercie Céline pour m'avoir accompagné au cours de cette thèse.

Je souhaite encore une fois remercier Damien Picard pour son implication, et sa disponibilité et surtout sa bonne humeur inimitable.

Je remercie L'agence nationale de recherche (ANR) sans qui la thèse n'aurait pas eu lieu.

Je souhaite enfin fortement remercier mes deux encadrants Dorothée Labarraque et Claude Miaud, qui m'auront permis au cours de cette thèse Cifre d'avoir une vision élargie de l'évaluation des mesures d'atténuation des infrastructures linéaires de transport. Ils auront su m'apporter de très nombreux conseils constructifs tout au long de mon doctorat.

Ce manuscrit est en l'honneur de tous les
amphibiens qui m'ont montré le chemin dans ce long
batrachoduc qu'est une thèse !!!

Résumé

La construction de nouvelles Infrastructures Linéaires de Transports ILTs (routes, autoroutes, voies ferrées) amène une destruction d'habitats et peut constituer des zones de risques (mortalité) et/ou restreindre les déplacements des espèces dans les habitats environnants. Les amphibiens sont fortement touchés par ces effets. Les réalisations récentes nécessitent de mettre en œuvre des mesures de réduction d'impact visant à améliorer la transparence écologique de ces infrastructures à l'aide de la séquence « Éviter-Réduire-Compenser (ERC) ». Lors de la construction d'une nouvelle Ligne à Grande Vitesse « la LGV Bretagne – Pays de la Loire » dans l'Ouest de la France inaugurée en 2017, des mesures relevant de la séquence ERC ont été mises en place. Cette thèse vise à évaluer les mesures de la séquence ERC qui permettraient aux communautés d'amphibiens de réaliser les mouvements nécessaires au bon fonctionnement des populations principalement les migrations saisonnières et la dispersion. Elle a été réalisée dans le cadre de l'observatoire environnemental de la LGV (contrat CIFRE EPHE-EGIS en partenariat avec EIFPAGE).

La thèse repose sur deux approches : (1) des suivis de déplacements par Capture-Marquage-Recapture effectués dans cinq secteurs incluant des mesures de réduction (installation de tunnel sous la LGV) et de compensation (création de nouvelles mares) pour trois espèces de tritons (Triton marbré *Triturus marmoratus*, Triton crêté *Triturus cristatus* et Triton alpestre *Ichthyosaura alpestris*). Les recaptures des animaux marqués individuellement révèlent des échanges entre des mares situées de part et d'autre de la LGV (fréquentation des tunnels) ainsi que la colonisation des nouveaux sites de reproduction. (2) Des expériences de « homing

» pour étudier le comportement de franchissement des tunnels ; des antennes RFID placées dans trois tunnels (1 x1 m) et de longueur variable (de 18,5 à 40 m) ont permis de détecter les déplacements des individus marqués avec des PIT-tags (Crapaud épineux *Bufo spinosus*, *I. alpestris*, *T. marmoratus*, *T. cristatus*, Grenouilles vertes du système *Pelophylax lessonae* - *P. kl. esculentus*), Grenouille agile *Rana dalmatina* et Salamandre tachetée *Salamandra salamandra*). Une grande variabilité interindividuelle et spécifique des déplacements est observée, qui varie en fonction de la longueur des tunnels. L'enrichissement sonore (émission de chants d'amphibiens anoures dans le tunnel) améliore les déplacements des *Pelophylax* et des *T. cristatus* (taux et vitesse de franchissement, distances parcourues).

La thèse montre la nécessité d'un effort important (effectif d'animaux marqués) pour mettre en évidence la présence d'échanges (rares) entre sites de reproduction, et l'utilisation des tunnels et des mares comme mesures d'atténuation. La mise au point d'une méthode d'évaluation des déplacements dans les tunnels (puce RFID et antennes fixes) permettra de tester différents facteurs (longueurs, substrats, etc.) pour améliorer leur utilisation et leur efficacité. L'enrichissement sonore apparaît comme une méthode prometteuse pour accompagner la mise en œuvre de passages à petite faune.

Abstract

Construction of new Linear Transport Infrastructure LTI (roads, motorways, railways) leads to habitat destruction and may constitute areas of risk (mortality) and/or restrict the movement of species in surrounding habitats. Amphibians are strongly affected by these effects. Recent projects have implemented impact mitigation measures to improve the ecological transparency of these structures using the sequence « Avoid Reduce Compensate (ARC)». During the construction of a new High Speed Railway "Bretagne - Pays de la Loire HSR" in North-West France inaugurated in 2017, measures under the ARC sequence have been implemented. This thesis aims to evaluate measures of the ARC sequence that would allow amphibian communities to carry out the movements needed for population functioning (seasonal migration and dispersal). It was carried out as part of the HSR environmental observatory (CIFRE EPHE-EGIS contract in partnership with EIFFAGE).

The thesis is based on two approaches: (1) monitoring of movements by Capture-Marking-Recapture conducted in five areas including reduction measures (installation of a tunnel under the high-speed line) and compensation measures (creation of new ponds) for three newt species (marbled newt *Triturus marmoratus*, great crested newt *Triturus cristatus* and alpine newt *Ichthyosaura alpestris*). The recaptures of individually marked animals reveal exchanges between ponds located on either side of the high-speed line (use of tunnels) and colonisation of new breeding sites. (2) Homing experiments to study tunnel crossing behaviour. RFID antennas placed in three tunnels (1x1m) and of variable length (from 18.5 to 40 m) made it possible to detect the movements of individuals tagged with PIT-tags (spiny toad *Bufo*

spinosus, *I. alpestris*, *T. marmoratus*, *T. cristatus*, water frogs of the *Pelophylax lessonae* - *P. kl. esculentus* system), agile frog *Rana dalmatina* and fire salamander *Salamandra salamandra*). A great inter-individual and specific variability of movements is observed, and varies according to the length of the tunnels. Acoustic enrichment (Broadcasting of amphibian calls in the tunnel) improves the movements (rate and speed crossing, distances travelled) of *Pelophylax* and *T. cristatus*.

The thesis shows the need for a significant effort (number of marked animals) to show the presence of (rare) exchanges between breeding sites, and the use of tunnels and ponds as mitigation measures. The development of a method for evaluating movements in tunnels (RFID marks and antennas) will make it possible to test different factors (lengths, substrates, etc.) to improve their use and effectiveness. Acoustic enrichment appears to be a promising method to complement the implementation of small wildlife passages.

Table des matières

Table des matières	10
Chapitre 1 Introduction Générale	13
I. Contexte et objectifs de la thèse.....	15
1. Suivre les mouvements des amphibiens dans des paysages incluant des ILTs	16
2. La LGV Bretagne-Pays de la Loire	17
3. L'observatoire environnemental de la LGV.....	18
4. Problématique de recherche et axes de recherche	19
Bibliographie.....	21
II. Les mouvements chez les amphibiens	23
1. Les différents types de mouvements	24
2. Les mouvements journaliers	26
3. Les mouvements de migration	27
4. Les mouvements de dispersion.....	30
5. Les mouvements et la fragmentation	39
Bibliographie.....	42
III. Des effets des infrastructures de transport linéaire sur les amphibiens aux mesures d'atténuation.....	53
1. Résumé de publication.....	54
2. From Effects of Linear Transport Infrastructures on Amphibians to Mitigation Measures..	56
Chapitre 2 Suivi des déplacements des amphibiens aux abords de la LGV	71
1. Introduction.....	74
2. Matériels et méthodes	76
3. Résultats	78
4. Discussion	86
5. Conclusion	93

Bibliographie.....	95
Tables.....	101
Figures	107
Annexes	121
Chapitre 3 Comportement dans les tunnels	143
I. Détection automatique de la petite faune marquée avec des PIT-tag utilisant les passages à faune.....	147
1. Résumé de publication.....	148
2. Automatic detection of small PIT-tagged animals using wildlife crossings.....	150
II. L'enrichissement acoustique des passages à faune sous les voies ferrées améliore leur utilisation par les amphibiens	161
1. Résumé de publication.....	162
2. Acoustic enrichment in wildlife passages under railways improves their use by amphibians	163
III. Trajectoires individuelles des amphibiens dans les passages à faune	177
1. Résumé de publication.....	178
2. Individual trajectories of amphibian in wildlife passage	180
Chapitre 4 Discussion générale et perspectives	209
I. Synthèse générale	210
1. Comportement de franchissement de la LGV	210
2. Tailles de population et suivi des échanges entre mares.....	210
3. Bilan des secteurs.....	211
II. Conclusion et perspectives.....	214
Bibliographie.....	218

Chapitre 1 Introduction Générale

I. Contexte et objectifs de la thèse



Ouvrage hydraulique à Beaulieu-sur-oudon (Mayenne) 1.5 x1.5 m pouvant être utilisé par les amphibiens lors de mouvements de migration ou dispersion

© Philippe Evrard

1. Suivre les mouvements des amphibiens dans des paysages incluant des ILTs

La construction de nouvelles infrastructures linéaires de transports ILTs (routes, autoroutes, voies ferrées) ou des requalifications (exemple : passage d'une route 2 voies à une 2x2 voies) amène une destruction d'habitats et peut constituer des zones de risques (mortalité) et freins importants aux déplacements des espèces dont les habitats se trouvent dans ou proches de l'emprise de ces ouvrages.

Par leurs effets, les infrastructures linéaires de transport perturbent les mouvements des amphibiens. Pour mieux prévoir le fonctionnement spatial des populations dans des paysages fragmentés, nous avons besoin d'informations précises sur la dispersion (Stevens *et al.*, 2013). C'est pourquoi en biologie de la conservation, le suivi du déplacement des animaux dans le paysage est devenu essentiel et l'écologie des déplacements est un domaine d'étude crucial pour les mesures de conservation (Fraser *et al.*, 2018; Nathan *et al.*, 2008). Il est également important d'étudier les mouvements en tant que phénomène comportemental, écologique et évolutif (Dingle and Drake, 2007). Le contexte évolutif du comportement de mouvement est donc d'un intérêt primordial dans la conception d'actions de préservation efficaces dans des écosystèmes en mutations perpétuelles (aspect foncier Cayuela *et al.*, 2020; Joly, 2019). Ceci est particulièrement le cas pour la conception des passages à faune inférieure (sous l'infrastructure) qui permettent la traversée sécurisée de la faune des infrastructures de transport (Jarvis *et al.*, 2019).

L'isolement des parcelles est généralement quantifié à l'aide de mesures basées sur la distance appelées mesures de connectivité (Calabrese and Fagan, 2004), en tenant compte des distances euclidiennes entre les sites et des taux de dispersion. L'obtention de données empiriques sur les taux d'émigration et d'immigration pour modéliser le fonctionnement démographique des populations spatialement structurées demeure une tâche difficile (Lowe and Allendorf, 2010). Elles peuvent être obtenues grâce à la génétique des populations mais un temps de latence qui pourrait aller jusqu'à plusieurs générations peut être nécessaire pour observer un effet de la modification d'un paysage sur la structure génétique des populations (Landguth *et al.*, 2010; Safner *et al.*, 2011). Bien que précieuses, ces preuves indirectes de mouvements à grande échelle fournissent des informations imparfaites sur les mécanismes

comportementaux impliqués dans la phase de transience, qui est d'une importance cruciale pour rétablir la connectivité.

Des données empiriques peuvent aussi être obtenues grâce à la photo-identification, aux poudres fluorescentes et à la miniaturisation croissante des tags et des émetteurs radio qui permettent de suivre les déplacements individuels (Matos *et al.*, 2018). Avec les progrès des techniques de modélisation, ils permettent d'améliorer la fiabilité des estimations des flux démographiques (Cayuela *et al.*, 2018b). Leur coût est néanmoins très élevé et ces méthodes sont extrêmement chronophages.

Les approches expérimentales (e.g. expériences de déplacement sur substrats différents) peuvent également fournir des données empiriques qui peuvent être utilisées dans les modèles (Bain, 2014; Bain *et al.*, 2017; Lesbarrères *et al.*, 2004; Patrick *et al.*, 2010; Trochet *et al.*, 2019).

Une meilleure connaissance de ces adaptations comportementales à des situations spécifiques permettrait un développement plus ciblé des mesures de conservation. Elles aideraient à assurer la connectivité fonctionnelle, de la conception des corridors écologiques à l'atténuation du rôle de barrière des routes et des voies ferrées grâce aux passages à faune (Bain *et al.*, 2017).

2. La LGV Bretagne-Pays de la Loire

La Ligne à Grande Vitesse LGV Bretagne-Pays de la Loire qui relie Le Mans à Rennes traverse de nombreux paysages agricoles caractérisés par une présence plus ou moins importante de fragments de forêts, de haies et de milieux aquatiques (mares, fossés, ruisseaux, prairies inondées, etc.) selon les tronçons. Les travaux de construction de la LGV se traduisent par une perte partielle de ces reliquats d'habitats semi-naturels. Cette perte a conduit ©Eiffage Rail Express (ERE) aménageur de la voie ferrée, à mettre en place des mesures compensatoires, notamment des mares de compensation : pour 68 mares détruites, 213 nouvelles mares ont été créées dans l'emprise de la LGV ou à proximité. Pour le milieu terrestre, 260 ha d'habitats ont été créés ou restaurés (boisements, haies, prairies) pour un ratio de 1 ha de travaux, 1.4 ha de compensation. Les milieux aquatiques sont l'habitat de reproduction d'un peuplement d'amphibiens composé de nombreuses espèces dans la région

considérée. Les mares de compensation – réalisées suivant des caractéristiques connues favorables à la reproduction - doivent permettre la reproduction des amphibiens qui les fréquentent. Mais la pérennité des populations d'amphibiens repose aussi sur la possibilité de déplacement entre les mares de reproduction et les habitats terrestres. Ainsi, l'emprise de la LGV peut présenter un obstacle à ces déplacements lorsqu'elle sépare les sites aquatiques de reproduction des sites terrestres de nourrissage et d'hibernation. Pour permettre les échanges entre ces habitats potentiellement situés de part et d'autre de la LGV, des batrachoducs (éco-passages spécifiques pour les amphibiens) ont été réalisés sous les voies dans les secteurs où un enjeu « amphibiens » (à savoir l'existence d'espèces d'amphibiens dans les sites aquatiques échantillonnés lors des études préalables à l'aménagement) a été identifié. Ces batrachoducs s'accompagnent de mares relais (d'environ 25 m² et peu profondes) situées à proximité des entrées de ces passages, avec pour objectif d'augmenter leur attractivité pour les amphibiens. Cet ensemble de mesures (éco-passages, mares relais et mares de compensation) vise à permettre aux amphibiens de se déplacer dans cet espace (paysage incluant la LGV) afin de participer à la pérennité du peuplement d'amphibien en place. La réussite de ce « complexe d'aménagements » est cependant mal connue et nécessite une évaluation basée sur un protocole adéquat.

3. L'observatoire environnemental de la LGV

Dans le cadre de l'Observatoire environnemental de la LGV Bretagne Pays de la Loire, il a été décidé de mener une réflexion sur la transparence écologique de la LGV, notamment vis-à-vis des amphibiens et plus précisément d'identifier dans quelle mesure la LGV impacte la capacité de dispersion des amphibiens. L'observatoire de l'environnement a plusieurs objectifs :

- Suivre et ainsi pouvoir comparer des variables environnementales sur une période suffisamment longue (10 années pleines entre 2012 et 2022) pour être considérée comme représentative.
- Connaître précisément les incidences locales (altération d'écosystèmes sensibles, richesses locales créées, choix publics liés au projet).
- Partager, avec l'ensemble des parties prenantes, la production et la diffusion des connaissances acquises au travers du projet et de sa réalisation.

- Améliorer la conception et l'intégration des futurs projets de LGV via un retour d'expérience spécifique.

4. Problématique de recherche et axes de recherche

Le doctorat a été réalisé dans le cadre de cet observatoire afin « d'évaluer la perméabilité de la LGV Bretagne-Pays de la Loire aux déplacements des amphibiens ». L'objectif était d'évaluer les mesures prises pour permettre la viabilité des populations d'amphibiens dans le paysage incluant la LGV afin d'apporter des recommandations pour la conception et l'entretien à long terme des dispositifs déployés pour la pérennité de ces populations. Quatre axes de suivis ont été envisagés :

- (1) Le fonctionnement des populations d'amphibiens dans le paysage incluant la LGV, et en particulier le rôle des mares créées (e.g. mares de compensation).
- (2) La « transparence » de la LGV par l'utilisation des aménagements (éco-passages et mares relais) grâce à un suivi d'individus marqués permettant d'évaluer l'utilisation de ces aménagements dans le contexte d'un fonctionnement populationnel.
- (3) Les modalités d'utilisation des éco-passages, par des expériences de « homing » (retour au site aquatique ou terrestre) pour des adultes et des juvéniles afin de suivre le comportement des individus lors du franchissement des éco-passages.
- (4) Le franchissement des voies ferrées et substrats associés, par des expériences de choix de franchissement de substrat pour des adultes et des juvéniles.

Ma thèse se retrouve à mi-chemin entre deux cadres théoriques en écologie :

- L'écologie du mouvement
- L'écologie routière

C'est pourquoi cette introduction générale s'intéressera dans sa deuxième partie à l'état de l'art sur le mouvement chez les amphibiens. Puis dans sa troisième partie aux effets des infrastructures linéaires de transports.

Différentes approches sont couramment utilisées pour traiter de l'écologie du mouvement en lien avec les infrastructures linéaires de transport :

- L'étude de l'utilisation ou fréquentations des tunnels par exemple avec des Piège-photos / Pigments fluorescents (Matos et al. 2018, Jarvis et al. 2019, Hamer et al. 2014).

- Des expériences comportementales par exemple pour étudier les préférences écologique liés à la structure des tunnels (Lesbarrères et al. 2004, Dodd et al. 2004, Patrick et al. 2010)
- La génétique des populations pour étudier la structuration des populations (Prunier et al. 2014, Safner et al. 2011)
- La Dynamique des populations à l'aide de suivis de capture-marquage-recapture (Matos et al., 2018; Schmidt and Zumbach, 2008)
- Des études de présence-absence à court et long terme à l'aide d'Inventaire (Denton et al. 1997, Lesbarrères et al. 2010)

Pour répondre plus précisément à la problématique de ma thèse, deux de ces approches ont été utilisées et font l'objet des deux chapitres suivant de cette thèse qui feront suite à l'introduction générale.

Le chapitre 2 présente une approche de suivi des populations traitant l'axe 1 et 2. Les objectifs de ces axes sont d'évaluer :

- L'état des populations aux abords de la LGV
- La fidélité aux mares de reproduction
- La proportion d'échanges entre mares proches et entre mares séparées par la LGV

Un suivi par capture-marquage-recapture de trois espèces de tritons a eu lieu sur 5 secteurs le long de la LGV répartis sur les trois départements. Les captures ont eu lieu dans des mares historiques, des mares compensatoires et des mares relais.

Le chapitre 3 de ce manuscrit présente une approche expérimentale traitant l'axe 3. Les objectifs de cet axe sont de mesurer :

- Les capacités des amphibiens à utiliser les batrachoducs et leurs comportements dans ceux-ci.
- Les variations de comportements et d'utilisations des batrachoducs selon différents paramètres structuraux des tunnels.
- Les variations de comportement et d'utilisation des batrachoducs en lien avec des stimulus sonores.

Des expériences ont ainsi été réalisées dans 4 tunnels sur 3 secteurs de la LGV. Ce chapitre est divisé en trois sous-parties. La première partie traite de l'aspect méthodologique du suivi du déplacement de différents Crapauds épineux avec des antennes RFID dans un tunnel. Des carabes y ont été également testés permettant de montrer la reproductivité de la méthode à d'autres groupes telles que les insectes. Cette partie a été publiée dans la revue *Animal Biotelemetry* en 2019. La seconde partie évalue l'utilisation, le franchissement et l'attractivité de 3 tunnels pour 3 espèces d'urodèles et 3 anoures. Une comparaison est effectuée entre deux tunnels de longueur différente pour évaluer l'influence de celle-ci, ainsi qu'avec enrichissement sonore afin d'en évaluer l'efficacité dans un objectif d'amélioration de l'usage des tunnels. La deuxième partie a été publiée dans la revue *Global ecology and conservation* en 2020. La troisième partie est une analyse des trajectoires des amphibiens dans les tunnels pendant les expériences de « homing ». Elle nécessitera des analyses complémentaires pour une soumission début 2021.

Le 4^{ème} axe n'a pas été traité durant la thèse pour des raisons logistiques d'accès aux rails, cela s'est avéré impossible au regard des obligations de sécurité au bord de la voie ferrée.

Bibliographie

- Bain, T. (2014). Evaluating the Effect of Moisture in Wildlife Crossing Tunnels on the Migration of the California Tiger Salamander, *Ambystoma californiense*. Thesis. Department of Biology, Sonoma State University.
- Bain, T.K., Cook, D.G., and Girman, D.J. (2017). Evaluating the effects of abiotic and biotic factors on movement through wildlife crossing tunnels during migration of the california tiger salamander, *Ambystoma californiense*. *Herpetological Conservation and Biology* 12, 192–201.
- 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.
- Cayuela, H., Pradel, R., Joly, P., Bonnaire, E., and Besnard, A. (2018). Estimating dispersal in spatiotemporally variable environments using multievent capture–recapture modeling. *Ecology* 99, 1150–1163.
- Cayuela, H., Valenzuela-Sánchez, A., Teulier, L., Martínez-Solano, Í., Léna, J.-P., Merilä, J., Muths, E., Shine, R., Quay, L., Denoël, M., *et al.* (2020). Determinants and Consequences of Dispersal in Vertebrates with Complex Life Cycles: A Review of Pond-Breeding Amphibians. *The Quarterly Review of Biology* 95, 1–36.
- Dingle, H., and Drake, V.A. (2007). What Is Migration? *BioScience* 57, 113–121.
- Fraser, K.C., Davies, K.T.A., Davy, C.M., Ford, A.T., Flockhart, D.T.T., and Martins, E.G. (2018). Tracking the Conservation Promise of Movement Ecology. *Front. Ecol. Evol.* 6.

- Jarvis, L.E., Hartup, M., and Petrovan, S.O. (2019). Road mitigation using tunnels and fences promotes site connectivity and population expansion for a protected amphibian. *Eur J Wildl Res* 65, 27.
- Joly, P. (2019). Behavior in a changing landscape: Using movement ecology to inform the conservation of pond-breeding amphibians. *Front. Ecol. Evol.* 7.
- 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.
- Lesbarrères, D., Lodé, T., and Merilä, J. (2004). What type of amphibian tunnel could reduce road kills? *Oryx* 38, 220–223.
- Lowe, W.H., and Allendorf, F.W. (2010). What can genetics tell us about population connectivity? *Molecular Ecology* 19, 3038–3051.
- Matos, C., Petrovan, S.O., Wheeler, P.M., and Ward, A.I. (2018). Short-term movements and behaviour govern the use of road mitigation measures by a protected amphibian. *Animal Conservation* 22, 285–296.
- 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. *PNAS* 105, 19052–19059.
- Patrick, D.A., Schalk, C.M., Gibbs, J.P., and Woltz, H.W. (2010). Effective culvert placement and design to facilitate passage of amphibians across roads. *Journal of Herpetology* 44, 618–626.
- Stevens, V.M., Trochet, A., Blanchet, S., Moulherat, S., Clobert, J., and Baguette, M. (2013). Dispersal syndromes and the use of life-histories to predict dispersal. *Evolutionary Applications* 6, 630–642.
- Trochet, A., Le Chevalier, H., Calvez, O., Ribéron, A., Bertrand, R., and Blanchet, S. (2019). Influence of substrate types and morphological traits on movement behavior in a toad and newt species. *PeerJ* 6.

II. Les mouvements chez les amphibiens



Crapaud épineux *Bufo spinosus* en déplacement dans un batrachoducs

© Philippe Geniez / EPHE - BEV

Cette deuxième partie de l'introduction présente l'état de l'art sur le mouvement chez les amphibiens en différenciant les différents types de mouvements, les mécanismes et les facteurs influençant ces différents mouvements. Enfin il présente des méthodes pour évaluer ces mouvements.

1. Les différents types de mouvements

Le mouvement, tant à l'intérieur du domaine vital d'un individu qu'à l'échelle de la dispersion est un aspect fondamental de l'écologie des organismes (Joly, 2019; Nathan *et al.*, 2008). Le mouvement définit l'échelle spatiale et temporelle des interactions d'un organisme avec d'autres organismes, avec les ressources et l'environnement (Clobert *et al.*, 2001, 2009; Dingle and Drake, 2007). Le mouvement est également défini comme le changement dans la localisation spatiale de l'individu dans le temps, déterminée par des processus qui agissent sur de multiples échelles spatiales et temporelles (Clobert *et al.*, 2001; Dingle, 1996; Nathan *et al.*, 2008). Pour se reproduire les organismes ont la nécessité d'accéder à différentes ressources pouvant être réparties de manière hétérogène dans l'espace et le temps. Cela oblige les individus à traverser une matrice paysagère plus ou moins inhospitalière. Le mouvement permet de faire face à cette hétérogénéité (Dingle and Drake, 2007; Joly, 2019; Merle, 2015). Les déplacements correspondent quant à eux aux actions de changements de position (Merle, 2015). Le mouvement et le déplacement sont fréquemment employés pour définir la même notion et bien définir ces deux termes s'avère complexe. Dans ce manuscrit le mot « mouvement » sera employé pour décrire le concept alors que le mot « déplacement » décrira plus l'action.

Un paysage est défini fréquemment comme un milieu contenant une mosaïque de parcelles (Dunning *et al.*, 1992). Il peut se définir d'une part par sa composition et d'autre part par sa configuration (Prunier, 2012). Les interactions entre capacité de déplacement (p. ex. performance locomotrice, mécanismes d'orientation) et la dureté ou la résistance du paysage (p. ex. aridité, toxicité, danger) déterminent la connectivité du paysage (Baguette and Van Dyck, 2007; Greenwald, 2010; Joly *et al.*, 2001; Rittenhouse and Semlitsch, 2007; Rothermel, 2004). La connectivité du paysage correspond à la capacité de l'environnement à rendre possible les déplacements des individus. « C'est l'évaluation du degré avec lequel les paysages facilitent la circulation des organismes dans un contexte de fragmentation des habitats » (Holderegger and Wagner, 2008). La connectivité du paysage intègre la connectivité fonctionnelle (comportements de dispersion, coûts et risques) et la connectivité structurelle (exemple une haie) (Baguette *et al.*, 2013; Manel and Holderegger, 2013; Taylor *et al.*, 1993, 2006). Les mécanismes de mouvement utilisés par les individus, associés à la structure du paysage et à la disponibilité et prévisibilité des ressources, peuvent influencer la dynamique

spatio-temporelle des populations ou métapopulation (Mueller *et al.*, 2011) (Voir encadré 1 pour des définitions de métapopulations et populations).

La sélection a produit des comportements et des réponses spécifiques des individus à l'environnement pour s'adapter (Dingle, 1996; Dingle and Drake, 2007; Kennedy, 1985). Un comportement étant un ensemble de processus de décision par lesquels les individus ajustent leur état et leur situation par rapport aux variations du milieu abiotique et biotique. Le mouvement étant fortement lié à la sélection d'habitat, d'après cette théorie, dans un environnement hétérogène et prévisible, il y a un avantage sélectif à utiliser l'habitat le plus favorable (Boulinier *et al.*, 2005). Les animaux ont donc besoin de s'informer sur leur environnement, pour réaliser un choix de l'habitat. Un choix est un « processus par lequel l'individu acquiert de l'information sur les alternatives possibles et décide d'opter pour celle d'entre elles qui compte tenu d'un certain nombre de paramètres lui permet de maximiser son aptitude » (Boulinier *et al.*, 2005). La sélection d'habitat nécessite des capacités cognitives complexes particulières (Klopfer and Ganzhorn, 1985) : l'orientation dans l'espace, la notion du temps qui s'écoule, la mémoire spatiale et le souvenir de l'emplacement du territoire de naissance ou de reproduction et enfin l'acquisition et l'utilisation des informations sur les diverses alternatives (Danchin *et al.*, 2005). Ces mouvements nécessitent donc la mise en place de comportements de déplacements particuliers.

Le cadre de l'écologie du mouvement est un outil important pour l'étude des amphibiens, particulièrement pour la gestion de ces populations spatialement structurées (Joly, 2019). Les déplacements peuvent être divisés entre ceux qui se produisent généralement dans le domaine vital (mouvement journalier) et ceux qui emmènent l'individu plus ou moins en permanence hors de ce domaine (la dispersion et la migration) (Dingle, 1996; Merle, 2015).

Encadré 1 : Population / Métapopulation et Amphibiens

Une population est un ensemble d'individus de la même espèce qui ont la possibilité d'interagir entre eux au moment de la reproduction, elle représente une communauté génétique (Waples and Gaggiotti, 2006).

Le concept de métapopulation a été introduit en 1954 (Andrewartha and Birch, 1954) qui reconnaissait l'importance des éléments spatiaux en écologie. La recherche sur ce concept s'est ensuite beaucoup développée suite aux travaux de Levins et Hanski (Hanski and Gilpin, 1991; Levins, 1969). Une métapopulation est une population de populations. C'est un ensemble de parcelles de reproduction, partiellement isolées, connectées par de la dispersion occasionnelle d'individus où chaque parcelle a une probabilité d'extinction (Levins, 1969). Leurs équilibres dépendent de processus stochastiques avec les extinctions locales et la recolonisation de sites vacants (Levins, 1969).

Il existe de nombreuses variantes du concept de métapopulation (Smith and Green, 2005) allant de modèles très simples utilisant un minimum de données (Levins, 1969) à des modèles beaucoup plus complexes qui incorporent de nombreuses variables environnementales (Hanski, 1999; Harrison and Taylor, 1997; Sjogren Gulve and Ray, 1996). Hanski énonce quatre conditions nécessaires pour démontrer l'existence d'une métapopulation (Hanski, 1999):

- 1) les parcelles d'habitat contiennent des populations locales de reproduction,
- 2) aucune population n'est assez importante pour assurer une survie,
- 3) les patchs ne sont pas trop isolés pour empêcher la recolonisation,
- 4) les dynamiques locales sont suffisamment asynchrones pour rendre peu probable la disparition simultanément de toutes les populations locales.

Ces hypothèses sont néanmoins rarement vérifiées, Smith & Green ayant par exemple montré à partir d'une étude bibliographique sur 56 études qu'elle étaient vérifiées individuellement dans 26,3% des cas (Smith and Green, 2005). Plus récemment Sinsch considère que les populations d'amphibiens se répartissent en trois grandes catégories (Sinsch, 2014) :

- 1) les populations fermées qui sont géographiquement isolées et ne peuvent être atteintes en dispersant des congénères de populations distinctes ;
- 2) Les "métapopulations" constituées de plusieurs populations locales en interaction avec un flux de gènes occasionnel et une extinction et une colonisation locales
- 3) Les "populations disparates" panmictiques avec de larges flux de gènes entre des parcelles voisines.

2. Les mouvements journaliers

Les mouvements journaliers sont réalisés au niveau des microhabitats à une échelle spatio-temporelle réduite (Dingle and Drake, 2007; Sinsch, 2014). Ils sont une réponse aux besoins immédiats comme l'approvisionnement alimentaire (« Foraging ») (Dingle, 1996;

Kennedy, 1985), l'évitement de la prédation ou la recherche d'abri (Semlitsch, 2008). Ils ont lieu à l'intérieur du domaine vital de l'animal. Les mouvements journaliers sont fréquemment caractérisés par une faible vitesse, de nombreux allers-retours et une tortuosité importante, l'animal changeant fréquemment de cap au fur et à mesure qu'il trouve et se déplace entre les différents éléments (Dingle, 1996). Pour Pittman *et al.* (2014), le domaine vital des amphibiens est « une zone de refuge où un individu est protégé contre la dessiccation et peut trouver des ressources alimentaires adéquates ». Les domaines vitaux des amphibiens sont généralement de petite taille et consistent en des refuges tels que des rondins, des rochers, des terriers ou des arbres (Pittman *et al.*, 2014). Le domaine vital est une partie restreinte de l'habitat potentiellement favorable. Celui-ci est plus ou moins familière et l'individu a la capacité de localiser les zones d'intérêts. L'ampleur des déplacements à l'intérieur d'une parcelle d'habitat dépend principalement de la structure interne de la parcelle, c'est-à-dire de la répartition spatiale des microhabitats, de leur nombre, de leur taille et de leur qualité (Pontoppidan and Nachman, 2013). La recherche de nourriture étant généralement constituée d'allers-retours vers le même abri, ils peuvent être inaperçus par les observateurs (Sinsch, 2014).

3. Les mouvements de migration

La migration est vue comme une adaptation à des ressources qui fluctuent dans l'espace et le temps, soit de manière saisonnière soit de manière moins prévisible (Dingle and Drake, 2007). Ainsi lorsque les ressources sont dispatchées sur de grandes distances, l'exploitation par îlot peut obliger les individus à traverser des environnements plus ou moins hostiles, ce qui entraîne des déplacements directs d'un îlot de ressources à un autre. La migration est présente dans toutes les grandes branches du règne animal (Dingle and Drake, 2007). Elle implique deux niveaux liés à la fois à son mécanisme et sa fonction : le comportement s'appliquant aux individus et l'écologie s'appliquant aux populations (Dingle and Drake, 2007; Kennedy, 1985; Taylor, 1986). Le mot migration peut évoquer quatre concepts différents mais qui se chevauchent : (1) un type d'activité de déplacement qui est notamment persistant, ne pouvant être distrait et régulier ; (2) une relocalisation de l'animal qui est à une échelle beaucoup plus grande et qui implique des déplacements d'une durée beaucoup plus longue que ceux qui surviennent dans ses activités journalières normales ; (3) un mouvement saisonnier de va-et-vient des populations entre des zones où les conditions

sont alternativement favorables ou défavorables (y compris une zone de reproduction) ; et (4) des mouvements conduisant à une redistribution au sein d'une population étendue dans l'espace (Dingle and Drake, 2007; Taylor, 1986).

Chez les amphibiens la migration correspond à des allers-retours synchronisés avec le cycle annuel des saisons : les animaux retournent dans leur zone de reproduction d'origine ou dans de nouvelles (Dingle and Drake, 2007). La migration est réalisée à plus large échelle que les mouvements journaliers et elle correspond à un changement entre des habitats temporaires où les individus réalisent des parties de leur cycle de vie. La migration se caractérise par des déplacements beaucoup plus rectilignes et orientés que les mouvements journaliers, et ces déplacements sont persistants et peuvent être réalisés à plusieurs reprises au cours de la vie des individus (Able, 1993). La migration est une composante essentielle du cycle de vie, de la niche écologique de l'organisme et joue un rôle central dans la dynamique spatiale des populations mobiles, et se distingue largement, tant dans sa forme que dans sa fonction, du mélange au sein de la population résultant de la dispersion (Dingle and Drake, 2007). La migration permet également de relier les domaines vitaux aquatique et terrestre des amphibiens.

La plupart des amphibiens du paléarctique se reproduit dans des petits plans d'eau (mares, étangs...) (Miró *et al.*, 2016; Semlitsch, 2008). Ils utilisent des environnements terrestres comme habitats d'alimentation et de refuges (Semlitsch, 2008). Ils sont itéropares c'est-à-dire qu'ils ont plusieurs occasions de reproduction au cours de leur vie et ont un cycle de vie biphasique avec des œufs et des larves aquatiques et des juvéniles et adultes aquatiques et terrestres. Leur cycle de vie complexe implique des migrations saisonnières entre les habitats de reproduction aquatiques et les habitats terrestres (Cushman, 2006). Certains anoues effectuent des migrations spectaculaires synchronisées vers les sites de reproduction impliquant des milliers d'individus (par exemple, *B. bufo*) (Heusser, 1958).

Les mouvements des amphibiens sont généralement guidés par le comportement d'orientation, pour choisir la distance la plus courte vers le but afin de minimiser le risque de prédation et de dessiccation (Sinsch, 2006). L'orientation est principalement utilisée lors des comportements où l'animal retourne à un lieu d'intérêt. L'orientation est un mécanisme simple s'apparentant à l'utilisation d'une boussole pour garder un cap. La migration nécessite des mécanismes d'orientation plus ou moins complexes telle que la navigation qui permet de

se déplacer grâce à un système d'orientation multi-sensoriel (Ferguson, 1971). La navigation se compose de deux étapes : faire le point sur sa position par rapport à la destination et mettre en place les stratégies pour rejoindre ce point. Il existe deux types de navigation : une navigation immédiate où le but du déplacement se trouve à proximité et est détecté du point de départ avec un lien stimulus-réponse. Et une navigation lointaine qui nécessite l'orientation ou une empreinte à un habitat grâce à l'utilisation de mécanismes d'orientation élémentaires (Joly, 2019), comme les kinesi, les taxis (mouvement déclenché par des agents externe), ou un compas (Fraenkel and Gunn, 1961). L'orientation utilise un tropisme lié à des signaux directionnels acoustiques, olfactifs, visuels, géomagnétique, provenant des cibles (Diego-Rasilla *et al.*, 2008; Heusser, 1958; Joly and Miaud, 1993; Malmgren, 2002; Sinsch, 2006). Ils peuvent également être utiles pour identifier les sites de reproduction ou les habitats d'estivation appropriés dans des zones inconnues (Sjögren-Gulve, 1998; Twitty *et al.*, 1964) (voir dispersion). L'orientation est un processus multimodal (les signaux sont traités en simultané), et vicariant (information d'un signal remplacée par un autre en cas d'absence du premier). La gamme perceptive des adultes en déplacement est probablement plus large que celle des jeunes et les capacités de navigation peuvent s'être développées sur la base d'une carte cognitive acquise pendant la phase juvénile (Sinsch, 2006). Mais l'utilisation de carte cognitive n'est néanmoins pas établie (Joly, 2019). Des connaissances acquises par les têtards sur les différentes caractéristiques chimiques de leur mare natale pourraient être utilisées dans les mouvements migratoires ultérieurs, soit positivement chez les individus philopatrics, soit négativement chez les dispersants (Ogurtsov and Bastakov, 2001). Les mouvements migratoires sont coûteux en énergie mais impératifs pour finaliser le cycle de vie complexe de certaines espèces comme c'est le cas chez de nombreux amphibiens (Dingle and Drake, 2007). Le succès de la migration dépend des coûts de déplacement lors du franchissement d'une matrice paysagère plus ou moins hostile. Chez les amphibiens qui se reproduisent en mare, la mare est un site essentiel, autour duquel la population est organisée (Joly, 2019). Les mares sont souvent regroupées en archipels où les déplacements d'une mare à l'autre sont fréquents, entraînant des populations panmictiques et multinucléaires (Decout *et al.*, 2012; Petranka and Holbrook, 2006; Sinsch, 2014; Trenham, 2001).

Les migrations de pré-reproduction sont les mouvements des amphibiens les mieux étudiés et peuvent atteindre en Europe jusqu'à 8 à 10 km chez *R. temporaria* (Beshkov and

Angelova, 1981) et une modélisation basée sur les distances journalières individuelles parcourues par les adultes d'*Epidalia calamita* montre que 5% des individus peuvent s'éloigner de plus de 12 km de leur lieu de ponte (Sinsch *et al.*, 2012).

Les migrations post-nuptiales sont moins évidentes à étudier car les déplacements individuels ont tendance à être solitaires, à des moments différents et vers des domaines vitaux distincts (Joly, 2019). Pourtant l'activité peut y être plus importante que durant la migration pré-reproduction, et elle ne devrait donc pas être négligée (Matos *et al.*, 2018).

4. Les mouvements de dispersion

Certains individus se déplacent sur de plus grandes distances loin de leur site natal par rapport à la majorité des individus de la même population (Sinsch, 2014). La dispersion est un mécanisme central de l'écologie et de l'évolution (Bowler and Benton, 2005; Clobert *et al.*, 2009; Ronce, 2007) qui est pourtant assez mal compris. Dans son sens large, la dispersion comprend toutes les tentatives de déplacement d'un site de naissance ou de reproduction vers un autre site de reproduction (Clobert *et al.*, 2009). Elle est réalisée généralement à large échelle (distance). Le dispersant quitte son lieu de naissance pendant sa phase juvénile (dispersion natale) ou durant la phase adulte quitte son lieu de reproduction habituel (dispersion de reproduction) pour se reproduire dans un nouveau lieu (Cayuela *et al.*, 2018a; Dingle and Drake, 2007; Greenwood and Harvey, 1982; Ronce, 2007; Sinsch, 2014). Ces deux dispersions sont susceptibles d'entraîner des flux de gènes. La fréquence de ce type de comportement de relocalisation est généralement faible avec seulement quelques individus nomades qui dispersent (Joly, 2019). Le terme "philopatrie" décrit l'absence de dispersion, elle représente la tendance d'un individu à se reproduire dans le site de reproduction natal pendant toute sa vie (Mayr, 1963). Les juvéniles ont une connaissance de la qualité de leur lieu de naissance grâce à leur propre condition physique, qui reflète la disponibilité alimentaire et le niveau de concurrence et le succès de reproduction du site (Joly, 2019). Ils évitent également le coût d'un potentiel échec de la reproduction lors de la dispersion. Compte tenu de ces éléments, la dispersion juvénile devrait être plus fréquente que la dispersion de reproduction (Hamilton and May, 1977; Marsh and Trenham, 2001; Pittman *et al.*, 2014). Plus récemment il a été montré que la dynamique des populations d'amphibiens structurées dans l'espace n'est pas toujours principalement déterminée par la dispersion natale mais que la dispersion de reproduction entre les sites de reproduction peut également jouer un rôle

central (Denoël *et al.*, 2018). D'un autre côté, la taille corporelle a une influence positive sur les capacités locomotrices et la propension individuelle aux déplacements, ce qui devrait plus favoriser la dispersion de reproduction (Maes *et al.*, 2013). Au final, il doit y avoir une coexistence de la dispersion natale et de la dispersion reproductrice chez les espèces itéropares à longue durée de vie (Joly, 2019).

La dispersion, une force évolutive

La dispersion est considérée comme l'une des quatre grandes forces évolutives. C'est un trait essentiel de l'histoire de la vie de la plupart des organismes (Cayuela *et al.*, 2018b). L'évolution de la dispersion est déterminée par l'équilibre entre les coûts et les avantages relatifs associés au départ (dispersion) et au maintien (non dispersion : Philopatrie et homing) (Bonte *et al.*, 2012; Cayuela *et al.*, 2020; Stamps *et al.*, 2005). Les individus ajustent leurs décisions de dispersion en fonction d'indices environnementaux et sociaux c'est-à-dire une dispersion éclairée (Clobert *et al.*, 2009) qui reflète probablement les perspectives d'aptitudes d'un individu sur un site de reproduction donné (Cayuela *et al.*, 2020). La dispersion et la migration sont des processus différents, mais il y a des cas où les événements de dispersion peuvent résulter d'erreurs de navigation pendant les mouvements migratoires (Cote *et al.*, 2017). Elle peut améliorer la valeur sélective (fitness) directe ou inclusive de l'individu (valeurs sélectives de ses apparentés) en cas de succès. La valeur sélective représente à la fois une estimation et une prédiction du taux de sélection naturelle. Elle définit le succès relatif d'un allèle ou d'une combinaison d'allèles entre deux générations. Néanmoins la dispersion est un comportement risqué qui peut avoir un coût important par exemple en diminuant la quantité d'énergie pouvant être alloué à la reproduction (Ronce, 2007) ou si il y a une mauvaise résilience physiologique limitant ainsi la fitness de l'individu (Joly, 2019). Un coût important peut également être dû à un échec de la dispersion s'il y a de la mortalité par exemple par prédation (Ronce, 2007) pendant le déplacement, ou une impossibilité de trouver un nouveau lieu de reproduction ou si l'habitat d'installation est non favorable (Ronce, 2007). La dispersion peut également être néfaste en atténuant des adaptations locales liées au contexte local (Doebeli and Dieckmann, 2003; Ronce, 2007). La dispersion est essentielle à la dynamique des populations structurées dans l'espace (Cayuela *et al.*, 2020; Clobert *et al.*, 2009; Hanski, 1999; Hanski and Gilpin, 1991). Elle peut avoir une influence importante sur les processus démographiques et la génétique des populations avec des flux de gènes (Clobert *et al.*, 2009;

Ronce, 2007), principalement dans des environnements fortement instables tels que les mares temporaires, ou encore dans le cas de petites populations. La dispersion est souvent vue comme une réponse pour réduire la compétition entre apparentés et éviter la consanguinité nommée « inbreeding » (Dingle and Drake, 2007; Lowe and Allendorf, 2010), mais aucune étude ne l'a démontré chez les amphibiens (Cayuela *et al.*, 2020). Une reproduction réussie suite à une dispersion permet un échange de gènes entre différents lieux de reproduction ou entre populations nommé flux de gènes (Baguette *et al.*, 2013; Hanski *et al.*, 2000; Lowe and Allendorf, 2010; Ronce, 2007). La dispersion modifie la taille efficace de la population (N_e) chez les amphibiens (Cayuela *et al.*, 2020). Le brassage génétique qui en découle est nommé « outbreeding ». Il permet à des populations soumises fortement à la dérive génétique liée à la stochasticité environnementale et démographique de réobtenir des gènes adaptatifs dans un environnement donné, augmentant ainsi la viabilité à long terme des populations locales (Carlson *et al.*, 2014; Legrand *et al.*, 2017; Lowe and Allendorf, 2010; Ronce, 2007). En diffusant des allèles avantageux, les flux de gènes contribuent à la diversité génétique et au potentiel adaptatif des populations.

Du point de vue de la dynamique des populations, la dispersion est un paramètre central dans les modèles de métapopulation car elle affecte la croissance de la population et la colonisation d'environnements nouveaux (Gilpin, 2012; Hanski and Gilpin, 1991; Marsh and Trenham, 2008), par exemple lors de la création ou l'apparition de nouveaux habitats (Cayuela *et al.*, 2020). La recolonisation d'habitats suite à une extinction ou une diminution forte de la population, liée par exemple à une forte perturbation de l'environnement ou à la stochasticité démographique permet la résilience des populations (effet de sauvetage) et empêche ainsi des extinctions locales (Brown and Kodric-Brown, 1977; Joly, 2019). Elle joue donc un rôle central dans la dynamique colonisation-extinction dans les paysages hétérogènes (Gilpin, 2012; Hanski and Gilpin, 1991).

Les facteurs influençant la dispersion

La dispersion peut être décomposée en trois étapes : la phase de départ qui correspond à l'émigration, la phase de transience, et la phase d'arrivée ou d'installation qui correspond à l'immigration (Baguette and Dyck, 2007; Clobert *et al.*, 2009; Matthysen, 2012; Ronce, 2007). Chacune implique des mécanismes comportementaux différents (Ims and Yoccoz, 1997) et les forces sélectives agissant sur chacune d'elles peuvent diverger (Joly,

2019). Il y a donc une nécessité d'un équilibre entre les coûts et les bénéfices à chacune de ces trois étapes (Bonte *et al.*, 2012). Il est attendu que les individus réagissent aux changements locaux de la disponibilité ou des caractéristiques de l'habitat d'une manière qui améliore leur survie et leur rendement reproductif (Bowler and Benton, 2005). La décision d'un amphibien de se déplacer ou de rester est le résultat d'un processus multicausal dépendant de l'étape à laquelle il se trouve et pesant les avantages et les coûts relatifs de la dispersion et de la migration à longue distance et de l'installation temporaire ou permanente (Baguette *et al.*, 2013; Cayuela *et al.*, 2020; Joly, 2019; Matthysen, 2012; Pittman *et al.*, 2014; Sinsch, 2014). L'émigration et l'immigration sont étroitement associées à la sélection de l'habitat de reproduction (Boulinier *et al.*, 2005; Davis and Stamps, 2004; Stamps, 2001; Stamps *et al.*, 2005) alors que la transience est plus liée aux mécanismes d'orientation et navigation. La décision de départ et d'installation dépend de très nombreux facteurs :

- (1) Des facteurs physico-chimiques et paysagers de l'environnement comme la taille et la qualité des habitats, la résistance du paysage, l'hydropériode et la persistance interannuelle des sites de reproduction (Decout *et al.*, 2012; Gustafson and Gardner, 1996; Matthysen, 2012; Stevens *et al.*, 2004).

La fréquence des événements de dispersion diminue également de manière non linéaire avec les distances euclidiennes entre les parcelles (Berven and Grudzien, 1990; Breden, 1987; Cayuela *et al.*, 2020; Hendrix *et al.*, 2017; Joly, 2019; Trenham, 2001). Les *Bufo variegata* reproducteurs sont moins susceptibles d'émigrer d'étangs ayant une longue hydropériode, où le succès de reproduction est élevé et constant (Tournier *et al.*, 2017) que dans des sites où l'hydropériode est variable (c'est-à-dire où les étangs sont fréquemment asséchés), les reproducteurs ajustant leurs décisions d'émigration et d'immigration en fonction des risques associés et des possibilités de reproduction (Hamer and McDonnell, 2008; Tournier *et al.*, 2017). Dans le cas extrême, la dispersion est obligatoire lorsqu'un étang est entièrement asséché si les animaux doivent se reproduire (Cayuela *et al.*, 2018b).

- (2) Des facteurs biologiques dus par exemple à l'état phénotypique, l'âge, le sexe, la capacité physique, la condition physique et physiologique, l'état hormonal, la personnalité, la cognition, la génétique, possiblement liés à un syndrome de dispersion (Brodin *et al.*, 2013; Cayuela *et al.*, 2020; Denoël *et al.*, 2018; Hamilton and May, 1977; Joly, 2019; Lampert *et al.*, 2003; Matthysen, 2012).

Un syndrome comportemental est un ensemble de comportements corrélés dus à la sélection (Boissy, 1995). Le concept de syndrome de dispersion relie plusieurs composantes de l'état interne, telles que la physiologie, le comportement, la morphologie et le cycle biologique, afin d'identifier différents phénotypes liés à la propension à la dispersion (Clobert *et al.*, 2009; Ronce and Clobert, 2012). Par exemple la taille corporelle a généralement une influence positive sur les capacités locomotrices et la propension individuelle aux déplacements (Maes *et al.*, 2013) et la survie des amphibiens (Altwegg and Reyer, 2003; Schmidt *et al.*, 2012). Ces individus peuvent être plus susceptibles de devenir des individus dispersants en raison d'une réduction des coûts de dispersion (Denoël *et al.*, 2018). Un syndrome de dispersion entraînant une plus grande propension à l'audace et à l'exploration pourrait être une réponse à l'imprévisibilité des sites de reproduction ou aux grands avantages de la colonisation d'un habitat riche (Joly, 2019). On peut noter également que l'évolution de la dispersion sexuée est liée aux systèmes d'accouplement chez les vertébrés (Trochet *et al.*, 2016): les systèmes d'accouplement polygyniques couplés à la recherche active de partenaires entraînent souvent une dispersion biaisée par les mâles alors qu'une territorialité élevée des mâles entraîne généralement une dispersion biaisée par les femelles (Trochet *et al.*, 2016). Si la répartition des mâles est plus liée à la répartition des femelles plutôt que celle des ressources, cela peut également entraîner une dispersion biaisée pour les mâles (Denoël *et al.*, 2018; Greenwood, 1980; Lampert *et al.*, 2003; Liebgold *et al.*, 2011). Pour les Tritons crêtés, les individus qui ont déjà dispersé ont une plus grande probabilité de disperser à nouveau que leur congénères n'ayant pas dispersé (Denoël *et al.*, 2018).

- (3) Des facteurs biotiques extérieurs tels que la présence de nourriture, de prédateurs et de parasites, ou liés à la population avec la démographie et la densité, avec des effets Allee potentiels (lorsque la présence de congénères confère des bénéfices) (Allee, 1931), des liens d'apparentement, et enfin l'influence des hétérospecifics (Bestion *et al.*, 2014; Bonte *et al.*, 2008; Bowler and Benton, 2005; Cayuela *et al.*, 2018a, 2020; Joly, 2019; Matthysen, 2012; Sorci *et al.*, 1994).

Par exemple des études ont montré que l'émigration des individus adultes peut être négativement liée à la densité de l'espèce; les individus quittent les sites les moins peuplés au profit des plus peuplés (Cayuela *et al.*, 2018a; Gamble *et al.*, 2007). La phase d'installation suppose une évaluation de la qualité de l'habitat par le dispersant (Joly, 2019). La présence,

l'abondance, la condition physique des congénères et/ou le succès de reproduction d'individus conspécifiques ou d'autres espèces au sein d'une même guilda écologique peuvent générer des informations précieuses qui pourraient être utilisées pendant le processus de dispersion (Aragón *et al.*, 2000; Boulinier and Danchin, 1997; Cayuela *et al.*, 2018a; Doligez *et al.*, 2002; Mönkkönen *et al.*, 1999; Schmidt *et al.*, 2010; Seppänen *et al.*, 2007). Les immigrants peuvent être attirés par des sites occupés par une importante population (*Ambystoma opacum* : (Gamble *et al.*, 2007); *Triturus cristatus* : (Cayuela *et al.*, 2018a). L'attraction par les congénères pourrait être liée à des effets Allee, comme le partage « d'informations publiques » (Danchin *et al.*, 2004; Valone and Templeton, 2002) sur la localisation des ressources ou la recherche de partenaires sexuels (Martin and Caillère, 1982). D'autres caractéristiques (condition physique, disponibilité de nourriture, absence de prédateurs) peuvent aussi attirer des individus dispersants, permettant ainsi la colonisation de parcelles d'habitat vides (Le Galliard *et al.*, 2005) comme des mares nouvellement créées et dépourvues d'amphibiens qui sont rapidement colonisées (Baker and Halliday, 1999; Joly and Grolet, 1996; Weinbach *et al.*, 2018). Il a été montré également que les Tritons crêtés choisissent des étangs où la densité des Tritons alpestres et Tritons palmés est élevée (Cayuela *et al.*, 2018a). De telles stratégies d'utilisation de l'information publique entre hétérospécifiques ou conspécifiques doivent être favorisées par la sélection naturelle lorsque les avantages de l'agrégation sociale et/ou la réduction des coûts de recherche des sites de reproduction dépassent les effets néfastes de la concurrence (Cayuela *et al.*, 2018a).

La transience est plus liée aux mécanismes d'orientation et navigation grâce à l'utilisation de mécanismes d'orientation élémentaires (Joly, 2019), comme les cinèses (ou kinèses), les taxies, ou un compas (Fraenkel and Gunn, 1961). Comme indiqué précédemment l'orientation utilise un tropisme lié à des signaux directionnels acoustiques, olfactifs, visuels, géomagnétiques, provenant des cibles (Diego-Rasilla *et al.*, 2008; Heusser, 1958; Joly and Miaud, 1993; Malmgren, 2002; Sinsch, 2006). Ils peuvent être utilisés pour identifier les sites de reproduction ou les habitats d'estivation appropriés dans des zones inconnues (Sjögren-Gulve, 1998; Twitty *et al.*, 1964). Tout comme le géomagnétisme, l'utilisation de repères olfactifs est reconnue comme un mécanisme potentiel d'orientation à courte et moyenne distance chez les tritons (Joly and Miaud, 1993; Sinsch and Kirst, 2016) et plus largement chez les amphibiens (Sinsch, 2006). Il a été également montré que les anoues utilisent souvent les

chants comme attracteurs (Buxton *et al.*, 2015; Gerhardt and Huber, 2002; Pizzatto *et al.*, 2016; Swanson *et al.*, 2007). Étonnamment il a été aussi montré que les tritons peuvent aussi être attirés par les signaux auditifs des crapauds et des grenouilles dans des expériences en arènes expérimentales (Diego-Rasilla and Luengo, 2004, 2007; Madden and Jehle, 2017; Pupin *et al.*, 2007).

Tous ces facteurs ont une incidence sur le rapport coûts-avantages de la dispersion et sur l'évolution de la distance de dispersion (Bonte *et al.*, 2012; Cayuela *et al.*, 2020; Matthysen, 2012).

Difficultés pour mesurer la dispersion

La mesure de la dispersion est complexe car elle est imprévisible dans l'espace et dans le temps (Nathan *et al.*, 2001), et l'enregistrement des mouvements des populations locales demande beaucoup de travail. Les informations connues sur la dispersion sont souvent limitées à la recapture des individus marqués dans le cadre de capture-marque-recapture (CMR) (Sinsch, 2014), d'autant plus chez les juvéniles qui ne peuvent pas encore être suivis par radio-tracking (Pittman and Semlitsch, 2013). La probabilité de détecter un individu qui effectue une migration est extrêmement faible car la durée de la période de reproduction de la plupart des espèces est très courte. Compte tenu des contraintes des mesures directes de la capacité de déplacements des individus, une approche probabiliste utilisant les fonctions de dispersion leptokurtiques (Hanski *et al.*, 2000; Nathan *et al.*, 2001; Sinsch *et al.*, 2012) pour prédire le nombre d'individus dispersant est prometteuse. L'avantage des fonctions de dispersion est la représentation adéquate de rares déplacements à longue distance (Baguette, 2003). L'avantage de cette approche affinée est que tout type de déplacement à l'échelle des parcelles et des inter parcelles est pris en compte. Par exemple chez *E. calamita*, la capacité de déplacement des 5 % d'individus les plus mobiles a été estimée à 12,2 km, contre 4,4 km pour un seul spécimen suivi par radio (Miaud *et al.*, 2000a; Sinsch *et al.*, 2012). La comparaison des fonctions de dispersion spécifiques à une population permet d'effectuer des tests de signification pour établir un lien entre l'écologie des mouvements et la "connectivité des paysages" (Sinsch *et al.*, 2012).

Distance de dispersion

La distribution de la distance de dispersion est fortement asymétrique. Dans une synthèse bibliographique, parmi 166 articles concernant 90 espèces enregistrant la distance maximale parcourue, 5% des individus étaient capables de se déplacer sur plus de 10 km, allant jusqu'à 34 km alors que pour 44% des amphibiens, les espèces ne se sont pas déplacées à plus de 400 m (Smith and Green, 2005). La dispersion sur de longues distances est probablement plus fréquente que ce qui est estimé actuellement, car nous ne disposons pas des moyens méthodologiques pour la détecter. Il n'y a pas de concordance entre l'évaluation sur le terrain des distances maximales de dispersion des espèces d'amphibiens et les estimations moléculaires des flux de gènes (Sinsch, 2014). Selon des études génétiques, les individus se déplacent beaucoup plus loin que prévu par rapport aux connaissances liées au suivi direct des déplacements sur ces mêmes espèces (Kovar *et al.*, 2009; Moore *et al.*, 2011; Safner *et al.*, 2011). En l'état actuel de la technologie de suivi, il n'est pas possible de mesurer directement la capacité de déplacement annuel ou total d'un individu (Smith and Green, 2005). Les mesures de substitution actuellement utilisées, telles que la distance parcourue par les individus suivis par radio ou la distance observée directement entre les sites de marquage et de recapture dans les études CMR, sont influencées de manière imprévisible par la durée du suivi, la fréquence des localisations pendant le suivi et la météorologie. L'apparente sous-estimation de l'étendue réelle des déplacements en suivant les individus a des conséquences importantes pour l'interprétation de la structure spatiale des populations et une gestion éclairée de la conservation des amphibiens (Espregueira Themudo *et al.*, 2012; Marsh and Trenham, 2001). La cohésion génétique des populations locales semble être plus grande qu'on ne le pensait, la résistance du paysage est surestimée et de nombreuses métapopulations sont en fait des populations en patchs (Moore *et al.*, 2011; Sinsch, 2014; Sinsch *et al.*, 2012; Smith and Green, 2005; Stevens *et al.*, 2006). Des études suggèrent que les événements de dispersion évalués sur le plan comportemental sous-estiment souvent sa dispersion réelle (Funk *et al.*, 2005; Robertson *et al.*, 2008; Sinsch, 1992). Les estimations de distance génétique entre les populations locales n'ont pas confirmé l'isolement observé en fonction de la distance géographique, ce qui a démontré que les échanges d'adultes étaient plus fréquents que ne le suggèrent les taux de recapture et qu'ils étaient complétés par la dispersion des juvéniles (Sinsch, 1997).

Fidélité au site et philopatrie

La philopatrie et la fidélité aux sites ont longtemps été communément acceptées en biologie des amphibiens (Beebee, 1996; Blaustein *et al.*, 1994; Duellman and Trueb, 1994; Heusser, 1958; Jehle and Arntzen, 2000; Jehle *et al.*, 2000; Joly and Miaud, 1989, 1993; Malmgren, 2002; Sinsch, 1990, 2014; Sinsch and Kirst, 2016; Twitty *et al.*, 1964). C'est particulièrement le cas chez les tritons et les salamandres, généralement décrits comme philopatriques à leur plan d'eau et capables d'une orientation et d'un comportement de homing remarquables connus depuis longtemps (Cummings, 1912; Gill, 1978; Grant *et al.*, 1968; Joly and Miaud, 1993; Madison, 1969; Mori *et al.*, 2017; Twitty *et al.*, 1964). Cependant, il est également prouvé qu'ils peuvent changer de site de reproduction entre les années (Denoël *et al.*, 2018; Miaud *et al.*, 1993; Perret *et al.*, 2003; Trenham, 2001) et même au cours d'une seule saison de reproduction (Denoël *et al.*, 2007; Kopecký *et al.*, 2010; Whiteman *et al.*, 1994). Il existe une distinction entre les individus philopatriques qui se reproduisent dans le site aquatique où ils sont nés (Mayr, 1963) et ceux qui font preuve de "fidélité au site" d'un site non natal où ils se sont reproduits la première fois (Berven and Grudzien, 1990; Breden, 1987; Gill, 1978; Sinsch, 1992). Les taux de dispersion varient entre les espèces et les populations d'amphibiens (Cayuela *et al.*, 2018b, 2020; Funk *et al.*, 2005; Hamer and McDonnell, 2008; Muths *et al.*, 2018; Perret *et al.*, 2003; Reading *et al.*, 1991; Rittenhouse and Semlitsch, 2007; Sinsch *et al.*, 2012; Smith and Green, 2005). Par exemple chez le Triton crêté, il varie entre les populations de pratiquement zéro (Kupfer and Kneitz, 2000; Unglaub *et al.*, 2015) à 59 % dans d'autres populations (Denoël *et al.*, 2018). Toujours pour le Triton crêté, environ 30% d'une population d'adultes reproducteurs étudiés étaient strictement philopatriques alors que 70% ont émigré au moins une fois au cours de leur vie (Denoël *et al.*, 2018). Cela a été également montré chez le triton vert à points rouges (*Notophthalmus viridescens*) (Grayson *et al.*, 2011).

Conclure que tous les amphibiens sont de mauvais disperseurs à mobilité réduite et que leurs stratégies de déplacement sont relativement fixes dans l'espace et le temps est donc incorrect (Denoël *et al.*, 2018; Grayson *et al.*, 2011; Gruber *et al.*, 2017; Smith and Green, 2005). La philopatrie pourrait être sélectionnée quand un environnement est constant, alors que la transience serait favorisée dans des environnements changeants. Il reste beaucoup à faire pour pouvoir vérifier ces prédictions chez les amphibiens. La perception d'une dispersion

limitée des amphibiens peut également refléter l'échelle à laquelle les chercheurs sur les amphibiens opèrent (Cayuela *et al.*, 2020), plutôt que l'échelle à laquelle les amphibiens dispersent, la longueur maximale de distance observée étant souvent la plus longue qui peut être observée avec le protocole utilisé (Smith and Green, 2005).

5. Les mouvements et la fragmentation

Les éléments du paysage existent le long d'un continuum. Chaque élément entraîne un coût associé pour l'animal qui le traverse. Ce coût permet de définir la résistance de ces éléments (McRae and Beier, 2007). Certains peuvent être des barrières physiques entravant plus ou moins les mouvements des animaux à travers le paysage (Baguette *et al.*, 2013; Cote *et al.*, 2017). Dans les paysages hétérogènes, la perméabilité aux déplacements influence le coût de la transience (Palmer *et al.*, 2011). La fragmentation du paysage est un processus qui conduit à la diminution de taille d'un milieu continu et à sa division en plusieurs fragments d'habitats (Cushman, 2006; Fahrig, 2003). La fragmentation perturbe les déplacements des individus, réduit l'accès aux ressources indispensables et conduit à l'isolement des populations (Cushman, 2006). Elle entraîne une réduction de la taille des populations locales et empêche les effets Allee en augmentant à la fois la dérive génétique et les risques de consanguinité.

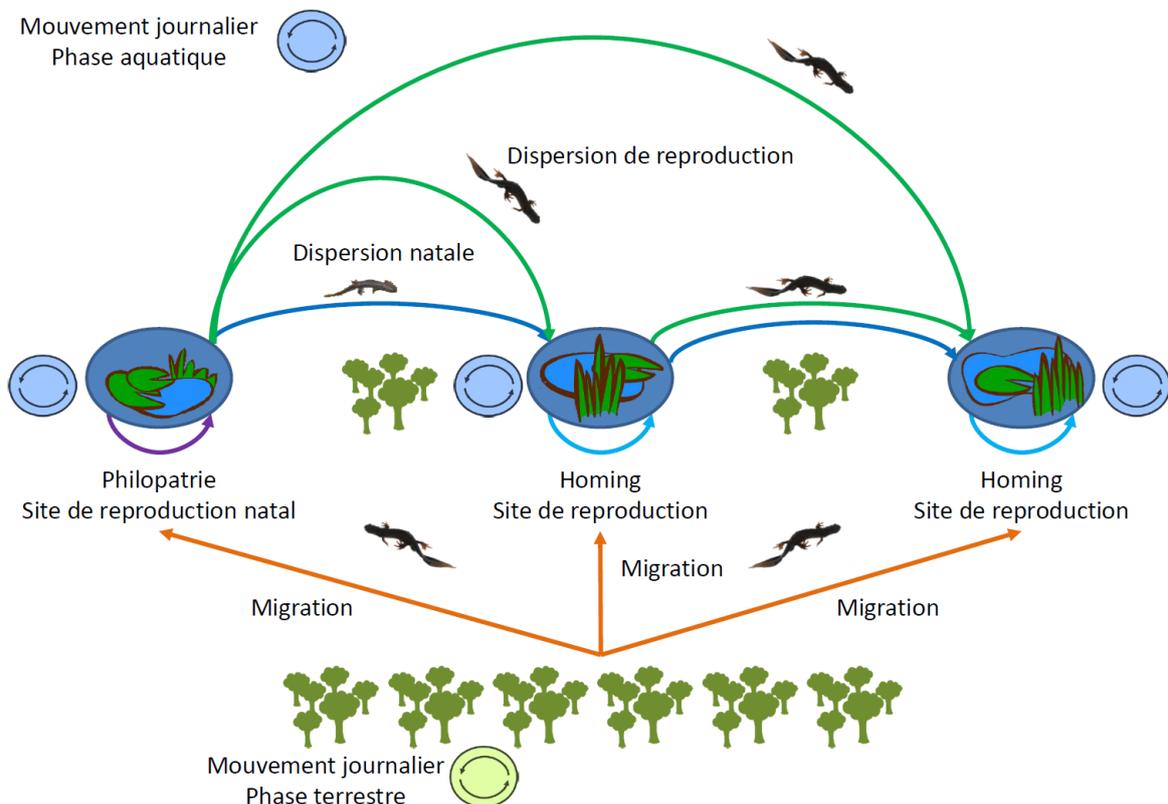
Lorsque la dynamique de fragmentation est lente, ces processus peuvent être compensés par une augmentation de la capacité de dispersion (Hanski *et al.*, 2004). Cependant, la fragmentation d'origine humaine est souvent un processus rapide, caractérisée par l'introduction d'éléments qui entravent les déplacements (p. ex., agriculture intensive ou urbanisation). Les individus les plus dispersifs peuvent être contre-sélectionnés, poussant la population vers la prédominance des individus sédentaires (Joly, 2019; Massol *et al.*, 2011). La fragmentation de l'habitat filtre les espèces en fonction de leur capacité de dispersion (Driscoll and Weir, 2005) et affecte la distance parcourue (Bonte *et al.*, 2012). La dérive génétique et la consanguinité peuvent alors induire de façon transitoire une différenciation locale qui peut favoriser l'adaptation locale. Cependant, il en résulte une diminution du potentiel évolutif qui peut affaiblir la capacité à s'adapter à des changements futurs (Joly, 2019). Les amphibiens sont reconnus comme l'un des groupes les plus menacés par la modification et la fragmentation du paysage par l'homme (Beebee and Griffiths, 2005; Houlahan *et al.*, 2000).

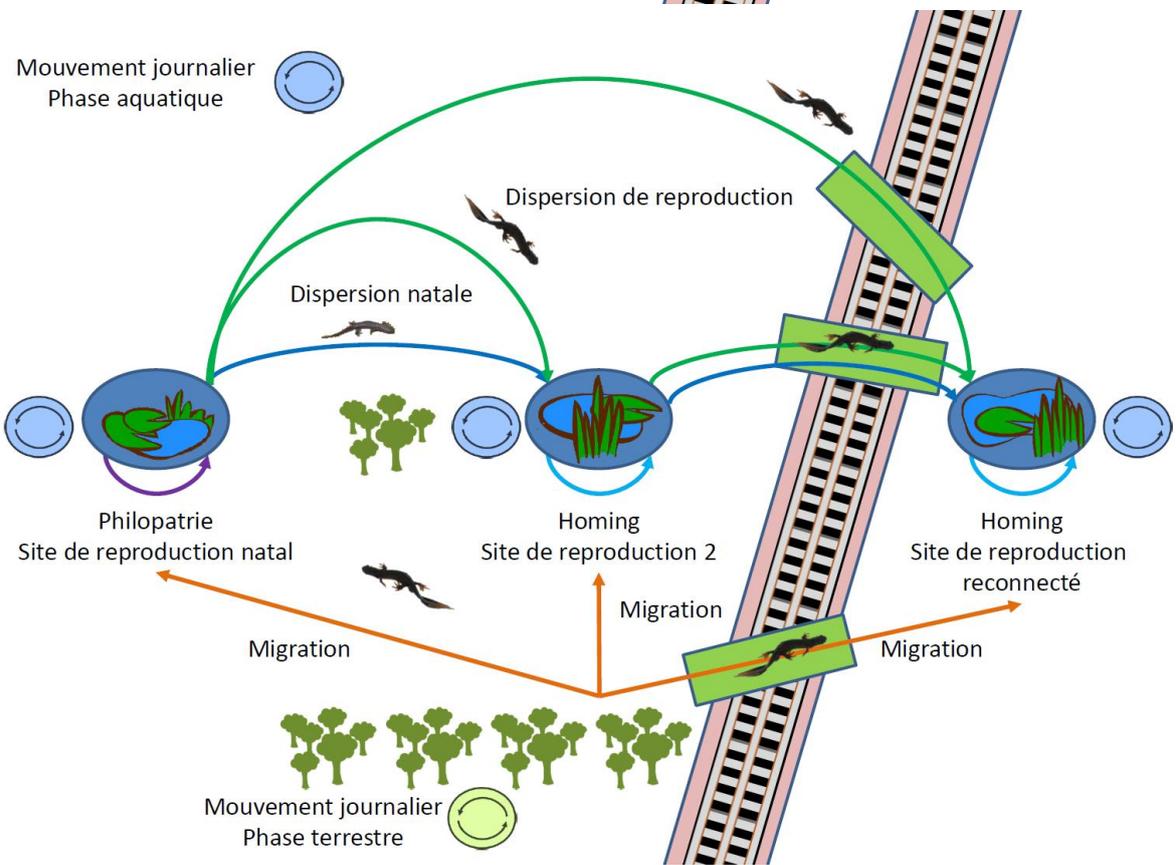
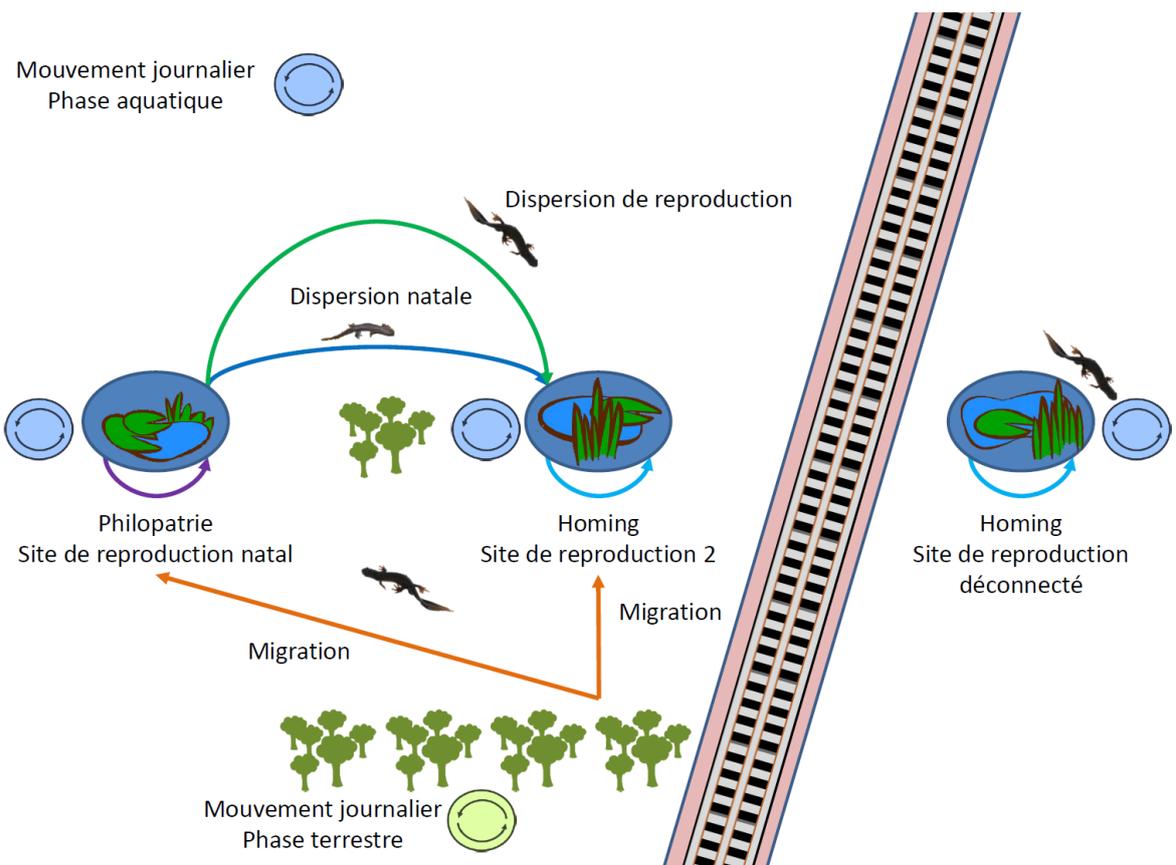
Les infrastructures linéaires de transports sont parmi les facteurs qui augmentent le plus la fragmentation. Les effets de ces ILTs peuvent perturber les différents mouvements des amphibiens (Figure 1). La prochaine partie présentera ces effets et les moyens de les atténuer.

Figure 1 : Schéma conceptuel des différents mouvements des amphibiens avant/après la construction d'une voie ferrée accompagnée de mesures de réduction (Schéma adapté de Cayuela et al., 2020)

Les Juvéniles peuvent retourner dans leur mare natale pour se reproduire (philopatrie) ou se disperser dans une autre mare (dispersion natale). Les individus peuvent également se disperser après leur première reproduction entre des mares de reproduction successives (dispersion de reproduction) ou peuvent rester fidèles à leur site de reproduction (Homing). La dispersion natale et la dispersion de reproduction entraînent toutes deux un flux de gènes si les dispersants réussissent à se reproduire après avoir immigré dans leur nouveau site de reproduction. Le mouvement de migration correspond au déplacement entre l'habitat terrestre et le site de reproduction et ne conduit pas à un flux de gènes. Les mouvements journaliers sont réalisés pour assouvir les besoins quotidiens des individus.

La construction d'une nouvelle infrastructure comme une voie ferrée conduit à la destruction d'habitats et à un effet barrière. Ces infrastructures peuvent perturber, réduire, voire stopper les différents types de mouvements. Les mesures de réduction comme la mise en place de passage à faune visent à atténuer ces effets en permettant les mouvements de part et d'autre de l'infrastructure.





Bibliographie

- Able, K.P. (1993). Orientation cues used by migratory birds: A review of cue-conflict experiments. *Trends in Ecology & Evolution* 8, 367–371.
- Allee, W.C. (1931). *Animal aggregations, a study in general sociology.* / (Chicago : The University of Chicago Press,).
- Altwegg, R., and Reyer, H.-U. (2003). Patterns of Natural Selection on Size at Metamorphosis in Water Frogs. *Evolution* 57, 872–882.
- Andrewartha, H.G., and Birch, L.C. (1954). *The distribution and abundance of animals.* (University of Chicago press).
- Aragón, P., López, P., and Martín, J. (2000). Conspecific Chemical Cues Influence Pond Selection by Male Newts *Triturus boscai*. *Copeia* 2000, 874–878.
- Baguette, M. (2003). Long distance dispersal and landscape occupancy in a metapopulation of the cranberry fritillary butterfly. *Ecography* 26, 153–160.
- Baguette, M., and Dyck, H.V. (2007). Landscape connectivity and animal behavior: functional grain as a key determinant for dispersal. *Landscape Ecol* 22, 1117–1129.
- Baguette, M., and Van Dyck, H. (2007). Landscape connectivity and animal behavior: functional grain as a key determinant for dispersal. *Landscape Ecol* 22, 1117–1129.
- Baguette, M., Blanchet, S., Legrand, D., Stevens, V.M., and Turlure, C. (2013). Individual dispersal, landscape connectivity and ecological networks. *Biological Reviews* 88, 310–326.
- Baker, J.M., and Halliday, T.R. (1999). Amphibian colonization of new ponds in an agricultural landscape. *Herpetological Journal* 9, 55–64.
- Beebee, T. (1996). *Ecology and conservation of amphibians* (Springer Science & Business Media).
- Beebee, T.J.C., and Griffiths, R.A. (2005). The amphibian decline crisis: A watershed for conservation biology? *Biological Conservation* 125, 271–285.
- Berven, K.A., and Grudzien, T.A. (1990). Dispersal in the Wood Frog (*Rana sylvatica*): Implications for Genetic Population Structure. *Evolution* 44, 2047–2056.
- Beshkov, V., and Angelova, B. (1981). An Unusual Reproductive Migration of the Common Frog *Rana temporaria* L. *Ekologiya (Sofia)* 8, 34–42.
- Bestion, E., Teyssier, A., Aubret, F., Clobert, J., and Cote, J. (2014). Maternal exposure to predator scents: offspring phenotypic adjustment and dispersal. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281, 20140701.
- Blaustein, A.R., Wake, D.B., and Sousa, W.P. (1994). Amphibian Declines: Judging Stability, Persistence, and Susceptibility of Populations to Local and Global Extinctions. *Conservation Biology* 8, 60–71.
- Boissy, A. (1995). Fear and Fearfulness in Animals. *The Quarterly Review of Biology* 70, 165–191.

- Bonte, D., Lukáč, M., and Lens, L. (2008). Starvation affects pre-dispersal behaviour of *Erigone* spiders. *Basic and Applied Ecology* 9, 308–315.
- 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.
- Boulinier, T., and Danchin, E. (1997). The use of conspecific reproductive success for breeding patch selection in terrestrial migratory species. *Evol Ecol* 11, 505.
- Boulinier, T., Mariette, M., and Danchin, E. (2005). Chapitre 7: La Sélection d'un lieu de reproduction (Danchin E., Giraldeau L.-A. & Cézilly F. eds).
- Bowler, D.E., and Benton, T.G. (2005). Causes and consequences of animal dispersal strategies: relating individual behaviour to spatial dynamics. *Biological Reviews* 80, 205–225.
- Breden, F. (1987). The Effect of Post-Metamorphic Dispersal on the Population Genetic Structure of Fowler's Toad, *Bufo woodhousei fowleri*. *Copeia* 1987, 386–395.
- Brodin, T., Lind, M.I., Wiberg, M.K., and Johansson, F. (2013). Personality trait differences between mainland and island populations in the common frog (*Rana temporaria*). *Behav Ecol Sociobiol* 67, 135–143.
- Brown, J.H., and Kodric-Brown, A. (1977). Turnover Rates in Insular Biogeography: Effect of Immigration on Extinction. *Ecology* 58, 445–449.
- Buxton, V.L., Ward, M.P., and Sperry, J.H. (2015). Use of chorus sounds for location of breeding habitat in 2 species of anuran amphibians. *Behav Ecol* 26, 1111–1118.
- Carlson, S.M., Cunningham, C.J., and Westley, P.A.H. (2014). Evolutionary rescue in a changing world. *Trends in Ecology & Evolution* 29, 521–530.
- Cayuela, H., Grolet, O., and Joly, P. (2018a). Context-dependent dispersal, public information, and heterospecific attraction in newts. *Oecologia* 188, 1069–1080.
- Cayuela, H., Pradel, R., Joly, P., Bonnaire, E., and Besnard, A. (2018b). Estimating dispersal in spatiotemporally variable environments using multievent capture–recapture modeling. *Ecology* 99, 1150–1163.
- Cayuela, H., Valenzuela-Sánchez, A., Teulier, L., Martínez-Solano, Í., Léna, J.-P., Merilä, J., Muths, E., Shine, R., Quay, L., Denoël, M., *et al.* (2020). Determinants and Consequences of Dispersal in Vertebrates with Complex Life Cycles: A Review of Pond-Breeding Amphibians. *The Quarterly Review of Biology* 95, 1–36.
- Clobert, J., Danchin, E., Dhondt, A.A., and Nichols, J. (2001). Dispersal.
- Clobert, J., Galliard, J.-F.L., Cote, J., Meylan, S., and Massot, M. (2009). Informed dispersal, heterogeneity in animal dispersal syndromes and the dynamics of spatially structured populations. *Ecology Letters* 12, 197–209.
- Cote, J., Bocedi, G., Debeffe, L., Chudzińska, M.E., Weigang, H.C., Dytham, C., Gonzalez, G., Matthysen, E., Travis, J., Baguette, M., *et al.* (2017). Behavioural synchronization of large-scale animal movements – disperse alone, but migrate together? *Biological Reviews* 92, 1275–1296.
- Cummings, B.F. (1912). Distant Orientation in Amphibia. *Proceedings of the Zoological Society of London* 82, 8–19.

- Cushman, S.A. (2006). Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: A review and prospectus. *Biological Conservation* 128, 231–240.
- Danchin, É., Giraldeau, L.-A., Valone, T.J., and Wagner, R.H. (2004). Public Information: From Nosy Neighbors to Cultural Evolution. *Science* 305, 487–491.
- Danchin, É., Giraldeau, L.-A., and Cézilly, F. (2005). *Écologie comportementale: cours et questions de réflexion* (Dunod).
- Davis, J.M., and Stamps, J.A. (2004). The effect of natal experience on habitat preferences. *Trends in Ecology & Evolution* 19, 411–416.
- 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 Ecol* 27, 267–279.
- Denoel, M., Whiteman, H.H., and Wissinger, S.A. (2007). Foraging tactics in alternative heterochronic salamander morphs: trophic quality of ponds matters more than water permanency. *Freshwater Biology* 52, 1667–1676.
- Denoël, M., Dalleur, S., Langrand, E., Besnard, A., and Cayuela, H. (2018). Dispersal and alternative breeding site fidelity strategies in an amphibian. *Ecography* 41, 1543–1555.
- Diego-Rasilla, F.J., and Luengo, R.M. (2004). Heterospecific call recognition and phonotaxis in the orientation behavior of the marbled newt, *Triturus marmoratus*. *Behav Ecol Sociobiol* 55, 556–560.
- Diego-Rasilla, F.J., and Luengo, R.M. (2007). Acoustic orientation in the palmate newt, *Lissotriton helveticus*. *Behav Ecol Sociobiol* 61, 1329–1335.
- Diego-Rasilla, F.J., Luengo, R.M., and Phillips, J.B. (2008). Use of a magnetic compass for nocturnal homing orientation in the palmate newt, *Lissotriton helveticus*. *Ethology* 114, 808–815.
- Dingle, H. (1996). *The biology of life on the move* (New York, NY: Oxford University Press).
- Dingle, H., and Drake, V.A. (2007). What Is Migration? *BioScience* 57, 113–121.
- Doebeli, M., and Dieckmann, U. (2003). Speciation along environmental gradients. *Nature* 421, 259–264.
- Doligez, B., Danchin, E., and Clobert, J. (2002). Public Information and Breeding Habitat Selection in a Wild Bird Population. *Science* 297, 1168–1170.
- Driscoll, D.A., and Weir, T. (2005). Beetle Responses to Habitat Fragmentation Depend on Ecological Traits, Habitat Condition, and Remnant Size. *Conservation Biology* 19, 182–194.
- Duellman, W.E., and Trueb, L. (1994). *Biology of amphibians* (JHU press).
- Dunning, J.B., Danielson, B.J., and Pulliam, H.R. (1992). Ecological Processes That Affect Populations in Complex Landscapes. *Oikos* 65, 169–175.
- Espregueira Themudo, G., Nieman, A.M., and Arntzen, J.W. (2012). Is dispersal guided by the environment? A comparison of interspecific gene flow estimates among differentiated regions of a newt hybrid zone. *Molecular Ecology* 21, 5324–5335.

- Fahrig, L. (2003). Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34, 487–515.
- Ferguson, D.E. (1971). The Sensory Basis of Orientation in Amphibians. *Annals of the New York Academy of Sciences* 188, 30–36.
- Fraenkel, G.S., and Gunn, D.L. (1961). *The orientation of animals: Kineses, taxes and compass reactions* (Oxford, England: Dover).
- Funk, W.C., Greene, A.E., Corn, P.S., and Allendorf, F.W. (2005). High dispersal in a frog species suggests that it is vulnerable to habitat fragmentation. *Biology Letters* 1, 13–16.
- Gamble, L.R., McGarigal, K., and Compton, B.W. (2007). Fidelity and dispersal in the pond-breeding amphibian, *Ambystoma opacum*: Implications for spatio-temporal population dynamics and conservation. *Biological Conservation* 139, 247–257.
- Gerhardt, H.C., and Huber, F. (2002). *Acoustic communication in insects and anurans: common problems and diverse solutions* (University of Chicago Press).
- Gill, D.E. (1978). The Metapopulation Ecology of the Red-Spotted Newt, *Notophthalmus viridescens* (Rafinesque). *Ecological Monographs* 48, 145–166.
- Gilpin, M. (2012). *Metapopulation Dynamics: Empirical and Theoretical Investigations* (Academic Press).
- Grant, D., Anderson, O., and Twitty, V. (1968). Homing Orientation by Olfaction in Newts (*Taricha rivularis*). *Science* 160, 1354–1356.
- Grayson, K.L., Bailey, L.L., and Wilbur, H.M. (2011). Life history benefits of residency in a partially migrating pond-breeding amphibian. *Ecology* 92, 1236–1246.
- Greenwald, K.R. (2010). Genetic data in population viability analysis: case studies with ambystomatid salamanders. *Animal Conservation* 13, 115–122.
- Greenwood, P.J. (1980). Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Animal Behaviour* 28, 1140–1162.
- Greenwood, P.J., and Harvey, P.H. (1982). The Natal and Breeding Dispersal of Birds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13, 1–21.
- Gruber, J., Brown, G., Whiting, M.J., and Shine, R. (2017). Geographic divergence in dispersal-related behaviour in cane toads from range-front versus range-core populations in Australia. *Behav Ecol Sociobiol* 71, 38.
- Gustafson, E.J., and Gardner, R.H. (1996). The Effect of Landscape Heterogeneity on the Probability of Patch Colonization. *Ecology* 77, 94–107.
- Hamer, A.J., and McDonnell, M.J. (2008). Amphibian ecology and conservation in the urbanising world: A review. *Biological Conservation* 141, 2432–2449.
- Hamilton, W.D., and May, R.M. (1977). Dispersal in stable habitats. *Nature* 269, 578–581.
- Hanski, I. (1999). *Metapopulation ecology* (Oxford University Press).
- Hanski, I., and Gilpin, M. (1991). Metapopulation dynamics: brief history and conceptual domain. *Biol J Linn Soc* 42, 3–16.
- Hanski, I., Alho, J., and Moilanen, A. (2000). Estimating the Parameters of Survival and Migration of Individuals in Metapopulations. *Ecology* 81, 239–251.

- Hanski, I., Erälahti, C., Kankare, M., Ovaskainen, O., and Sirén, H. (2004). Variation in migration propensity among individuals maintained by landscape structure. *Ecology Letters* 7, 958–966.
- Harrison, S., and Taylor, A.D. (1997). Empirical Evidence for Metapopulation Dynamics. In *Metapopulation Biology*, I. Hanski, and M.E. Gilpin, eds. (San Diego: Academic Press), pp. 27–42.
- Hendrix, R., Schmidt, B.R., Schaub, M., Krause, E.T., and Steinfartz, S. (2017). Differentiation of movement behaviour in an adaptively diverging salamander population. *Molecular Ecology* 26, 6400–6413.
- Heusser, H. (1958). Ueber die Beziehungen der Erdkröte (*Bufo bufo* L.) zu ihrem Laichplatz I. *Behaviour* 12, 208–232.
- Holderegger, R., and Wagner, H.H. (2008). Landscape Genetics. *BioScience* 58, 199–207.
- Houlahan, J.E., Findlay, C.S., Schmidt, B.R., Meyer, A.H., and Kuzmin, S.L. (2000). Quantitative evidence for global amphibian population declines. *Nature* 404, 752–755.
- Ims, R.A., and Yoccoz, N.G. (1997). 11 - Studying Transfer Processes in Metapopulations: Emigration, Migration, and Colonization. In *Metapopulation Biology*, I. Hanski, and M.E. Gilpin, eds. (San Diego: Academic Press), pp. 247–265.
- Jehle, R., and Arntzen, J.W. (2000). Post-breeding migrations of newts (*Triturus cristatus* and *T. marmoratus*) with contrasting ecological requirements. *Journal of Zoology* 251, 297–306.
- Jehle, R., Bouma, P., Sztatecsny, M., and Arntzen, J.W. (2000). High aquatic niche overlap in the newts *Triturus cristatus* and *T. marmoratus* (Amphibia, Urodela). *Hydrobiologia* 437, 149–155.
- Joly, P. (2019). Behavior in a changing landscape: Using movement ecology to inform the conservation of pond-breeding amphibians. *Front. Ecol. Evol.* 7.
- Joly, P., and Grolet, O. (1996). Colonization dynamics of new ponds, and the age structure of colonizing Alpine newts, *Triturus alpestris*. *Acta Oecologica* 17, 599–608.
- Joly, P., and Miaud, C. (1989). Fidelity to the breeding site in the alpine newt *Triturus alpestris*. *Behav. Processes* 19, 47–56.
- Joly, P., and Miaud, C. (1993). How does a newt find its pond? The role of chemical cues in migrating newts (*Triturus alpestris*). *Ethology Ecology and Evolution* 5, 447–447.
- Joly, P., Miaud, C., Lehmann, A., and Grolet, O. (2001). Habitat matrix effects on pond occupancy in newts. *Conserv. Biol.* 15, 239–248.
- Kennedy, J.S. (1985). Migration, behavioural and ecological. *Migration: Mechanisms and Adaptive Significance*. *Contributions in Marine Science* 27 (Suppl.) Austin, Marine Science Institute, University of Texas 5–26.
- Klopfer, P.H., and Ganzhorn, J.U. (1985). Habitat selection: behavioral aspects. *Habitat Selection in Birds* 435–453.
- Kopecký, O., Denoël, M., and Vojar, J. (2010). Movements of Alpine newts (*Mesotriton alpestris*) between small aquatic habitats (ruts) during the breeding season. *Amphibia-Reptilia* 31, 109–116.

- Kovar, R., Brabec, M., Bocek, R., and Vita, R. (2009). Spring migration distances of some Central European amphibian species. *Amphibia-Reptilia* 30, 367–378.
- Kupfer, A., and Kneitz, S. (2000). Population ecology of the great crested newt (*Triturus cristatus*) in an agricultural landscape: dynamics, pond fidelity and dispersal. *Herpetological Journal* 10, 165–171.
- Lampert, K.P., Rand, A.S., Mueller, U.G., and Ryan, M.J. (2003). Fine-scale genetic pattern and evidence for sex-biased dispersal in the túngara frog, *Physalaemus pustulosus*. *Molecular Ecology* 12, 3325–3334.
- Le Galliard, J.-F., Ferrière, R., and Clobert, J. (2005). Effect of patch occupancy on immigration in the common lizard. *Journal of Animal Ecology* 74, 241–249.
- Legrand, D., Cote, J., Fronhofer, E.A., Holt, R.D., Ronce, O., Schtickzelle, N., Travis, J.M.J., and Clobert, J. (2017). Eco-evolutionary dynamics in fragmented landscapes. *Ecography* 40, 9–25.
- Levins, R. (1969). Some Demographic and Genetic Consequences of Environmental Heterogeneity for Biological Control. *Bull Entomol Soc Am* 15, 237–240.
- Liebgold, E.B., Brodie, E.D., and Cabe, P.R. (2011). Female philopatry and male-biased dispersal in a direct-developing salamander, *Plethodon cinereus*. *Molecular Ecology* 20, 249–257.
- Lowe, W.H., and Allendorf, F.W. (2010). What can genetics tell us about population connectivity? *Molecular Ecology* 19, 3038–3051.
- Madden, N., and Jehle, R. (2017). Acoustic orientation in the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Amphib. Reptil.* 38, 57–65.
- Madison, D.M. (1969). Homing behaviour of the red-cheeked salamander, *Plethodon jordani*. *Animal Behaviour* 17, 25–39.
- Maes, J., Van Damme, R., and Matthysen, E. (2013). Individual and among-population variation in dispersal-related traits in Natterjack toads. *Behav Ecol* 24, 521–531.
- Malmgren, J.C. (2002). How does a newt find its way from a pond? : Migration patterns after breeding and metamorphosis in great crested newts (*Triturus cristatus*) and smooth newts (T-vulgaris). *Herpetological Journal* 12, 29–35.
- Manel, S., and Holderegger, R. (2013). Ten years of landscape genetics. *Trends in Ecology & Evolution* 28, 614–621.
- Marsh, D.M., and Trenham, P.C. (2001). Metapopulation Dynamics and Amphibian Conservation. *Conservation Biology* 15, 40–49.
- Marsh, D.M., and Trenham, P.C. (2008). Current Trends in Plant and Animal Population Monitoring. *Conservation Biology* 22, 647–655.
- Martin, E., and Caillère, L. (1982). Local enhancement in the alpine newt, *Triturus-alpestris* (Amphibia, Urodela), in aquatic phase. *COMPTE RENDUS DE L ACADEMIE DES SCIENCES SERIE III-SCIENCES DE LA VIE-LIFE SCIENCES* 294, 1105–1108.
- Massol, F., Duputié, A., David, P., and Jarne, P. (2011). Asymmetric Patch Size Distribution Leads to Disruptive Selection on Dispersal. *Evolution* 65, 490–500.

- Matthysen, E. (2012). Multicausality of dispersal: a review. *Dispersal Ecology and Evolution* 27, 3–18.
- Mayr, E. (1963). *Animal species and evolution*. Animal Species and Evolution.
- McRae, B.H., and Beier, P. (2007). Circuit theory predicts gene flow in plant and animal populations. *PNAS* 104, 19885–19890.
- Merle, A. (2015). *Modification du comportement exploratoire et des capacités de navigation du crapaud commun en paysage fragmenté*. phdthesis. Université Claude Bernard - Lyon I.
- Miaud, C., Joly, P., and Castanet, J. (1993). Variation in age structures in a subdivided population of *Triturus cristatus*. *Can. J. Zool.* 71, 1874–1879.
- Miaud, C., Sanuy, D., and Avrillier, J.N. (2000). Terrestrial movements of the natterjack toad *Bufo calamita* (Amphibia, Anura) in a semi-arid, agricultural landscape. *Amphibia-Reptilia* 21, 357–369.
- Miró, A., O'Brien, D., Hall, J., and Jehle, R. (2016). Habitat requirements and conservation needs of peripheral populations: the case of the great crested newt (*Triturus cristatus*) in the Scottish Highlands. *Hydrobiologia* 792, 169–181.
- Mönkkönen, M., Härdling, R., Forsman, J.T., and Tuomi, J. (1999). Evolution of heterospecific attraction: using other species as cues in habitat selection. *Evolutionary Ecology* 13, 93–106.
- Moore, J.A., Tallmon, D.A., Nielsen, J., and Pyare, S. (2011). Effects of the landscape on boreal toad gene flow: does the pattern–process relationship hold true across distinct landscapes at the northern range margin? *Molecular Ecology* 20, 4858–4869.
- Mori, E., Menchetti, M., Cantini, M., Bruni, G., Santini, G., and Bertolino, S. (2017). Twenty years' monitoring of a population of Italian crested newts *Triturus carnifex*: strong site fidelity and shifting population structure in response to restoration. *Ethology Ecology & Evolution* 29, 460–473.
- Mueller, T., Fagan, W.F., and Grimm, V. (2011). Integrating individual search and navigation behaviors in mechanistic movement models. *Theor Ecol* 4, 341–355.
- Muths, E., Bailey, L.L., Lambert, B.A., and Schneider, S.C. (2018). Estimating the probability of movement and partitioning seasonal survival in an amphibian metapopulation. *Ecosphere* 9, e02480.
- Nathan, R., Safriel, U.N., and Noy-Meir, I. (2001). Field Validation and Sensitivity Analysis of a Mechanistic Model for Tree Seed Dispersal by Wind. *Ecology* 82, 374–388.
- 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. *PNAS* 105, 19052–19059.
- Ogurtsov, S.V., and Bastakov, V.A. (2001). Imprinting on Native Pond Odour in the Pool Frog, *Rana lessonae* Cam. In *Chemical Signals in Vertebrates* 9, A. Marchlewska-Koj, J.J. Lepri, and D. Müller-Schwarze, eds. (Boston, MA: Springer US), pp. 433–438.

- Palmer, S.C.F., Coulon, A., and Travis, J.M.J. (2011). Introducing a 'stochastic movement simulator' for estimating habitat connectivity. *Methods in Ecology and Evolution* 2, 258–268.
- Perret, N., Pradel, R., Miaud, C., Grolet, O., and Joly, P. (2003). Transience, dispersal and survival rates in newt patchy populations. *Journal of Animal Ecology* 72, 567–575.
- Petranka, J.W., and Holbrook, C.T. (2006). Wetland Restoration for Amphibians: Should Local Sites Be Designed to Support Metapopulations or Patchy Populations? *Restoration Ecology* 14, 404–411.
- Pittman, S.E., and Semlitsch, R.D. (2013). Habitat type and distance to edge affect movement behavior of juvenile pond-breeding salamanders. *Journal of Zoology* 291, 154–162.
- 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.
- Pizzatto, L., Stockwell, M., Clulow, S., Clulow, J., and Mahony, M. (2016). Finding a place to live: conspecific attraction affects habitat selection in juvenile green and golden bell frogs. *Acta Ethol* 19, 1–8.
- Pontoppidan, M.-B., and Nachman, G. (2013). Effects of within-patch heterogeneity on connectivity in pond-breeding amphibians studied by means of an individual-based model. *Web Ecology* 13, 21–29.
- Prunier, J. (2012). Echantillonnage individu-centré en génétique du paysage : étude de l'impact de la fragmentation d'origine anthropique sur la dispersion du Triton alpestre *Ichthyosaura alpestris*. These de doctorat. Lyon 1.
- Pupin, F., Sacchi, R., Gentilli, A., Galeotti, P., and Fasola, M. (2007). Discrimination of toad calls by smooth newts: support for the heterospecific attraction hypothesis. *Animal Behaviour* 74, 1683–1690.
- Reading, C.J., Loman, J., and Madsen, T. (1991). Breeding pond fidelity in the common toad, *Bufo bufo*. *Journal of Zoology* 225, 201–211.
- Rittenhouse, T.A.G., and Semlitsch, R.D. (2007). Distribution of amphibians in terrestrial habitat surrounding wetlands. *Wetlands* 27, 153–161.
- Robertson, J.M., Lips, K.R., and Heist, E.J. (2008). Fine scale gene flow and individual movements among subpopulations of *Centrolene prosoblepon* (Anura: Centrolenidae). *Revista de Biología Tropical* 56, 13–26.
- 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.
- Ronce, O., and Clobert, J. (2012). Dispersal syndromes. *Dispersal Ecology and Evolution* 155, 119–138.
- Rothermel, B.B. (2004). Migratory Success of Juveniles: A Potential Constraint on Connectivity for Pond-Breeding Amphibians. *Ecological Applications* 14, 1535–1546.
- 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. *Conserv Genet* 12, 161–173.

- Schmidt, B.R., Hödl, W., and Schaub, M. (2012). From metamorphosis to maturity in complex life cycles: equal performance of different juvenile life history pathways. *Ecology* 93, 657–667.
- Schmidt, K.A., Dall, S.R.X., and Gils, J.A.V. (2010). The ecology of information: an overview on the ecological significance of making informed decisions. *Oikos* 119, 304–316.
- Semlitsch, R.D. (2008). Differentiating Migration and Dispersal Processes for Pond-Breeding Amphibians. *Journal of Wildlife Management* 72, 260–267.
- Seppänen, J.-T., Forsman, J.T., Mönkkönen, M., and Thomson, R.L. (2007). Social Information Use Is a Process Across Time, Space, and Ecology, Reaching Heterospecifics. *Ecology* 88, 1622–1633.
- Sinsch, U. (1990). Migration and orientation in anuran amphibians. *Ethology Ecology & Evolution* 2, 65–79.
- Sinsch, U. (1992). Structure and dynamic of a natterjack toad metapopulation (*Bufo calamita*). *Oecologia* 90, 489–499.
- Sinsch, U. (1997). Postmetamorphic dispersal and recruitment of first breeders in a *Bufo calamita* metapopulation. *Oecologia* 112, 42–47.
- Sinsch, U. (2006). Orientation and navigation in Amphibia. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 39, 65–71.
- Sinsch, U. (2014). Movement ecology of amphibians: from individual migratory behaviour to spatially structured populations in heterogeneous landscapes,. *Can. J. Zool.* 92, 491–502.
- Sinsch, U., and Kirst, C. (2016). Homeward orientation of displaced newts (*Triturus cristatus*, *Lissotriton vulgaris*) is restricted to the range of routine movements. *Ethology Ecology & Evolution* 28, 312–328.
- Sinsch, U., Oromi, N., Miaud, C., Denton, J., and Sanuy, D. (2012). Connectivity of local amphibian populations: modelling the migratory capacity of radio-tracked natterjack toads. *Animal Conservation* 15, 388–396.
- Sjogren Gulve, P., and Ray, C. (1996). Large scale forestry extirpates the pool frog: using logistic regression to model metapopulation dynamics Pages 111-137 in DR McCullough, editor. *Metapopulations and wildlife conservation and management* (Island Press, Washington, DC, USA).
- Sjögren-Gulve, P. (1998). Spatial movement patterns in frogs: Target-oriented dispersal in the pool frog, *Rana lessonae*. *Écoscience* 5, 31–38.
- Smith, M.A., and Green, D.M. (2005). Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: are all amphibian populations metapopulations? *Ecography* 28, 110–128.
- Sorci, G., Massot, M., and Clobert, J. (1994). Maternal Parasite Load Increases Sprint Speed and Philopatry in Female Offspring of the Common Lizard. *The American Naturalist* 144, 153–164.
- Stamps, J. (2001). 16. Habitat selection by dispersers: integrating proximate and ultimate approaches.

- Stamps, J.A., Krishnan, V.V., and Reid, M.L. (2005). Search Costs and Habitat Selection by Dispersers. *Ecology* 86, 510–518.
- Stevens, V.M., Polus, E., Wesselingh, R.A., Schtickzelle, N., and Baguette, M. (2004). Quantifying functional connectivity: experimental evidence for patch-specific resistance in the Natterjack toad (*Bufo calamita*). *Landscape Ecology* 19, 829–842.
- Stevens, V.M., Leboulengé, É., Wesselingh, R.A., and Baguette, M. (2006). Quantifying functional connectivity: experimental assessment of boundary permeability for the natterjack toad (*Bufo calamita*). *Oecologia* 150, 161–171.
- Swanson, E.M., Tekmen, S.M., and Bee, M.A. (2007). Do female frogs exploit inadvertent social information to locate breeding aggregations? *Can. J. Zool.* 85, 921–932.
- Taylor, L.R. (1986). Synoptic Dynamics, Migration and the Rothamsted Insect Survey: Presidential Address to the British Ecological Society, December 1984. *Journal of Animal Ecology* 55, 1–38.
- Taylor, P.D., Fahrig, L., Henein, K., and Merriam, G. (1993). Connectivity Is a Vital Element of Landscape Structure. *Oikos* 68, 571–573.
- Taylor, P.D., Fahrig, L., and With, K.A. (2006). Landscape connectivity: a return to the basics. In *Connectivity Conservation*, p.
- Tournier, E., Besnard, A., Tournier, V., and Cayuela, H. (2017). Manipulating waterbody hydroperiod affects movement behaviour and occupancy dynamics in an amphibian. *Freshwater Biology* 62, 1768–1782.
- Trenham, P.C. (2001). Terrestrial Habitat Use by Adult California Tiger Salamanders. *Journal of Herpetology* 35, 343–346.
- Trochet, A., Courtois, E.A., Stevens, V.M., Baguette, M., Chaine, A., Schmeller, D.S., Clobert, J., and Wiens, J.J. (2016). Evolution of Sex-Biased Dispersal. *The Quarterly Review of Biology* 91, 297–320.
- Twitty, V., Grant, D., and Anderson, O. (1964). Long distance homing in the newt *Taricha rivularis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 51, 51.
- Unglaub, B., Steinfartz, S., Drechsler, A., and Schmidt, B.R. (2015). Linking habitat suitability to demography in a pond-breeding amphibian. *Frontiers in Zoology* 12, 9.
- Valone, T.J., and Templeton, J.J. (2002). Public information for the assessment of quality: a widespread social phenomenon. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 357, 1549–1557.
- Waples, R.S., and Gaggiotti, O. (2006). INVITED REVIEW: What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. *Molecular Ecology* 15, 1419–1439.
- Weinbach, A., Cayuela, H., Grolet, O., Besnard, A., and Joly, P. (2018). Resilience to climate variation in a spatially structured amphibian population. *Sci Rep* 8, 1–9.
- Whiteman, H.H., Wissinger, S.A., and Bohonak, A.J. (1994). Seasonal movement patterns in a subalpine population of the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum nebulosum*. *Can. J. Zool.* 72, 1780–1787.

III. Des effets des infrastructures de transport linéaire sur les amphibiens aux mesures d'atténuation

Cette partie a fait l'objet d'une publication en 2018 sous la forme d'un chapitre dans le livre *Reptiles and amphibians* édité par David Aguillón-Gutiérrez.



Vue de la LGV Bretagne – Pays de la Loire à Beaulieu-sur-oudon (Mayenne)

©Philippe Evrard

Cette troisième partie de l'introduction présente l'état de l'art sur l'effet des infrastructures de transport et présente les différentes méthodes mises en place pour atténuer ces effets. Enfin elle présente également les méthodes pour évaluer les mesures d'atténuations.

1. Résumé de publication

La construction d'infrastructures de transport linéaire (ILT en français ; Linear transport infrastructure : LTI en anglais) telles que les routes et les voies ferrées ou encore les canaux est l'une des principales modifications anthropiques des écosystèmes de la planète. Connue dès la fin du XIXe siècle, les données sur les effets des ILTs se sont accumulées au XXe et XXIe siècles, avec une forte augmentation au cours des 20 dernières années, ayant conduit à l'émergence de « l'Écologie des routes » (Road Ecology) et plus récemment de l'écologie ferroviaire (Railway Ecology).

Les infrastructures de transport linéaire affectent la biodiversité par la perte et la fragmentation de l'habitat, la dégradation ou la suppression de la connectivité, et de la mortalité directe ou indirecte, mais aussi perturber la physiologie et le comportement des individus. Historiquement les amphibiens ont été parmi les premiers animaux signalés comme étant fortement touchés par les routes. Il est reconnu qu'ils sont particulièrement touchés en termes de perte d'habitat aquatique (de reproduction) et d'habitats terrestres. Leurs migrations obligatoires vers les sites de reproduction les exposent à l'effet barrière des infrastructures (fragmentation du paysage) et à de la mortalité. Ces effets perturbent la dynamique des populations et impactent la dispersion entre sites de reproduction. La perte de connexion entre ces sites, conduit à une augmentation de la consanguinité, une perte d'hétérozygotie, une diminution du nombre d'adultes, une perte de la richesse allélique et une plus grande différenciation entre les « sous-populations ». Elle peut aussi perturber les mouvements de migrations entre site d'hivernage, d'estivage et de reproduction. Les effets varient en fonction de l'intensité du trafic et l'éloignement par rapport à l'infrastructure. Les effets cumulés des ILTs délimitent une "zone d'impact" de différente largeur. Les infrastructures sont une source majeure de mortalité chez les vertébrés perturbant la démographie et pouvant conduire à une diminution de l'abondance, l'occurrence et la richesse spécifique des communautés d'amphibiens.

Une meilleure connaissance des effets des ILTs sur la biodiversité, la protection de la biodiversité et la législation ont conduit à la mise en œuvre de mesures d'atténuation par les aménageurs en lien avec la séquence réglementaire « Éviter-Réduire-Compenser ». Ces mesures visent de permettre une viabilité à long terme de la population à proximité des ILTs. L'effet de la destruction de l'habitat est le plus souvent compensé par des mesures de restauration ou de création de nouveaux habitats. Pour réduire l'effet barrière des ILTs, des

passages sécurisés pour la faune nommés « Passage à faune » avec ou sans clotures ont été construits au dessus ou au dessous des infrastructures. Plusieurs mesures de compensation (par exemple, la création de nouvelles mares) et de réduction (construction d'un passage pour la petite faune) ont été proposés spécifiquement pour les amphibiens.

Les mesures d'atténuation visant à réduire les effets négatifs des infrastructures et du trafic sur les amphibiens ont des degrés variables d'efficacité. Néanmoins l'évaluation de ces mesures est souvent insuffisante ou manquante. Il est essentiel de procéder à l'évaluation de ces mesures d'atténuation et de distinguer clairement ce qui correspond à du dénombrement (simple) des individus utilisant un passage pour la faune et l'évaluation globale (complexe) des mesures d'atténuation. Une combinaison de méthodes est souvent nécessaire pour atteindre cet objectif. Des échecs d'atténuations peuvent être dus à la mauvaise localisation ou conception ou encore à une mauvaise connaissance du comportement des espèces cibles. Il existe par exemple peu d'informations sur le comportement des amphibiens à proximité et à l'intérieur des passages à faune inférieur (Sous l'infrastructure).

Ce chapitre publié vise dans un premier temps à décrire les effets des infrastructures linéaires de transport sur les populations d'amphibiens. Puis il présente les mesures mises en œuvre pour atténuer les effets négatifs et les moyens pour évaluer leur efficacité en termes de fréquentation par exemple pour les passages à faune ou pour la viabilité des populations au long terme.

2. From Effects of Linear Transport Infrastructures on Amphibians to Mitigation Measures

Guillaume Testud and Claude Miaud

<http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.74857>

From Effects of Linear Transport Infrastructures on Amphibians to Mitigation Measures

Guillaume Testud and Claude Miaud

Additional information is available at the end of the chapter

<http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.74857>

Abstract

Linear transport infrastructures (e.g., roads, highways, railways) are affecting biodiversity by habitat loss and fragmentation, degraded or suppressed connectivity, and direct and indirect mortality. In response, planners try to propose mitigation or compensatory measures. Amphibians are particularly impacted by these infrastructures, in terms of habitat loss but also because their obligatory migration to breeding sites exposed them to the barrier effect of infrastructure (direct mortality and loss of connection among sub-populations). Several compensatory (e.g., creation of new ponds) and mitigation measures (construction of wildlife passage) have been proposed specifically for amphibians. This chapter aims to describe measures implemented for amphibian populations and tries to evaluate their efficiency in terms of frequentation (wildlife passage) and population persistence.

Keywords: roads, railways, wildlife passage, mortality, amphibians, habitat fragmentation, population persistence

1. Introduction

The construction of linear transport infrastructure (LTI) such as roads and railways is one of the major anthropogenic alterations to the planet's ecosystems (e.g. see [1]). The effects of LTI such as roads (42 million km of roads around the world) and railways on wildlife were identified as early as the end of the nineteenth century [2]. Throughout the twentieth century, data on the effects of LTIs have accumulated, with a strong increase over the last 20 years [3, 4].

At the same time, planners are trying to use knowledge on species biology and the types of impacts identified to propose mitigation or compensatory measures. These actions have led to

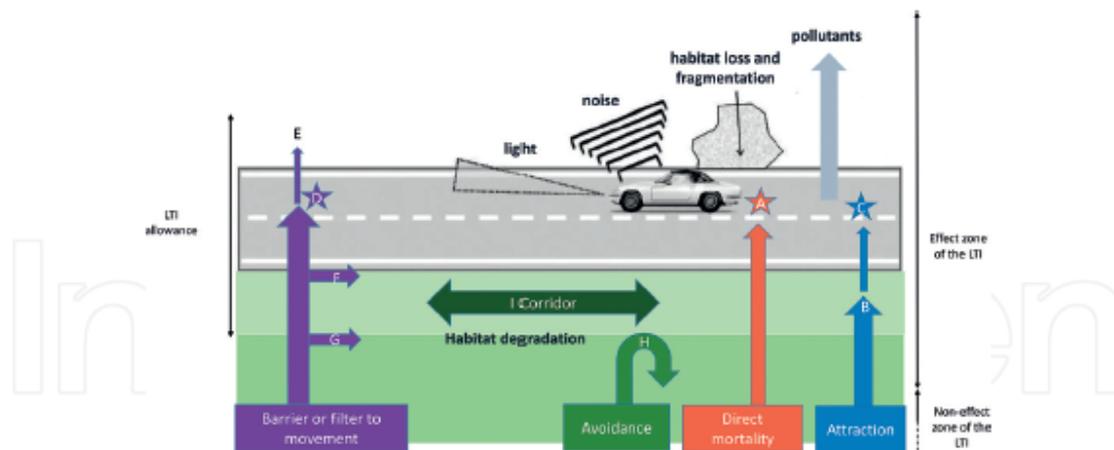


Figure 1. Schematic view of environmental effects of a linear transport infrastructure. The building of the LTI and the traffic induced a set of direct and indirect impacts on the biodiversity, in the effect zone of the LTI. (A) Direct mortality via collision with vehicles; (B) attraction (e.g. scavengers for crushed fauna); (C) potential mortality of attracted animals; (D) direct mortality of crossing individuals; (E) successful crossing; (F) avoidance of the LTI; (G) avoidance of the LTI allowance degraded habitat; (H) avoidance of the LTI allowance; (I) corridor effect (adapted from [22, 37]).

the emergence of a theme called “road ecology” [5], which focuses on impacts (roads, but can be extended to all transport infrastructures) and mitigation measures [3, 5].

LTIs have different effects on biodiversity. The animal component of this biodiversity, and in particular the amphibian community, will be considered here, even if the other components are concerned, for example, by habitat loss. The main impacts of LTIs are habitat loss, habitat fragmentation, loss of connectivity, and direct and indirect mortality (Figure 1). Historically, amphibians were among the first animals reported as being heavily impacted by roads [6].

While railways represent ~1 million km and are expected to increase by 45% by 2050 [1], their impact in comparison with other infrastructures such as roads and highways is poorly studied [3, 7]. Railways are expected to cause the same types of effects as roads [8], that is, habitat loss, landscape fragmentation, direct mortality [9] and indirect disturbances such as noise pollution and light pollution [10, 11]. Two hundred and fifty-nine studies have been published in relation to road networks, compared with 17 studies about rail networks (of which 3 concern amphibians) in 2014 [3].

2. Habitat loss and fragmentation

In amphibians, habitats destroyed by LTIs are breeding habitats (e.g., aquatic sites where egg and larvae development occur) and terrestrial habitats (transitional habitats for migration to and from aquatic sites, dispersal of juveniles, and growth/hibernation for juvenile and adult terrestrial phases). LTIs can also have a barrier effect, preventing colonization (dispersion) or movements between breeding sites and terrestrial habitat (migration). Habitat loss and the barrier effect (i.e., landscape fragmentation) are difficult to quantify separately because the composition and structuring of landscape elements affect the dynamics of the animal populations that frequent them [12].

Habitat loss and fragmentation can have measurable effects in terms of genetic richness (within the same species) or of specific richness. The genetic structure of a salamander species (*Plethodon cinereus*) is altered near a motorway, but not near secondary roads [13]. Habitat fragmentation leads to an increase in inbreeding, loss of heterozygosity, a decrease in adult numbers, loss of allelic richness and a greater differentiation among 'subpopulations', the agile frog *Rana dalmatina* [14, 15]. Roads are barriers to gene flow in the common frog *R. temporaria* in Germany and France, where genetic differentiation between populations is highest in the densest road network regions [16] or with a higher traffic [17]. Amphibian-specific richness is greater when moving away from roads [9, 18–20], but it is difficult to separate the effect of roads and the effect of landscape co-variables (e.g., forest cover, crops, urbanized area) [21].

The cumulative effects of ILTs delineate an 'impact zone' of various widths. The distance of effect can vary from 40 m to 1.5 km with an average of 500 m, depending on the species considered [22–26].

3. Direct mortality

LTIs are a major source of vertebrate mortality, with consequences to local population dynamics [27]. Due to user safety issues or exploitation (traffic loss), LTI studies are primarily concerned with large mammals (e.g., ungulates and bears, [3]). Vehicle collision mortality can affect the demographics of many vertebrate and invertebrate species, among them are amphibians [25, 28, 29].

As with roads, the direct mortality of wildlife crossing railway tracks depends on species agility and their ability to cross the railway. Mammals, birds, reptiles and amphibians suffer railway deaths [3, 7, 30, 31]. The railway track has been noted to trap small vertebrates such as terrestrial turtles (*Terrapene carolina*) between the tracks [32].

The persistence of crashed small vertebrate bodies can be very short due to scavengers. Their identification can also be difficult because of the body degradation. Both effects can affect species' detectability, degrading the accuracy of the mortality effect evaluation (but see [33] and the use of genetic tracks to identify crushed animal carcasses).

Direct mortality may cumulate with the barrier effect by decreasing the abundance, occurrence and specific richness of amphibian communities [12, 18, 21, 26, 34–36].

4. Mitigation measures

Increased knowledge of the effects of LTIs on biodiversity, biodiversity protection and legislation has led to the implementation of mitigation measures. The aim of these measures is to enable long-term population viability near the LTI [24, 35, 37]. The effect of habitat destruction is most often offset by measures to restore or create new habitats. A typical example is the creation of new amphibian-breeding ponds [38].

To reduce the barrier effect of LTIs, wildlife passages-devoted to a specific fauna of small vertebrates (including amphibians)-began to be implemented in the 1960s in Europe [39]. Wildlife passages (above or below the LTIs) aim to limit direct mortality and to maintain a level of connectivity, allowing gene flow between sub-populations on either side of the LTI [40], a key factor for the viability of amphibian metapopulation [9, 17].

Several approaches have been implemented to reduce direct amphibian mortality on LTIs during movements (migration and dispersal): the first one is to act on traffic, that is, vehicle speed reduction, signaling and temporary closure of roads [9, 25, 41]. The second one is by changing the main amphibian migration routes, for example, by creating breeding sites on the LTI side that avoids most breeding individuals having to cross it [38]. In Germany, 99% of the individual of a common toad *Bufo bufo* breeding population visited the new site the year after its creation [42].

The classical approach is to subtract migrating/dispersing individuals from the risk of crossing the LTIs, thanks to barrier systems (either permanent or temporary) and buckets that trap individuals, which are captured and released on the other side of the LTI.

In many cases, the direct mortality and barrier effects are reduced, thanks to a combination of devices that limit the access to the LTIs and allow its crossing. Wildlife passages above LTIs (viaducts) and barrier systems channel amphibians in their direction, drastically reducing mortality between wetlands but at a high construction cost [22, 43]. These viaducts are highly developed in different species of (large) vertebrates, but their attractiveness and efficiency for amphibians remain poorly documented [9, 44].

In most cases, the wildlife passage designed for amphibians is built to allow crossing below the LTI. It is a round or a square underpass (tunnel) of variable size (e.g., from 0.50 to 1.5 m in height). The entrances are connected to barriers (e.g., plastic or metallic fences). These barriers must be extended by at least 100 m on both sides of the tunnel and at least 0.6 m in height (e.g., [9, 28]).

In addition to the passage designed for wildlife, it is often possible to adapt the many hydraulic systems to make them usable by small vertebrates such as amphibians [22].

An important issue for wildlife passage efficiency is their location, that is, selected in order to maintain the main natural movements (e.g., migratory and dispersal of amphibians in terrestrial phases) [25, 28]. The choice can be dictated by the knowledge of migration routes (assessed by the distribution of crushing zone or the description of a landscape structure) to determine how the amphibian community functions in the landscapes impacted by the LTI. The location of high-crushing zone should not be used as the only indicator for placing wildlife passage: a crashed amphibian number can reflect local density, which can be strongly reduced near roads [28].

If the wildlife passages are effective in reducing adult-breeding mortality, they are often not suitable to animals returning from breeding sites such as juveniles [9]. This failure to account juvenile mortality could explain the declines and even the extinction of amphibian populations where adult mortality (*B. bufo*) has been strongly decreased, thanks to wildlife passages [9, 45].

On the other hand, a review of studies on 123 wildlife passages shows that they provide little information on the fact that they have decreased the barrier effects of the LTI on population connectivity [46].

5. Factors influencing the use of wildlife passage by amphibians

There is little information on the behavior of amphibians nearby and inside wildlife passages (tunnels). Some experiments exist with amphibians, to test the size of the tunnel, the type of substrate, light and humidity.

5.1. Type and size of wildlife passage

Three European anuran species (*B. bufo*, *R. esculenta* and *R. dalmatina*) were tested in an experimental design allowing counting the number of individual entering or not an artificial tunnel 2 m long. The proportion of crossing varied from 66, 65 and 27% in these three species [47]. The north American spotted salamander *Ambystoma maculatum* was tested with several tunnels varying in width (from 0.3 to 0.8 m) and used them whatever their width was [48].

5.2. Substrate type

A tunnel with an earthy substrate is more clearly used than a tunnel with a bare concrete substrate in anuran (*R. esculenta*, *R. dalmatina*, *R. clamitans*, *R. pipiens*) [47, 49]. A marginal effect was observed with the spotted salamander (*A. maculatum*) and the common toad *B. bufo* where the two substrates were used indifferently [47, 48]. In this experimental tunnel device, the choice was also offered to stay on a grassy substrate, or to use one of the tunnels with earthy or bare concrete substrates [47]. The water frog *R. esculenta* and the common toad *B. bufo* used both tunnels, while the agile frog *R. dalmatina* was more frequently found outside the tunnel on the grassy substrate [47]. The use of a natural substrate in wildlife passage can provide habitat continuity and encourage animals to cross [25], and bare concrete, with high alkalinity, could be a repellent to amphibians [47].

5.3. Other factors

Substrate moisture, air temperature, tunnel brightness and noise can influence the use of wildlife passages. A temperature difference between the outside and the inside of a tunnel can deter amphibians [25]. The presence of an opening on top of the tunnel, allowing ventilation and light entry, increased the crossing speed of the spotted salamander *A. maculatum* (cited in [25]). The green frog *R. clamitans* and the leopard frog *R. pipiens* prefer using artificial tunnel with some light entrance [49].

Microclimate (temperature, relative humidity, mean light) in the tunnel was recorded during movement and orientation of Australian frogs (striped marsh frog *Limnodynastes peronii*, the Golden bell frog *Litoria aurea* and the broad-palmed frog *L. latopalmata*) [52]. The tunnel usage was not related to air temperature, humidity or light level recorded inside the tunnel (Figure 2).



Figure 2. Experimental setup to study the tunnel-crossing behavior of amphibians. Experimental tunnel (ACO climate tunnel model KT 500) used to record amphibian-crossing movements, Photographs by Andrew Hamer (from ([52]). (a) Global view of the tunnel; (b) a view through the tunnel from the entrance arena; (c) view of the tunnel entrance with the infrared camera on the left and the temperature data logger next to the camera. The black plastic bucket is the raised acclimation chamber used for tested animals.

The soil moisture of the surrounding habitat influences the use of tunnels in the north American salamanders (the Santa Cruz long-toed salamander *A. macrodactylum* [51]).

The influence of environmental factors inside and in the surrounding habitats of tunnels on their use by amphibians definitively needs more experimental studies.

Amphibians use various information when migrating and dispersing. Anurans can use the reproductive call of their conspecific to locate the breeding site. This attraction was used to encourage the use of artificial tunnels [47, 52]. European newt species (the palmate newt, *Lissotriton helveticus*, the marbled newt *Triturus marmoratus*, the great crested newt *T. cristatus* and the smooth newt *L. vulgaris*), which do not have reproductive calls, can use the call of sympatric anuran species (the Perez's frog *Pelophylax perezii*, the common toad *B. bufo*, the green toad *Pseudoepidalea viridis*, and the Natterjack toad *Epidalea calamita*), to locate the breeding site [53, 61–63]. It is likely that many amphibians use this cue to orientate, but more studies are definitively needed, especially on the potential of improving the use of wildlife passages. Olfaction to detect the breeding site, thanks to its particular bench of odors, is well known in amphibians. It is also possible that amphibians use smelling traces (conspecific or other species) on the substrate to orientate [47, 54], but to our knowledge, this behavior has not been tested in a wildlife passage context.

6. Evaluating mitigation measures

Mitigation measures to reduce the negative effects of LTIs and traffic on amphibians have varying degrees of success [40, 47, 52].

It is crucial to carry out the evaluation of these mitigation measures and to clearly distinguish the (simple) counting of individual using a wildlife passage and the (complex) global evaluation of the mitigating measures. A combination of methods is often required to achieve this goal.

6.1. Compensatory pond and translocation

Compensatory measures in response to the destruction of aquatic sites include the creation of new ponds and possibly the translocation of the amphibian community that colonized the destroyed ponds [55]. Evaluation of these actions is very rare, most often without an estimate of the success of mitigation [38, 56]. New ponds can lead to an increase in amphibian biodiversity in highly altered habitats [27]. A return time of an amphibian community was 2–3 years in a compensatory pond, that is, the time to observe the same species as in the destroyed ponds [28].

Denton et al. [57] proposed several criteria to assess the success of mitigation based on the creation of compensatory ponds and translocation in the Natterjack toad *B. calamita*. The translocation was the transfer of spawns (5–6000 eggs) during two successive years. The first criterion is the initial success, that is, the emergence of metamorphosed individuals at least one of the 2 years of the transfer. The second criterion is the intermediate success, that is, the return of adults for reproduction before the third year after the transfer (age of sexual maturity is 3 years in this species). The third criteria is the complete success, that is, when reproduction continues in the new site for at least 5 years, with the number of adults remaining stable or increasing, and the production of a second generation of toadlets. The experiment has failed if no return or reproduction is observed for 10 years after the first transfer. These criteria can be adapted to different species to assess the success of mitigation measures. The assessment of compensatory pond measures should also take the maintenance of the quality of the newly created aquatic sites into account.

Evaluating the establishment of populations in translocated ponds remains a difficult task [38], due to large natural variations in amphibian populations and/or the long generation time, requiring long-term monitoring to verify the 'real' success of such operations.

6.2. Ecopasses and barriers to dispersion

Many amphibian species are known to use wildlife passages (tunnels), sometimes with a high abundance: Up to 3000 common toad *B. bufo* are counted each year in a wildlife passage in France [58], and the monitoring of a tunnel for 12 years in Switzerland shows an increase of its use by the common toad *B. bufo* and the common frog *R. temporaria* [59].

The most effective devices – without real comparative studies having been carried out – consist of a guide barrier and funnel underpasses [27, 40, 49, 50] (Figure 3). Barriers and walls are



Figure 3. Ecopassage designed for the migration of amphibians along the road RD657 in NE France. This ecopassage allowed the migration of amphibians such as the common frog *Rana temporaria* and the common toad *Bufo bufo*. A concrete tunnel, with the floor covered by the soil, allows the animal crossing. A metallic barrier prevents the animals to access the road and directs them toward the tunnel entrance. This ecopassage is located below the local road joining Novéant-sur-Moselle to Arry in Northeastern France (photograph by Alain Morand, CEREMA-EST).

effective in reducing amphibian mortality around LTIs when they are sufficiently high and well installed [27, 39, 40]. They effectively reduce collision mortality but lead to landscape fragmentation [25], making migration and/or dispersion impossible, thereby isolating populations [27]. This ability to control the movement of amphibians by physical barriers (e.g. fences) is used to channel them toward the inlet of the tunnel, thus preventing their penetration on the LTI [25, 40], and reducing direct mortality [40, 51]. However, arboreal species such as *Hyla* sp. suffered direct mortality as they can easily cross fences [40] and their use of tunnel is rare [9]. The fence, with a 0.60-m high, blocked 100% of the individuals in the Green frog *R. clamitans* and the Leopard frog *R. pipiens* [49].

Assessments of mitigation measures often lack scientific quality (e.g. no or poor data before the implementation, no replication of situations and no experimental assessment of wildlife passage use). In a review of 22 studies describing LTIs wildlife passage, only three evaluate the effectiveness (positive in the three studies) [27, 38, 40, 41]. The proportion of individuals entering a wildlife passage (its use) was 13%, while only 5% crossed it completely (effectiveness). This difference may be due to the tunnel characteristics (e.g. tunnel length) and/or the exploratory behavior of adults and juveniles [52].

There are many methods to measure the use of wildlife passage by large mammals. With smaller animals such as small mammals and amphibians, fingerprint plates, pitfall traps and fences, and camera traps have been used [27, 40, 50, 51]. Capture-marking-recapture provides information on the use of, for example, tunnels [50], but also on the dynamics of the monitored populations [60].

Nonfunctional wildlife passage is also observed [49], mostly due to their bad location, poor designs and/or behavior of target species [49]. It should also be noted that wildlife passage

can potentially function as an ecological trap: Predators may use them as hunting grounds (e.g. carnivorous small mammal [9, 25, 41] and snake [29]).

7. Conclusion

The effectiveness of wildlife passages varies by species, and its evaluation will need several steps: The first and very important one is to evaluate the potential effects of the planned LTI on the population functioning (e.g. habitat destruction and connectivity) for the targeted animal community. This will allow classifying the different projects of wildlife passage in terms of objectives (which can differ from one wildlife passage to another). The monitoring (if no data are already available) has to be performed in the proposed locations of wildlife passages and in control areas (outside the site of, e.g., tunnel construction and in areas without the influence of the LTI). These monitoring has to be carried out post construction on the same locations using the same methods. In amphibian species, a combination of methods can be proposed to allow this monitoring, such as population genetics, capture-marking-recapture and occupancy modeling.

The assessment of mitigation measures (barrier/wildlife passage) focusing on amphibian community thus needs to take into account (1) the spatial aspect, that is, the effect distance of the LTI in the landscape (the 'impact zone'), the functioning of this community in the area where mitigation measures are implemented and the functioning of the community in the surrounding landscape; (2) the temporal aspect, that is, biological characteristics of each species (e.g., demographic traits) and of the landscape elements (e.g., natural evolution of compensatory ponds, of tunnel substrate and surroundings); and (3) the knowledge of behavioral determinants and movement capacities of each species that lead to the use or avoidance of wildlife passages.

Author details

Guillaume Testud and Claude Miaud*

*Address all correspondence to: claudem.miaud@cefe.cnrs.fr

UMR 5175 CEFE, EPHE, Biogéographie et Écologie des Vertébrés, PSL University, Montpellier, France

References

- [1] Dulac J. Global Land Transport Infrastructure Requirements. Vol. 20. Paris: International Energy Agency; 2013. p. 2014
- [2] Barbour EH. Bird fatality along Nebraska railroads. *The Auk*. 1895;**12**(2):187-187
- [3] Popp JN, Boyle SP. Railway ecology: Underrepresented in science? *Basic and Applied Ecology*. 2016;**19**:84-93

- [4] Rytwinski T, Fahrig L. The impacts of roads and traffic on terrestrial animal populations. In: Handbook of Road Ecology. Chichester: Wiley Blackwell; 2015. pp. 237-246
- [5] Forman RT, Sperling D, Bissonette AJ, Clevenger AP, Cutshall CD, Dall VH, Fahrig L, France R, Goldman CR, Heanue K, Jones JA, Swanson FJ, Turrentine T, Winter TC. Road Ecology: Science and Solutions. Washington: Island Press; 2003
- [6] Hodson NL. A survey of road mortality in mammals (and including data for grass snake and common frog). Journal of Zoology. 1966;148:576-579
- [7] Budzik KA, Budzik KM. A preliminary report of amphibian mortality patterns on railways. Acta Herpetologica. 2014;9:103-107
- [8] Waller JS, Servheen C. Effects of transportation infrastructure on grizzly bears in Northwestern Montana. The Journal of Wildlife Management. 2005;69:985-1000
- [9] Beebee TJC. Effects of road mortality and mitigation measures on amphibian populations. Conservation Biology. 2013;27:657-668
- [10] McClure CJW, Ware HE, Carlisle J, Kaltenecker G, Barber JR. An experimental investigation into the effects of traffic noise on distributions of birds: Avoiding the phantom road. Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences. 2013;280:20132290
- [11] Ware HE, McClure CJW, Carlisle JD, Barber JR. A phantom road experiment reveals traffic noise is an invisible source of habitat degradation. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2015;112:12105-12109
- [12] Fahrig L, Pedlar JH, Pope SE, Taylor PD, Wegner JF. Effect of road traffic on amphibian density. Biological Conservation. 1995;73:177-182
- [13] Marsh DM, Page RB, Hanlon TJ, Corritone R, Little EC, Seifert DE, Cabe PR. Effects of roads on patterns of genetic differentiation in red-backed salamanders, *Plethodon cinereus*. Conservation Genetics. 2008;9:603-613
- [14] Lesbarrères D, Pagano A, Lodé T. Inbreeding and road effect zone in a Ranidae: The case of Agile frog, *Rana dalmatina* Bonaparte, 1840. Comptes Rendus Biologies. 2003; 326(Suppl 1):S68-S72
- [15] Lesbarrères D, Primmer CR, Lodé T, Merilä J. The effects of 20 years of highway presence on the genetic structure of *Rana dalmatina* populations. Écoscience. 2006;13:531-538
- [16] Reh W, Seitz A. The influence of land use on the genetic structure of populations of the common frog *Rana temporaria*. Biological Conservation. 1990;54:239-249
- [17] Safner T, Miaud C, Gaggiotti O, Decout S, Rioux D, Zundel S, Manel S. Combining demography and genetic analysis to assess the population structure of an amphibian in a human-dominated landscape. Conservation Genetics. 2011;12:161-173
- [18] Eigenbrod F, Hecnar SJ, Fahrig L. The relative effects of road traffic and forest cover on anuran populations. Biological Conservation. 2008;141:35-46

- [19] Hamer AJ. Accessible habitat delineated by a highway predicts landscape-scale effects of habitat loss in an amphibian community. *Landscape Ecology*. 2016;**31**:2259-2274
- [20] Vargas-Salinas F, Delgado-Ospina I, López-Aranda F. Amphibians and reptiles killed by motor vehicles in a Sub-Andean forest in western Colombia. *Caldasia*. 2011;**33**:121-138
- [21] Houlihan JE, Findlay CS. The effects of adjacent land use on wetland amphibian species richness and community composition. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2003;**60**:1078-1094
- [22] Colino-Rabanal VJ, Lizana M. Herpetofauna and roads: A review. *Basic and Applied Herpetology*. 2012;**26**:5-31
- [23] Forman RTT, Alexander LE. Roads and their major ecological effects. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 1998;**29**:207-231
- [24] Marsh DM, Cosentino BJ, Jones KS, Apodaca JJ, Beard KH, Bell JM, Bozarth C, Carper D, Charbonnier JF, Dantas A, et al. Effects of roads and land use on frog distributions across spatial scales and regions in the Eastern and Central United States. *Diversity and Distributions*. 2016;**23**:158-170
- [25] Glista DJ, DeVault TL, DeWoody JA. A review of mitigation measures for reducing wildlife mortality on roadways. *Landscape and Urban Planning*. 2009;**91**:1-7
- [26] Rytwinski T, Fahrig L. Do species life history traits explain population responses to roads? A meta-analysis. *Biological Conservation*. 2012;**147**:87-98
- [27] Aresco MJ. Mitigation measures to reduce highway mortality of turtles and other herpetofauna at a North Florida Lake. *Journal of Wildlife Management*. 2005;**69**:549-560
- [28] Lesbarrères D, Fahrig L. Measures to reduce population fragmentation by roads: What has worked and how do we know? *Trends in Ecology & Evolution*. 2012;**27**:374-380
- [29] Puky M. Amphibian road kills: A global perspective. In: 2005 International Conference on Ecology and Transportation (ICOET 2005); 2005
- [30] van der Grift EA. Mammals and railroads: Impacts and management implications. *Lutra*. 1999;**42**:77-98
- [31] Heske EJ. Blood on the tracks: track mortality and scavenging rate in urban nature preserves. *Urban Naturalist*. 2015;**4**:1-13
- [32] Kornilev YV, Price SJ, Dorcas ME. Between a rock and a hard place: Responses of Eastern box turtles (*Terrapene carolina*) when trapped between railroad tracks. *Herpetological Review*. 2006;**37**:145-148
- [33] Rodríguez-Castro KG, Ciocheti G, Ribeiro JW, Ribeiro MC, Galetti PM. Using DNA barcode to relate landscape attributes to small vertebrate roadkill. *Biodiversity and Conservation*. 2017;**26**(5):1161-1178
- [34] Carr LW, Fahrig L. Effect of road traffic on two amphibian species of differing vagility. *Conservation Biology*. 2001;**15**:1071-1078

- [35] Malt J. Assessing the effectiveness of amphibian mitigation on the sea to sky highway: population-level effects and best management practices for minimizing highway impacts. Final Report. Ministry of Forests, Lands, and Natural Resource Operations; 2012. pp. 1-33
- [36] Trombulak SC, Frissell CA. Review of Ecological Effects of Roads on Terrestrial and Aquatic Communities. *Conservation Biology*. 2000;14:18-30
- [37] van der Ree R, Jaeger JAG, van der Grift EA, Clevenger AP. Effects of roads and traffic on wildlife populations and landscape function: Road ecology is moving toward larger scales. *Ecology and Society*. 2011;16:48-57
- [38] Lesbarrères D, Fowler MS, Pagano A, Lodé T. Recovery of anuran community diversity following habitat replacement. *Journal of Applied Ecology*. 2010;47:148-156
- [39] Ryser J, Grossenbacher K. A survey of amphibian preservation at roads in Switzerland. *Amphibians and Roads*. Shefford; 1989. pp. 7-13
- [40] Dodd KCJ, Barichivich WJ, Smith LL. Effectiveness of a barrier wall and culverts in reducing wildlife mortality on a heavily traveled highway in Florida. *Biological Conservation*. 2004;118:619-631
- [41] D'Anuniação PER, Lucas PS, Silva VX, Bager A. Road ecology and neotropical amphibians: Contributions for future studies. *Acta Herpetologica*. 2013;8:129-140
- [42] Schlupp I, Podloucky R. Changes in breeding site fidelity: A combined study of conservation and behaviour in the common toad *Bufo bufo*. *Biological Conservation*. 1994; 69:285-291
- [43] Scocciati C. Rehabilitation of habitat connectivity between two important marsh areas divided by a major road with heavy traffic. *Acta Herpetologica*. 2006;1:77-79
- [44] Taylor BD, Goldingay RL. Roads and wildlife: impacts, mitigation and implications for wildlife management in Australia. *Wildlife Research*. 2010;37:320-331
- [45] Cooke AS. The role of road traffic in the near extinction of Common Toads (*Bufo bufo*) in Ramsey and Bury. *Nature in Cambridgeshire*. 2011;53:45-50
- [46] Gilbert-Norton L et al. A meta-analytic review of corridor effectiveness. *Conservation Biology*. 2010;24:660-668
- [47] Lesbarrères D, Lodé T, Merilä J. What type of amphibian tunnel could reduce road kills? *Oryx*. 2004;38:220-223
- [48] Patrick DA, Schalk CM, Gibbs JP, Woltz HW. Effective Culvert Placement and Design to Facilitate Passage of Amphibians across Roads. *Journal of Herpetology*. 2010;44:618-626
- [49] Woltz HW, Gibbs JP, Ducey PK. Road crossing structures for amphibians and reptiles: Informing design through behavioral analysis. *Biological Conservation*. 2008;141: 2745-2750

- [50] Allaback M, Laabs D. Effectiveness of road tunnels for the Santa Cruz long-toed salamander. *Transactions of the Western Section of the Wildlife Society*. 2003;**38/39**:5-8
- [51] Pagnucco KS, Paszkowski CA, Scrimgeour GJ. Characterizing Movement Patterns and Spatio-temporal Use of Under-road Tunnels by Long-toed Salamanders in Waterton Lakes National Park, Canada. *Copeia*. 2012;**2012**:331-340
- [52] Hamer AJ, van der Ree R, Mahony MJ, Langton T. Usage rates of an under-road tunnel by three Australian frog species: Implications for road mitigation. *Animal Conservation*. 2014;**17**:379-387
- [53] Diego-Rasilla FJ, Luengo RM. Acoustic orientation in the palmate newt, *Lissotriton helveticus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 2007;**61**:1329-1335
- [54] Sjögren-Gulve P. Spatial movement patterns in frogs: Target-oriented dispersal in the pool frog, *Rana lessonae*. *Écoscience*. 1998;**5**:31-38
- [55] Germano JM, Bishop PJ. Suitability of Amphibians and Reptiles for Translocation. *Conservation Biology*. 2009;**23**:7-15
- [56] Vasconcelos D, Calhoun AJK. Monitoring created seasonal pools for functional success: A six-year case study of amphibian responses, Sears Island, Maine, USA. *Wetlands*. 2006;**26**:992-1003
- [57] Denton JS, Hitchings SP, Beebee TJC, Gent A. A Recovery Program for the Natterjack Toad (*Bufo calamita*) in Britain. *Conservation Biology*. 1997;**11**:1329-1338
- [58] Lustrat P. Etude de l'efficacité des "crapauducs" installés sous la RD 104 à Sorques (77). In: *Rapport Nature Recherche*; 1997
- [59] Jolivet R, Antoniazza M, Strehler-Perrin C, Gander A. Impact of road mitigation measures on amphibian populations: A stage-class population mathematical model. *arXiv preprint arXiv:0806.4449*; 2008
- [60] Schmidt BR, Zumbach S. Amphibian road mortality and how to prevent it: A review. In: Mitchell JC, Jung Brown RE, Bartolomew B, editors. *Urban Herpetology*, Vol. 3. St. Louis, Missouri: University of Zurich; 2008. pp. 157-167
- [61] Pupin F, Sacchi R, Gentili A, Galeotti P, Fasola M. Discrimination of toad calls by smooth newts: Support for the heterospecific attraction hypothesis. *Animal Behaviour*. 2007;**74**(6):1683-1690
- [62] Diego-Rasilla FJ, Luengo RM. Heterospecific call recognition and phonotaxis in the orientation behavior of the marbled newt, *Triturus marmoratus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 2004;**55**(6):556-560
- [63] Madden N, Jehle R. Acoustic orientation in the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Amphibia-Reptilia*. 2017;**38**(1):57-65

Chapitre 2 Suivi des déplacements des amphibiens aux abords de la LGV

Le chapitre 2 présente une approche de suivi des populations traitant l'axe 1 et 2. Les objectifs de ces axes sont d'évaluer :

- L'état des populations aux abords de la LGV
- La fidélité aux mares de reproduction
- La proportion d'échanges entre mares proches et entre mares séparées par la LGV

Un suivi par capture-marquage-recapture de trois espèces de tritons a eu lieu sur 5 secteurs le long de la LGV répartis sur les trois départements. Les captures ont eu lieu dans des mares historiques, des mares compensatoires et des mares relais.



Triton alpestre
Ichthyosaura alpestris



Triton marbré
Triturus marmoratus



Triton crête
Triturus cristatus

© Philippe Geniez /
EPHE - BEV

1. Introduction

La dispersion est un mécanisme central de l'écologie et de l'évolution (Bowler and Benton, 2005; Clobert *et al.*, 2009; Hanski, 1999; Hanski and Gilpin, 1991; Ronce, 2007). Il existe deux grands types de dispersion (Baguette and Dyck, 2007; Cayuela *et al.*, 2018a; Clobert *et al.*, 2009; Dingle and Drake, 2007; Greenwood and Harvey, 1982; Matthysen, 2012; Ronce, 2007; Sinsch, 2014) : La dispersion natale correspond au déplacement d'un individu qui quitte son lieu de naissance pendant sa phase juvénile. La dispersion de reproduction correspond au déplacement d'un individu qui quitte son lieu de reproduction précédent pour se reproduire dans un nouveau lieu de reproduction. Ces déplacements peuvent entraîner un flux de gènes. La dispersion a de profondes implications sur la dynamique des populations structurées dans l'espace comme celles des amphibiens (Joly, 2019). Elle atténue le risque d'extinction locale (Brown and Kodric-Brown, 1977) et régule la synchronisation des paramètres démographiques entre les parcelles d'habitats (Abbott, 2011; Liebhold *et al.*, 2004). Au cours des dernières décennies, l'étude de la dispersion a conduit à l'élaboration de modèles de capture-marquage-recapture (CMR) qui permettent de quantifier les déplacements entre les sites de reproduction des amphibiens (Cayuela *et al.*, 2018b).

Les infrastructures linéaires de transports (ILTs) sont connues depuis longtemps pour dégrader et/ou détruire des habitats et conduire à des pertes de connectivité paysagère (Testud and Miaud, 2018). De nombreux vertébrés terrestres ne dépendent pas d'un seul, mais d'un ensemble d'habitats divers disposés en mosaïque (Law and Dickman, 1998). En fragmentant les paysages, les ILTs peuvent empêcher les mouvements tels que la migration (e.g. déplacement saisonnier entre habitats différents) ou la dispersion de différents groupes de vertébrés terrestres (Fahrig and Rytwinski, 2009; Forman, 2003; Forman and Alexander, 1998; Glista *et al.*, 2009; Jackson, 1999; Lesbarrères and Fahrig, 2012; Niemi *et al.*, 2014; Trombulak and Frissell, 2000). Les ILTs ont des effets délétères sur la démographie et la génétique (Cayuela *et al.*, 2019; Forman and Alexander, 1998; Hamer *et al.*, 2014; Safner *et al.*, 2011). Ils peuvent réduire à terme la viabilité des populations (Fahrig *et al.*, 1995; Niemi *et al.*, 2014; Patrick *et al.*, 2010). Les espèces ne sont pas toutes affectées par les effets des ILTs de la même manière. Ces effets varient en fonction de nombreux facteurs tels que les besoins écologiques des espèces, ou bien de l'ampleur et de la nature de leurs déplacements (Colino-Rabanal and Lizana, 2012; Law and Dickman, 1998; Trombulak and Frissell, 2000). Les espèces

qui requièrent plus de migrations sont souvent plus impactées par la fragmentation que les espèces sédentaires (Hamer, 2016). Les voies ferrées semblent causer des effets sur la faune similaires à ceux des routes. Néanmoins il existe un manque de connaissance sur l'ampleur de ces effets (Budzik and Budzik, 2014; Popp and Boyle, 2016).

Dans la seconde moitié du XX^{ème} siècle, des tunnels ont été construits ou aménagés afin d'atténuer les effets des infrastructures linéaires de transports en créant des passages au-dessous des routes (Carsignol, 2012; Colino-Rabanal and Lizana, 2012; Lesbarrères and Fahrig, 2012; Puky *et al.*, 2007; Schmidt and Zumbach, 2008). Ces passages visent pour les amphibiens à augmenter la perméabilité des ILTs et réduire les mortalités qu'elles provoquent (Aresco, 2005; Clevenger *et al.*, 2003; Dodd *et al.*, 2004; Lesbarrères *et al.*, 2004; Niemi *et al.*, 2014; van der Ree *et al.*, 2009; Testud and Miaud, 2018; Woltz *et al.*, 2008). D'autres mesures d'atténuation ont été mises en place, telles que des créations de mares pour compenser des destructions (Lesbarrères *et al.*, 2010). L'objectif principal des mesures d'atténuation devrait être de permettre la viabilité des populations au long terme dans le voisinage des ILTs (Hamer *et al.*, 2014; Lesbarrères and Fahrig, 2012; van der Ree *et al.*, 2009, 2011). Il est maintenant urgent d'évaluer l'efficacité des aménagements pour mieux comprendre, compenser et réduire le déclin des populations d'amphibiens (Lesbarrères and Fahrig, 2012; Lesbarrères *et al.*, 2010; van der Ree *et al.*, 2015).

Dans l'ensemble, les études qui visaient à étudier l'efficacité des mesures d'atténuation se sont concentrées sur la fréquentation des tunnels par la faune (Hamer *et al.*, 2014; Lesbarrères and Fahrig, 2012; van der Ree *et al.*, 2007, 2015). Cependant, ces études ne contiennent que très peu d'informations utilisables pour en évaluer réellement l'efficacité e.g. en terme d'augmentation de la connectivité et/ou viabilité des populations (van der Ree *et al.*, 2007).

Les suivis des ouvrages pour amphibiens peuvent se faire grâce à l'utilisation de différentes méthodes (D'Anuniação *et al.*, 2013) : l'installation de pièges photos (Jarvis *et al.*, 2019), le marquage avec des poudres lumineuses (Matos *et al.*, 2018), l'installation d'antennes RFID (Testud *et al.*, 2019). Plus rarement, des méthodes de Capture-Marquage-recapture ont été utilisées pour estimer la proportion d'individus bénéficiant des tunnels (Matos *et al.*, 2018; Schmidt and Zumbach, 2008).

L'objectif de la restauration des zones humides est de fournir un habitat approprié aux espèces (Lesbarrères *et al.*, 2010) et l'établissement de populations viables (Reed *et al.*, 2003). L'évaluation de l'efficacité des mesures de compensation fait souvent défaut et se limite souvent à de la présence/absence ou comptage (Lesbarrères *et al.*, 2010) et peu d'études présentent des données sur le succès de ces mesures (Denton *et al.*, 1997; Petranka *et al.*, 2003; Pullin *et al.*, 2004; Semlitsch, 2002; Vasconcelos and Calhoun, 2006). Denton *et al.*, (1997) ont proposé que les mesures du succès de la restauration des sites aquatiques pour les amphibiens soient estimées comme :

- (i) succès initial, l'émergence de métamorphoses des sites de reproduction,
- (ii) succès intermédiaire, retour des adultes pour se reproduire pour la première fois,
- (iii) succès complet, poursuite de la reproduction pendant 5 ans,
- (iv) échec, les adultes ne reviennent pas après 5-10 ans.

Une approche plurispécifique de l'évaluation et du suivi des efforts de conservation est nécessaire (Lesbarrères *et al.*, 2010; Maes and Bonte, 2006) mais a rarement été réalisée.

À la suite de la construction d'une nouvelle voie ferrée (LGV Bretagne – Pays de la Loire), des suivis de populations par capture-marquage-recapture ont été réalisés dans 5 secteurs le long du tracé. L'objectif de ce chapitre est d'étudier l'utilisation de réseaux de mares dans un contexte d'infrastructures et d'aménagement grâce (1) au suivi de l'utilisation des mares par les différentes espèces et (2) au suivi des déplacements entre mares pendant et hors de la période de reproduction. Ces résultats contribueront à évaluer l'efficacité des mesures de réduction et compensation mises en place.

2. Matériels et méthodes

Secteurs étudiés

En Bretagne et Pays de la Loire, dans les départements de l'Ille-et-Vilaine de la Mayenne et de la Sarthe, cinq secteurs ont été étudiés :

- Lombron (Sarthe ; PK 9)
- Chantenay-Villedieu (Sarthe : PK 52)
- Beaulieu-sur-Oudon (Mayenne et Ille-et-Vilaine : PK 132,8)

- Le Pertre (Ille-et-Villaine ; PK 134)
- Brielles (Ille-et-Villaine ; PK 137,7)

Des modifications du paysage ont eu lieu dans ces 5 secteurs suite à la construction de la LGV. Pour atténuer ces effets, des mesures de réduction et de compensation ont été réalisées (Annexe 1).

Protocole de capture, marquage, recapture

Les populations de trois espèces de tritons européens pouvant présenter des caractéristiques de dispersion différentes ont été suivies par capture-marquage-recapture (le Triton crêté *Triturus cristatus*, le Triton marbré *Triturus marmoratus*, le Triton alpestre *Ichthyosaura alpestris*). Les adultes des 3 espèces et les juvéniles de 1 ans de Triton crêté ont été suivis. Les Tritons palmés et Tritons ponctués n'ont pas été suivis en raison de la faible taille des individus. Les captures ont été réalisées de 2017 à 2019 pour 2 secteurs (Chantenay-Villedieu et Beaulieu-sur-Oudon) et de 2018 à 2019 pour les 3 autres (Lombron, Le Pertre et Brielles). Chaque année, 3 sessions de captures ont été réalisées dans toutes les mares des 5 secteurs (mares historiques, compensatoire et relais). L'intervalle entre les sessions était d'environ 30 jours. Les captures sont réalisées à l'aide de nasses à vairons de dimensions 55x25x25cm (©Amiaud ; référence : 331034). Le nombre de nasses a été ajusté dans chaque secteur en fonction de la taille des mares (Figure 1). En cas de niveau d'eau trop faible ou de température extérieure dépassant les 20°C, deux troubleaux sont utilisés pour remplacer les nasses (©Amiaud ; référence : 744007). La durée de capture a été ajustée en fonction de la taille de la mare et du nombre d'animaux capturés par coup de troubleau (de 5 minutes à 1 heure). Les animaux ont été récoltés dans des seaux étanches avant d'être triés par espèce, marqués avec des PIT-tags (©Biolog-ID ; référence 10268 [R02-0717], ISO 11784/11785 ; 1.4 x 8 mm, poids 34.2 mg) et/ou identifiés avec un lecteur portable (©Biolog-ID ; reader RS1-F1). Les animaux à marquer ont été placés dans un bain anesthésique d'1.5 litre de phénoxyéthanol (0,7 %). La technique est connue pour avoir un faible impact sur les individus (Perret and Joly, 2002). Les Pit-tags ont été insérés en sous-cutané sur l'un des deux flancs de l'animal en fonction de l'expérimentateur à l'aide d'injecteurs adaptés. Après le marquage et avant la mise en liberté, les tritons sont placés dans un seau rempli d'eau de la mare d'origine jusqu'à leur réveil. Tout le matériel de terrain a été nettoyé entre chaque secteur avec une solution de Virkon® à 1 % (p/v) afin de prévenir une éventuelle contamination par différents pathogènes des amphibiens (Miaud, 2014; Speare *et al.*, 2004).

Estimation des tailles de population

Les estimations de tailles de populations pour les cinq secteurs ont été réalisées chaque année en réunissant tous les individus pour chaque secteur. Les analyses ont été conduites à l'aide du programme capture dans le logiciel Mark. Pour chaque sexe, espèces et secteurs ont été estimés les effectifs (N), la déviation standard (Sd), l'estimation minimale (Nmin), l'estimation maximale (Nmax) et le sex-ratio estimés (Sex-ratio).

Juveniles de Tritons crêtés

Les juvéniles de Tritons crêtés alors qu'ils ne sont pas matures sexuellement, ont la particularité de revenir dans des sites aquatiques alors qu'ils ne participent pas à la reproduction. Ils peuvent potentiellement fournir des informations sur le succès de reproduction des années précédentes s'ils reviennent dans leur mare de naissance, ou sur la dispersion juvénile en cas de changement de site aquatique.

Échanges entre mares

Un « événement de changement de mares » est obtenu quand un individu dit « Nomade » était dans une mare X au temps t et est retrouvé dans une mare Y au temps t+1. La proportion « nombre d'individus ayant changé de mare entre les sessions de recaptures / nombre d'individus recapturés » est appelée « taux de dispersion ». La proportion « nombre d'individus n'ayant pas changé de mare entre les sessions de recaptures / nombre d'individus recapturés » est appelée « taux de fidélité ».

3. Résultats

Effectifs de capture et recapture

Le nombre d'individus capturés et le taux d'individus recapturés ont fortement variés entre secteurs et espèces (Table 1). Au total 3229 Tritons crêtés ont été capturés (Lombron N = 191 ; Chantenay-Villedieu N = 988 ; Beaulieu-sur-oudon N = 1091 ; Le Pertre N = 101 ; Brielles N = 858) dont 368 individus uniquement à la dernières sessions de captures pour 1070 individus recapturés au total soit 37% des individus marqués (Lombron 22% ; Chantenay-Villedieu 36% ; Beaulieu-sur-oudon 44% ; Le Pertre 38% ; Brielles 34%).

Au total 482 Tritons marbrés ont été capturés (Beaulieu-sur-oudon N = 260 ; Le Pertre N = 61 ; Brielles N = 161) dont 47 individus uniquement à la dernières sessions de captures pour 142 individus recapturés au total soit 32% des individus marqués (Beaulieu-sur-oudon 33% ; Le Pertre 38% ; Brielles 29%).

Au total 1258 Tritons alpestres ont été capturés (Beaulieu-sur-oudon N = 888 ; Le Pertre N = 94 ; Brielles N = 276) dont 166 individus uniquement à la dernières sessions de captures pour 288 individus recapturés au total soit 26% des individus marqués (Beaulieu-sur-oudon 28% ; Le Pertre 27% ; Brielles 18%).

Répartition des individus entre les mares

La répartition des individus n'était pas homogène au sein des secteurs avec quelques mares accueillant la majorité des individus.

Lombron

Tritons crêtés

La mare compensatoire « A » au nord de la LGV a abrité plus de 98% des Tritons crêtés avec seulement une femelle et deux juvéniles capturés dans la mare compensatoire « B » au sud de la LGV (Figure 2a,b).

Sur le secteur, grâce au programme capture du logiciel Mark, la population a été estimée de 162 à 196 individus Tritons crêtés en 2018 et de 24 à 70 individus en 2019 (Annexe 2).

Chantenay-Villedieu

Tritons crêtés

La mare historique « A » a été la plus colonisée avec 73% des Tritons crêtés capturés. La mare compensatoire « B » à proximité immédiate a abrité 21%. Aucun Triton crêté n'a été capturé dans la mare compensatoire « C ». Les mares compensatoires « D » et « E » et la mare relais « F » ont permis de capturer respectivement 3, 1 et 5 individus. Aucun Triton crêté n'a été capturé dans la mare relais « G ». La mare relais « H » a abrité 1% (9) des individus. Les deux côtés du tunnel inondé (« I » et « J ») ont abrité 4% des individus (figure 3a, b).

Sur le secteur, grâce au programme capture du logiciel Mark, la population a été estimée de 244 à 729 individus de Tritons crêtés en 2017, de 945 à 1386 en 2018, de 555 à 808 individus en 2019 (Annexe 2).

Beaulieu-sur-Oudon

Tritons crêtés

Sur 1080 Tritons crêtés, la mare déplacée « A » a abrité 45 % des individus. Les mares historiques « B » et « C » ont abrité 1% des individus chacune, soit 2%. Les mares compensatoires « D », « E » et « F » au sud de la mare déplacée ont abrité respectivement 1%, 25% et 20% des individus, soit 46%. Les mares compensatoires « G », « H », « I » et « J » au sud-ouest ont abrité respectivement 0,3%, 3%, 2% et 0,7% des individus, soit 6%. Aucun Triton crêté n'a été capturé dans la mare compensatoire « K ». Dans la mare relais « L » ont été capturés 1% des individus (Figure 4a, b).

Sur le secteur, grâce au programme capture du logiciel Mark, la population a été estimée de 554 à 850 individus de Tritons crêtés en 2017, de 810 à 1163 individus en 2018 et de 524 à 2400 individus en 2019 (Annexe 2).

Tritons marbrés

Sur 260 Tritons marbrés, la mare déplacée « A » a abrité 41,9% des individus. Les mares historiques « B » et « C » ont abrité respectivement 3 et 4 individus, soit 2,7%. Les mares compensatoires « D », « E » et « F » au sud de la mare déplacée ont abrité respectivement 0,4% (2), 23% et 10% des individus, soit 33,4%. Les mares compensatoires « G », « H », « I » et « J » au sud-ouest ont abrité respectivement 3,5%, 5,8%, 8,5% et 2,3% des individus, soit 20,1%. Dans la mare compensatoire « K » ont été capturés 0,8% (2) des individus. Dans la mare relais « L » ont été capturés 0,4% (1) des individus (Figure 4a, b).

Sur le secteur, grâce au programme capture du logiciel Mark, la population a été estimée de 124 à 540 individus de Tritons marbrés en 2017, de 217 à 3064 individus en 2018 et de 139 à 255 individus en 2019 (Annexe 2).

Tritons alpestres

Sur 886 Tritons alpestres, la mare déplacée « A » a abrité 40 % des individus. Les mares historiques « B » et « C » ont abrité 0,5% et 16% des individus, soit 16,5%. Aucun Triton crêté n'a été capturé dans la mare compensatoire « D ». Les mares compensatoires « E » et « F » au sud de la mare déplacée ont abrité respectivement 6%, 10%, soit 16%. Les mares compensatoires « G », « H », « I » et « J » au sud-ouest ont abrité respectivement 3%, 8,5%, 10% et 4% des individus soit 25,5% des individus. Dans la mare compensatoire « K » 2,8% des individus ont été capturés. Dans la mare relais « L » 0,2% (2) des individus ont été capturés (Figure 4a, b).

Sur le secteur, grâce au programme capture du logiciel Mark, la population a été estimée de 481 à 811 individus de Tritons alpestres en 2017, de 413 à 639 individus en 2018 et de 549 à 932 individus en 2019 (Annexe 2).

Le Pertre

Tritons crêtés

Sur 101 Tritons crêtés, les mares historiques « A » et « B » ont abrité respectivement 23% et 26% des individus, soit 49%. La mare compensatoire « C » au nord a abrité 44% des individus. La mare compensatoire « D » au sud a abrité 7% des individus « D » (Figure 5a, b).

Sur le secteur, grâce au programme capture du logiciel Mark, la population a été estimée de 131 à 1550 individus de Tritons crêtés en 2018 (le large intervalle est dû à la mauvaise estimation des effectifs des femelles) et de 34 à 235 femelles en 2019 (les effectifs des mâles n'étant pas estimables ; Annexe 2).

Tritons marbrés

Sur 69 Tritons marbrés, les mares historiques « A » et « B » ont abrité respectivement 29 et 48% des individus, soit 77%. La mare compensatoire « C » au nord a abrité 1% des individus. La mare compensatoire « D » au sud a abrité 22% des individus « D » (Figure 5a, b).

Sur le secteur, grâce au programme capture du logiciel Mark, la population a été estimée de 42 à 77 mâles de Tritons marbrés en 2018 (non estimable pour les femelles) et n'était pas estimable en 2019 (Annexe 2).

Tritons alpestres

Sur 94 Tritons alpestres, les mares historiques « A » et « B » ont abrité respectivement 5,3% et 34% des individus, soit 39,3%. La mare compensatoire « C » au nord a abrité 5,3% des individus. La mare compensatoire « D » au sud a abrité 55,3% des individus « D » (Figure 5a, b).

Sur le secteur, grâce au programme capture du logiciel Mark, la population a été estimée de 39 à 79 individus de Tritons alpestre en 2018 et de 89 à 143 individus en 2019 (Annexe 2).

Brielles

Tritons crêtés

Sur 854 Tritons crêtés, la mare historique modifiée « A » a abrité 5% des individus. Les mares compensatoires « B » et « C » au nord-ouest ont abrité chacune 1% des individus (7 et 6 individus), soit 2%. Les mares compensatoires « D », « E », « F » et « G » au sud-est ont abrité respectivement 21%, 28%, 20% et 23% des individus, soit 92%. La mare relais « H » a abrité 1% (9) des individus (Figure 6a, b).

Sur le secteur, grâce au programme capture du logiciel Mark, la population a été estimée de 725 à 1660 individus de Tritons crêtés en 2018, et de 983 à 1379 individus en 2019 (Annexe 2).

Tritons marbrés

Sur 171 Tritons marbrés, la mare historique modifiée « A » a abrité 19% des individus. Les mares compensatoires « B » et « C » au nord-ouest ont abrité 0,5% et 3% des individus, soit 3,5%. Les mares compensatoires « D », « E », « F » et « G » au sud-est ont abrité respectivement 7%, 13%, 33% et 24,5% des individus, soit 77,5% (Figure 6a, b).

Sur le secteur, grâce au programme capture du logiciel Mark, la population a été estimée de 146 à 601 Tritons marbrés en 2018 et de 127 à 290 en 2019 (Annexe 2).

Tritons alpestres

Sur 275 Tritons alpestres, la mare historique modifiée « A » a abrité 6% des individus. Les mares compensatoires « B » et « C » au nord-ouest ont abrité respectivement 4% et 0,3%

(1) des individus, soit 4,3%. Les mares compensatoires « D », « E », « F » et « G » au sud-est ont abrité respectivement 9%, 22% 38% et 21% des individus soit 90% (Figure 6a, b).

Sur le secteur, grâce au programme capture du logiciel Mark, la population a été estimée de façon non précise (importantes déviation standard) de 488 à 10963 mâles de Tritons alpestres (non estimable pour les femelles) en 2018 et de 387 à 1042 individus en 2019 (Annexe 2).

Échanges entre mares intra et inter-annuels

Parmi les 5 secteurs, 2 n'ont pas permis de déterminer si des échanges sont possibles (Table 1). Les secteurs de Lombron (191 Tritons crêtés marqués dont 22% de recapture) et du Pertre (101 Tritons crêtés, 61 Tritons marbrés, 94 Tritons alpestres marqués dont 38%, 38% et 27% de recapture) abritaient les populations les plus petites observées (Table 1, Annexe 2) avec peu d'individus recapturés réduisant la probabilité d'observer des événements de dispersion (Figure 2a et 5a).

Les 3 autres secteurs ont permis d'observer des échanges entre mares (Table 1, Figure 3a, 4a et 6a). Sur ces 3 secteurs la majorité des échanges ont eu lieu entre mares espacées de moins de 100m (100% à Chantenay-Villedieu ; 93% à Beaulieu-sur-Oudon ; 97% à Brielles).

Chantenay-Villedieu

À Chantenay-Villedieu 12 individus nomades de Tritons crêtés adultes (3.7% des individus recapturés) ont été observés (Table 2 ; Figure 3a). Tous les échanges ont eu lieu entre des sites ayant moins de 100 m de distance entre eux. Huit des 12 individus nomades ont été observés entre les mares « A » et « B ». Cinq de ces échanges ont eu lieu en inter-annuels et 3 en intra-annuels. Quatre individus nomades ont été observés de chaque côté du tunnel inondé (entre « I » et « J ») témoignant du franchissement de la LGV. Trois de ces échanges ont eu lieu en inter-annuels et 1 en intra-annuel.

Beaulieu-sur-Oudon

À Beaulieu-sur-Oudon 70 individus nomades ont été observés (9% des Tritons crêtés recapturés ; 17,7% des Tritons marbrés recapturés ; 5,6% des Tritons alpestres recapturés). Cinq individus ayant changé à 2 reprise de mares et 1 individu à 3 reprises, et 77 événements de changement de mares ont donc été observés (Table 3 ; Figure 4a).

La majorité des échanges ont eu lieu entre mares proches distantes de moins de 100 m (65 individus). Cinquante-trois individus se sont déplacés entre les mares « D », « E » et « F », dont 23 en inter-annuels, 22 en intra-annuels et 8 individus s'étant déplacés à plusieurs reprises en intra- et inter-annuels. Huit individus se sont déplacés entre les mares « G », « H », « I » et « J », dont 6 en inter-annuels et 2 en intra-annuels. Quatre individus (1 Triton de Blasius, 2 Tritons crêtés et 1 Triton marbré) se sont déplacés entre la mare « A » et les mares « D », « E » et « F » de chaque côté de la LGV à proximité du tunnel de la Lézerie (1.5x1.5m), témoignant du franchissement de la LGV, dont 3 en inter-annuels et 1 individu s'étant déplacé à deux reprises en intra- et inter-annuels.

Cinq individus se sont déplacés entre des mares distantes de plus de 100m. Un Triton alpestre, un Triton crêté et un Triton marbré ont été observés entre les mares « D », « E », « F » et les mares « G », « H », « I », « J », de part et d'autre d'une route non clôturée au sud du secteur dans des mares éloignées de 200m. Deux individus se sont déplacés en inter-annuels et 1 en intra-annuel. Un Triton marbré s'est déplacé entre les mares « A » et « B » (330m) en inter-annuels et un Triton alpestre entre les mares « K » et « C » (220m) en inter-annuels.

Brielles

À Brielles 37 individus nomades ont été observés (12,6% des Tritons crêtés, 10% des Tritons marbrés et 11,8% des Tritons alpestres) pour 39 évènements de déplacements entre mares 2 individus s'étant déplacées à deux reprises (Table 4 ; Figure 6a). Tous ces déplacements ont eu lieu entre des mares distantes de moins de 100 m. Un Triton marbré s'est déplacé entre les mares « B » et « C » en inter-annuels. Trente-cinq individus se sont déplacés entre les mares « D », « E », « F » et « G » dont 15 individus en inter-annuels, 18 en intra-annuel et 2 s'étant déplacés à plusieurs reprises en intra- et inter-annuels. Un Triton alpestre s'est déplacé entre les mares « G » et « A » en inter-annuels de chaque côté de la LGV, témoignant du franchissement de la LGV.

Juveniles de Tritons crêtés

Lombron

À Lombron 16 juvéniles ont été capturés : 8 ont été marqués en 2018 (dans la mare « A ») ; 8 ont été marqués en 2019 (6 dans la mare « A » et 2 dans la mare « B »). Aucun individu n'a été recapturé (Figure 2b).

Chantenay-Villedieu

À Chantenay-Villedieu 44 juvéniles ont été capturés : 11 ont été marqués en 2017 (8 dans la mare « A », 2 dans la mare « B », 1 dans la mare « F ») ; Aucun n'a été marqués en 2018 ; 33 ont été marqués en 2019 (15 dans la mare « A », 12 dans la mare « B », 6 à l'entrée du tunnel « I »). Aucun individu n'a été recapturé.

Beaulieu-sur-Oudon

À Beaulieu-sur-Oudon 130 juvéniles ont été capturés.

En 2017, 87 juvéniles ont été marqués (41 en « A », 3 en « D », 11 en « E », 29 en « F », 1 en « G », 3 en « H », 1 en « I », 1 en « L »). Trois individus ont été recapturés uniquement en 2017, encore au stade juvénile. Six individus ont été recapturés uniquement en 2018 (2 jeunes femelles, 4 jeunes mâles), 7 en 2017 et 2018 (5 jeunes femelles, 2 jeunes mâles). Sept individus ont été recapturés uniquement en 2019 (5 jeunes femelles, 3 jeunes mâles), 1 en 2017 et 2019 (jeune femelle). Six individus ont été recapturés en 2017, 2018 et 2019 (5 jeunes femelles, 2 jeunes mâles), et 7 en 2018 et 2019 (3 jeunes femelles, 3 jeunes mâles). Trois individus ont changé de mare (de « E » vers « F », de « F » vers « E », de « E » vers « D » puis de « D » vers « E »).

En 2018, 23 juvéniles ont été marqués (15 en « A », 1 en « D », 1 en « L », 5 en « F », 1 en « I », 1 en « L »). Dix-neuf individus n'ont pas été recapturés, 1 a été recapturé en 2018 encore juvénile et en 2019 en tant que jeune mâle, 3 ont été recapturés uniquement en 2019 (2 jeunes mâles et 1 jeune femelle). Aucun individu n'a changé de mare.

En 2019, 30 juvéniles ont été marqués en (13 en « A », 1 en « B », 4 en « D », 2 en « E », 8 en « F », 1 en « G », 1 en « I »). Vingt-huit individus n'ont pas été recapturés et 2 individus ont été recapturés en 2019 encore juvéniles. Aucun individu n'a changé de mare.

Le Pertre

Au Pertre, 9 juvéniles ont été capturés : 4 individus ont été marqués en 2018 (1 dans la mare « B », 3 dans la mare « D ») ; 5 individus ont été marqués en 2019 (1 dans la mare « A », 4 dans la mare « C »). Huit individus n'ont pas été recapturés et un individu a été recapturé en 2018 et n'a pas changé de mare.

Brielles

À Brielles, 61 juvéniles ont été capturés : 9 individus ont été marqués en 2018 (3 dans la mare « D », 1 en « E », 2 en « F » et 3 en « G »). Trois individus ont été recapturés en 2019 (3 jeunes femelles) et aucun n'a changé de mare. 52 individus ont été marqués en 2019 (6 dans la mare « A », 2 dans la mare « C », 13 dans la mare « D », 9 dans la mare « E », 8 dans la mare « F », 13 dans la mare « G », 1 dans la mare relais « H »). Un individu a été recapturé en 2019 au stade juvénile, sans avoir changé de mare.

4. Discussion

Les populations de tritons ont été étudiées par des méthodes de capture-marquage-recapture dans le cadre du concepts de métapopulation (Joly *et al.*, 2001; Perret *et al.*, 2003). Peu d'études ont toutefois utilisé ces méthodes pour évaluer les mesures de compensation et réduction des effets des ILTs (Lesbarrères *et al.*, 2010; Matos *et al.*, 2018; Schmidt and Zumbach, 2008). Dans ce chapitre, nous utilisons la CMR pour suivre les déplacements des individus et la colonisation des différentes mares. Les taux de recaptures observés chez le Triton crêté ont varié de 22 % à 44 %, de 29 % à 38 % chez le Triton marbré, et de 18 % à 28 % chez le Triton alpestre. Des taux de recapture plus faibles des Tritons alpestres ont déjà été observés (Perret *et al.*, 2003), et pourraient s'expliquer par une plus forte propension à disperser (Perret *et al.*, 2003). Une plus faible survie (Miaud *et al.*, 2000b) ou encore une plus faible probabilité de captures avec les nasses peuvent aussi concourir à ces différences.

Critère pour évaluer les mesures de compensation

Critère de Denton et al., (1997)

L'objectif de la restauration des zones humides est de fournir un habitat approprié aux espèces qui les fréquentent et de permettre la viabilité des populations qui y sont établies. Pour rappel, Denton *et al.*, (1997) ont proposé que les mesures du succès de la restauration pour les amphibiens soient estimées comme :

- (i) succès initial, l'émergence de métamorphoses des sites de reproduction,
- (ii) succès intermédiaire, retour des adultes pour se reproduire pour la première fois,
- (iii) succès complet, poursuite de la reproduction pendant 5 ans,

(iv) échec, les adultes ne reviennent pas après 5-10 ans.

La mesure de ces critères peut être parfois complexe à mettre en place ou certains sont indisponibles pour de nombreux projets d'aménagement et pour de nombreuses espèces.

Par exemple le critère 1 nécessite de suivre précisément les mares au moment où les jeunes métamorphosés sortent de l'eau pour la première fois. Le critère 2 nécessite de marquer les individus avant les destructions pour ensuite suivre la colonisation de nouvelles mares par ces individus.

Le critère 3 n'est vérifiable que dans le cas où d'importantes populations de Tritons crêtés ou de juvéniles nés à l'année N-1 sont retrouvées avec les adultes reproducteurs. Il peut ainsi montrer l'efficacité de certaines mares de compensations pour le Triton crêté. C'est le cas de la mare « A » à Lombron, la mare « B » à Chantenay-Villedieu, les mares « E » et « F » à Beaulieu-sur-Oudon et les mares « D », « E », « F » et « G ». Il peut aussi permettre de démontrer l'importance du maintien de certaines mares historiques grâce à des mesures d'évitement, par exemple avec la mare « A » à Chantenay-Villedieu et la mare « A » Beaulieu-sur-Oudon.

Le critère 4 permet de distinguer les échecs francs. C'est le cas de la mare « C » de Chantenay-Villedieu où aucun triton n'a été observé et seulement 3 pontes de Grenouilles agiles ont été observées sur les 3 années de suivis sans permettre l'émergence de métamorphosés.

Ces deux derniers critères ne permettent néanmoins pas de caractériser l'efficacité ou l'échec de nombreuses mares pour le Triton crêté.

Critère de densité d'individus

L'utilisation de la densité d'individus dans les mares pour définir le succès et l'échec des mesures pourrait permettre de mieux évaluer ces mesures de compensation, et ce pour plusieurs espèces. Elle pourrait ainsi permettre de décrire les caractéristiques des mares les moins ou les plus colonisées. Elle pourrait également permettre de comparer les répartitions des individus des différentes espèces pour comparer par exemple leurs préférences écologiques. Cette évaluation nécessite la mise en place d'un protocole standardisé

permettant par exemple d'évaluer l'effort de capture (e.g. nombre de nasses, durée de pêche) afin d'avoir des chroniques comparables sur des durées significatives.

Taux de dispersion

Nous montrons que des mares peuvent échanger des individus autour de la LGV. Ces échanges ont varié entre les secteurs. Aucun échange n'étant observé à « Lombron » et « Le Pertre ». Pour Chantenay-Villedieu, ces échanges représentaient 3,7 % des Tritons crêtés recapturés. Pour Beaulieu-sur-Oudon, 9 % des Tritons crêtés, 17,7 % des Tritons marbrés et 5,6 % des Tritons alpestres recapturés ont changé de mare. Pour Brielles, 12,6 % des Tritons crêtés, 10 % des Tritons marbrés et 11,8 % des Tritons alpestres recapturés ont changé de mare. Une grande variabilité a déjà été observée en fonction des espèces, même entre espèces très proches et au sein même des espèces (par exemple pour le Triton crêté de 0 % à 59 % (Denoël *et al.*, 2018; Kupfer and Kneitz, 2000; Unglaub *et al.*, 2015). Une étude bibliographique récente a trouvé 22 études qui ont mesuré des taux d'émigration publiés entre 1978 et 2018 (Cayuela *et al.*, 2020). Le taux d'émigration y était similaire entre les Anoures et Urodèles, avec une moyenne de $16 \pm 14\%$ et $13 \pm 16\%$.

Distance parcourue

Nous avons remarqué que pour les trois secteurs qui ont permis d'observer des échanges entre mares, ces échanges ont eu lieu entre mares proches avec une distance inférieure à 100 m (100% à Chantenay-Villedieu ; 93% à Beaulieu-sur-Oudon ; 97% à Brielles), Ces échanges ont autant eu lieu en intra-annuel et en inter-annuel avec également des individus se déplaçant sur les deux périodes. Les distances maximales ont été de 330 m pour le Triton alpestre, 220 m pour le Triton marbré et 200 m pour le Triton crêté et ont tous eu lieu en périodes inter-annuelles. Ces distances maximales sont dépendantes de la taille des secteurs étudiés (Smith and Green, 2005), et par la diminution de la probabilité de recapture d'un individu qui disperse à longue distance (Courbe leptokurtique ; Cayuela *et al.*, 2020). D'autres études ont mis en évidence une dispersion également plus élevée entre mares proches (Cayuela *et al.*, 2018a). Néanmoins les adultes de Tritons crêtés sont connus pour disperser jusqu'à plus d'1 km par an (Jehle and Arntzen, 2000) avec un maximum observé de 1600 m (Haubrock and Altrichter, 2016).

Suivis des juvéniles de Tritons crêtés

Les juvéniles sont souvent difficiles à suivre et à marquer (Petrovan and Schmidt, 2019; Sinsch, 1997). Dans cette étude nous avons capturé des juvéniles de Triton crêté pour essayer de mesurer la dispersion juvénile dans tous les secteurs. Au total, 260 juvéniles ont été marqués. Les secteurs de Lombron (N = 16) et Chantenay-Villedieu (N = 44) n'ont pas permis de recapturer des individus. Les secteurs du Pertre (N = 9) et de Brielles (N = 61) ont permis de recapturer respectivement 1 et 4 juvéniles sans observer de changement de mare. Le secteur de Beaulieu-sur-Oudon (N = 130) a permis de recapturer 42 individus, soit un taux de recapture de 32 % (inférieur de 12 % par rapport à la population totale de Tritons crêtés). Seuls 3 individus (7 % des juvéniles recapturés) ont changé de mare (de « E » vers « F » ; de « F » vers « E » ; de « E » vers « D » puis de « D » vers « E ») en parcourant moins de 100 m de distance alors qu'il a été montré que les juvéniles peuvent parcourir jusqu'à 860 m (Kupfer and Kneitz, 2000).

Paramètres influençant l'efficacité des mares de compensation

Habitats et caractéristiques des mares

Les mares compensatoires les moins colonisées des différents secteurs étaient soit des mares très peu ou pas végétalisées (exemple : mare « B » de Lombron), soit sujettes à des assèchements fréquents (exemple mare « C » à « Chantenay-Villedieu »).

Au contraire les mares les plus colonisées étaient souvent des mares très proches des mares historiques (Mare « B » à Chantenay-Villedieu, mares « E » et « F » à Beaulieu-sur-Oudon), ou creusées à proximité immédiate d'autres mares compensatoires (mares « E » et « F » à Beaulieu-sur-Oudon, mares « D », « E », « F » et « G » à Brielles). Pour Lesbarrères et al., (2010), la surface, la profondeur et l'exposition au soleil des étangs et le nombre de strates de végétation étaient parmi les caractéristiques les plus importantes de l'habitat, expliquant à la fois la richesse et la diversité des espèces d'amphibiens, mais nous n'avons pas étudié ces caractéristiques ici.

Variations météorologiques entre les années

Des fluctuations en lien avec des années sèches ou humides peuvent perturber les suivis, comme lors de l'année 2017 qui fut très sèche ou l'année 2018 très humide. Un

minimum de 5-6 ans de données de recensement semble nécessaire pour une évaluation significative des projets de restauration (Arntzen and Teunis, 1993).

Variations entre espèces

Historiquement, les Tritons crêtés et marbrés ont été fortement étudiés en Mayenne car c'est l'une des plus importantes zones de sympatrie en France (Arntzen *et al.*, 2018; Lescure and de Massary, 2012). Leurs traits écologiques sont assez différents, le Triton crêté étant plus aquatique (Arntzen and Wallis, 1991; Cogălniceanu *et al.*, 2020; Jehle *et al.*, 2000). Le Triton marbré saute régulièrement les occasions de reproduction (Cogălniceanu *et al.*, 2020; Guerin, 2017; Visser *et al.*, 2017). Les refuges terrestres semblent particulièrement importants pour le Triton marbré avec sa période juvénile relativement longue et la longue phase terrestre annuelle des adultes (Arntzen and Wallis, 1991; Francillon-Vieillot *et al.*, 1990; Schoorl and Zuiderwijk, 1981). Compte tenu de la forte dégradation des paysages dans la région, le Triton marbré est en régression au profit du Triton crêté (Arntzen *et al.*, 2017). Il sera important de suivre l'évolution de la colonisation du Triton marbré le long de la LGV pour éviter une future disparition de l'espèce dans les paysages autour de la LGV en apportant des améliorations des habitats environnant, des habitats supplémentaires pouvant devenir nécessaires en cas de chute des populations.

La présence et l'abondance d'hétéro-spécificités au sein d'une même guildes écologique, et/ou leur succès de reproduction, la condition physique des congénères peuvent fournir une "information publique" qui influence la décision des individus de disperser ou non (Cayuela *et al.*, 2018a; Danchin *et al.*, 2004; Valone and Templeton, 2002). Les individus d'autres espèces peuvent générer des informations précieuses qui pourraient être utilisées pendant le processus de dispersion et colonisation (Cayuela *et al.*, 2018a; Mönkkönen *et al.*, 1999; Schmidt *et al.*, 2010; Seppänen *et al.*, 2007). La dispersion éclairée à l'aide d'informations provenant d'hétéro-spécifiques a été négligée jusqu'à présent (Cayuela *et al.*, 2018a). Il a par exemple été montré que la répartition du Triton crêté est liée à la densité variable de deux autres espèces de triton, le Triton alpestre et le Triton palmé (Cayuela *et al.*, 2018a). D'un autre côté, il a été montré expérimentalement que le risque de prédation lié aux poissons induisait une dispersion (de reproduction) chez le Triton alpestre (Winandy *et al.*, 2017). Cela pourrait être également le cas avec le Triton crêté que nous avons observé en cours de prédation sur des Tritons palmés ou dans de rares cas, en cours de cannibalisme sur

des juvéniles de Tritons crêtés. Cela pourrait conduire à des stratégies de colonisation différentes entre les deux espèces : les Tritons crêtés pourraient chercher à se reproduire dans des mares avec une forte densité de Tritons alpestres, alors que les Tritons alpestres chercheraient à éviter les Tritons crêtés. Cet évitement pourrait expliquer les différences de répartition des deux espèces dans le secteur du Pertre (plus forte densité de Tritons alpestres dans la mare « D » avec peu de Tritons crêtés) et à Beaulieu-sur-Oudon (forte densité de Tritons alpestres dans les mares « G », « H » et « I » peu colonisées par le Triton crêté).

Évitement de la prédation par les juvéniles

Pour le Triton crêté, il semble y avoir une absence de stratégie de prévention de la concurrence et de la prédation au stade larvaire. En effet, les tritons n'évitent pas les mares à forte densité d'hétéro-spécifiques pour limiter les effets néfastes de la compétition interspécifique sur le développement et la survie des larves (Cayuela *et al.*, 2018a). Néanmoins la mare « D » à Beaulieu-sur-Oudon nous informe d'un évitement potentiel de la compétition ou de la prédation par les juvéniles : cette mare s'assèche chaque année, et est la seule mare à avoir eu plus de juvéniles capturés que d'adultes. Elle peut fournir un lieu de vie et des ressources pour des non-reproducteurs. Ces deux voisines les mares « E » et « F » sont à l'inverse quasiment toujours en eau et bien végétalisées. Elles sont donc très favorables à des succès de reproduction.

Dispersion natale VS dispersion de reproduction

Il a été postulé que la dispersion natale représente une proportion plus élevée de la dispersion que la dispersion de reproduction (Gill, 1978; Hamilton and May, 1977; Pittman *et al.*, 2014; Semlitsch, 2008). Les preuves empiriques suggèrent que ce n'est pas toujours le cas (Cayuela *et al.*, 2020). Nos résultats iraient dans ce dernier sens même si nous ne pouvons pas réellement tester cette hypothèse du fait de notre faible nombre d'individus recapturés qui diminue la fiabilité de nos résultats.

Évaluation des mesures de réduction

Historiquement, l'évaluation des mesures de réduction s'est surtout intéressée à la diminution de la mortalité et à l'utilisation des tunnels (Hamer *et al.*, 2014; Lesbarrères and Fahrig, 2012; van der Ree *et al.*, 2007, 2015). Seules, ces études ne sont pas suffisantes pour

évaluer l'efficacité de ces mesures van der Ree *et al.*, (2007). Sur les cinq secteurs étudiés le long de la LGV, deux types de mesures de réduction ont été mises en place :

- La construction de passages à faune, dont des batrachoducs construits spécifiquement pour la communauté des amphibiens du secteur.
- Le creusement de mares relais à proximité immédiate de batrachoducs afin d'en améliorer l'attractivité.

Échange avec franchissement de la LGV

Nous montrons que des mares échangeaient des individus nécessitant le franchissement de la LGV dans au moins trois secteurs. Ces échanges représentent seulement de 0 à 2,9 % des individus recapturés. À Chantenay-Villedieu, 4 Tritons crêtés sur les 12 individus qui ont changé de mare, ont été observés des deux côtés du tunnel inondé en « I » et « J ». À Beaulieu-sur-Oudon, où un Triton de Blasius, un Triton marbré sur les 14 individus qui ont changé de mare, et deux Tritons crêtés sur les 41 individus qui ont changé de mare, ont été capturés dans la mare déplacée « A » et dans les mares compensatoires « E » et « F ». À Brielles, un Triton alpestre sur les 4 individus qui ont changé de mare, a été capturé dans la mare compensatoire « G » puis dans la mare historique modifiée « A ».

Tous les franchissements de la LGV ont eu lieu entre mares à moins de 100 m avec la présence de passages à faune à proximité. Il est probable que ces tunnels aient servi de passage pour les individus pour franchir la LGV compte tenu des clôtures à petite faune installées le long de la LGV. Ces clôtures ne semblent pas être complètement efficaces pour stopper les amphibiens qui peuvent les escalader. De plus, leur fragilité entraîne la présence de trous dans lesquels les amphibiens peuvent se faufiler (Antonin, Conan com. pers.). La fréquence des passages est faible, mais la fréquence d'échanges entre mares distantes de 100m d'un même côté de la LGV est faible également. Les faibles effectifs des individus réalisant ces échanges rendent difficile l'élaboration de modèles de CMR pour comparer ces échanges, les modèles de Lagrange pourraient être les plus adaptés (Cayuela *et al.*, 2018b; Lagrange *et al.*, 2014). À Beaulieu-sur-Oudon nous avons observé un échange pour chacune des espèces avec franchissement de la route départementale non clôturée sur une distance de 200 m.

Mares relais

Quand les mares disponibles pour la reproduction des amphibiens étaient éloignées des passages à faune, des mares relais ont été creusées. Dans les 3 secteurs où elles étaient présentes, aucun triton marqué n'a été recapturé dans d'autres mares (de compensation ou historique). Cela ne nous permet pas de conclure si les mares relais ont permis à des individus de réaliser une étape lors de migration ou lors de dispersion. Néanmoins elles ont été colonisées par différentes espèces et certaines d'entre elles les ont utilisées comme lieux importants de reproduction. C'est le cas des Salamandres tachetées et Grenouilles agiles à Chantenay-Villedieu dans les mares relais « G » et « H ». L'utilisation de ces mares relais contrairement à la mare compensatoire « D » de l'autre côté de la LGV pourrait indiquer une difficulté à franchir des longs tunnels autour de 40 m de long comme ceux présents à proximité des deux mares relais (voir chapitre 2).

5. Conclusion

En 2019, plus de cinq ans après le début des travaux et les premières destructions de mares, la diversité des espèces a pu être maintenue dans les cinq secteurs étudiés. Le critère de Denton (Denton *et al.*, 1997) ne semblait néanmoins pas adapté pour évaluer le succès individuel des différentes mares car il faudrait un suivi à plus long terme et encore plus précis pour obtenir tous les critères.

Nous proposons une évaluation différente basée sur la densité d'individus et sur la connectivité entre les différentes mares pour évaluer le succès des mares de compensation. Grâce à ces deux critères, nous montrons que certaines mares de compensation ont fourni un habitat approprié pour la reproduction de nombreuses espèces, alors que d'autres non. Ce constat a également été observé dans une étude comparable à la nôtre (Lesbarrères *et al.*, 2010). La colonisation des mares a varié en fonction de la proximité avec des mares historiques dont la destruction a pu être évitée à moins de 100 m, des caractéristiques des mares, des conditions météorologiques inter-annuelles, et des espèces.

Nos résultats semblent montrer un évitement de la prédation chez des juvéniles de Tritons crêtés qui pourrait aller dans des mares moins colonisées par les adultes contrairement à une autre étude (Cayuela *et al.*, 2018a). nos résultats montre également

une plus importante dispersion de reproduction par rapport à la reproduction juvénile pour le Triton crêté (Cayuela *et al.*, 2020). La présence et l'abondance d'hétéro-spécificités pourrait fournir une "information publique" qui influence la colonisation (Cayuela *et al.*, 2018a; Danchin *et al.*, 2004; Valone and Templeton, 2002)

Nous montrons que des suivis par CMR permettent de mettre en évidence des déplacements avec franchissements des ILTs, même pour des espèces très fidèles à leurs sites de reproduction. La mise en place d'un tunnel inondé, en lieu et place d'une mare détruite peut permettre la reproduction d'individus et des échanges de part et d'autre de la LGV comme ce fut observé à Chantenay-Villedieu.

Nous montrons qu'il y a quasiment autant de dispersion à moins de 100 m entre mares proches en intra-annuel qu'en inter-annuel, alors que les dispersions plus lointaines ont quasi-toutes (sauf 1 Triton crêté mâle) été observées en inter-annuel comme ce fut déjà observé chez le Triton crêté (Cayuela *et al.*, 2018a). Tout les franchissements de la LGV ont eu lieu entre mares à moins de 100 m avec la présence de passages à faune à proximité. Nous considérons donc qu'il est crucial que les passages à faune et tout particulièrement les batrachoducs soient construits à proximité immédiate des mares historiques et/ou des mares de compensation et qu'un réseau de mares soit creusé afin d'améliorer la connectivité des secteurs étudiés. Les mares relais peuvent accueillir plus d'individus que certaines mares compensatoires et il serait intéressant de leur donner un double rôle de compensation et de réduction.

A l'heure actuelle, il reste encore difficile de faire le lien entre les résultats du type de ceux que nous avons obtenus (comportement de franchissement des tunnels, fréquentation et échanges entre les différentes mares) et la dynamique des populations locales des espèces étudiées, et donc d'autant plus de leur viabilité. On peut seulement dire que la fréquentation des tunnels permet la dispersion (et donc réduit l'effet de fragmentation du paysage engendré par la LGV) et que les mares relais et compensation sont utilisées, ce qui concourt (sous réserve d'une réussite de la reproduction) à la dynamique des populations locales.

Les méthodes de marquage-capture-recapture et les études de génétiques des populations, sur le long terme et/ou lors de la mise en place de suivis de type BACI (Before

After Control Impact) sont des suivis à long terme, complexes et coûteux (Matos *et al.*, 2019). Le développement de méthodes de suivi allégés des tendances des populations avec l'utilisation de modèles d'occupation (MacKenzie and Nichols, 2004), la détection des espèces avec l'ADNe (Ficetola *et al.*, 2008) et la baisse des coûts des analyses génétiques devraient permettre la généralisation de leur utilisation, au profit de meilleures évaluations.

Bibliographie

- Abbott, K.C. (2011). A dispersal-induced paradox: synchrony and stability in stochastic metapopulations. *Ecology Letters* 14, 1158–1169.
- Aresco, M.J. (2005). Mitigation Measures to Reduce Highway Mortality of Turtles and Other Herpetofauna at a North Florida Lake. *The Journal of Wildlife Management* 69, 549–560.
- Arntzen, J.W., and Teunis, S.F.M. (1993). A six year study on the population dynamics of the crested newt (*Triturus cristatus*) following the colonization of a newly created pond. *Herpetological Journal* 3, 99–110.
- Arntzen, J.W., and Wallis, G.P. (1991). Restricted Gene Flow in a Moving Hybrid Zone of the Newts *Triturus cristatus* and *T. marmoratus* in Western France. *Evolution* 45, 805–826.
- Arntzen, J.W., Abrahams, C., Meilink, W.R., Iosif, R., and Zuiderwijk, A. (2017). Amphibian decline, pond loss and reduced population connectivity under agricultural intensification over a 38 year period. *Biodiversity and Conservation* 26, 1411–1430.
- Arntzen, J.W., Üzümlü, N., Ajduković, M.D., Ivanović, A., and Wielstra, B. (2018). Absence of heterosis in hybrid crested newts. *PeerJ* 6, e5317.
- Baguette, M., and Dyck, H.V. (2007). Landscape connectivity and animal behavior: functional grain as a key determinant for dispersal. *Landscape Ecol* 22, 1117–1129.
- Bowler, D.E., and Benton, T.G. (2005). Causes and consequences of animal dispersal strategies: relating individual behaviour to spatial dynamics. *Biological Reviews* 80, 205–225.
- Brown, J.H., and Kodric-Brown, A. (1977). Turnover Rates in Insular Biogeography: Effect of Immigration on Extinction. *Ecology* 58, 445–449.
- Budzik, K.A., and Budzik, K.M. (2014). A preliminary report of amphibian mortality patterns on railways. *Acta Herpetologica* 9, 103–107.
- Carsignol, J. (2012). Des passages à gibier à la Trame Verte et Bleue : 50 ans d'évolution pour atténuer la fragmentation des milieux naturels en France. *natcan* 136, 76–82.
- Cayuela, H., Grolet, O., and Joly, P. (2018a). Context-dependent dispersal, public information, and heterospecific attraction in newts. *Oecologia* 188, 1069–1080.
- Cayuela, H., Pradel, R., Joly, P., Bonnaire, E., and Besnard, A. (2018b). Estimating dispersal in spatiotemporally variable environments using multievent capture–recapture modeling. *Ecology* 99, 1150–1163.
- Cayuela, H., Bonnaire, É., Astruc, G., and Besnard, A. (2019). Transport infrastructure severely impacts amphibian dispersal regardless of life stage. *Sci Rep* 9, 1–10.
- Cayuela, H., Valenzuela-Sánchez, A., Teulier, L., Martínez-Solano, Í., Léna, J.-P., Merilä, J., Muths, E., Shine, R., Quay, L., Denoël, M., *et al.* (2020). Determinants and Consequences of Dispersal in

- Vertebrates with Complex Life Cycles: A Review of Pond-Breeding Amphibians. *The Quarterly Review of Biology* 95, 1–36.
- Clevenger, A.P., Chruszcz, B., and Gunson, K.E. (2003). Spatial patterns and factors influencing small vertebrate fauna road-kill aggregations. *Biological Conservation* 109, 15–26.
- Clobert, J., Galliard, J.-F.L., Cote, J., Meylan, S., and Massot, M. (2009). Informed dispersal, heterogeneity in animal dispersal syndromes and the dynamics of spatially structured populations. *Ecology Letters* 12, 197–209.
- Cogălniceanu, D., Stănescu, F., and Arntzen, J.W. (2020). Testing the hybrid superiority hypothesis in crested and marbled newts. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 58, 275–283.
- Colino-Rabanal, V.J., and Lizana, M. (2012). Herpetofauna and roads: a review. *Basic and Applied Herpetology* 26, 5–31.
- Danchin, É., Giraldeau, L.-A., Valone, T.J., and Wagner, R.H. (2004). Public Information: From Nosy Neighbors to Cultural Evolution. *Science* 305, 487–491.
- D’Anunção, P.E.R., Lucas, P.S., Silva, V.X., and Bager, A. (2013). Road ecology and Neotropical amphibians: contributions for future studies. *Acta Herpetologica* 8, 129–140.
- Denoël, M., Dalleur, S., Langrand, E., Besnard, A., and Cayuela, H. (2018). Dispersal and alternative breeding site fidelity strategies in an amphibian. *Ecography* 41, 1543–1555.
- Denton, J.S., Hitchings, S.P., Beebee, T.J.C., and Gent, A. (1997). A Recovery Program for the Natterjack Toad (*Bufo calamita*) in Britain. *Conservation Biology* 11, 1329–1338.
- Dingle, H., and Drake, V.A. (2007). What Is Migration? *BioScience* 57, 113–121.
- Dodd, K.C.J., Barichivich, W.J., and Smith, L.L. (2004). Effectiveness of a barrier wall and culverts in reducing wildlife mortality on a heavily traveled highway in Florida. *Biological Conservation* 118, 619–631.
- Fahrig, L., and Rytwinski, T. (2009). Effects of Roads on Animal Abundance: an Empirical Review and Synthesis. *Ecology and Society* 14.
- Fahrig, L., Pedlar, J.H., Pope, S.E., Taylor, P.D., and Wegner, J.F. (1995). Effect of road traffic on amphibian density. *Biological Conservation* 73, 177–182.
- Ficetola, G.F., Miaud, C., Pompanon, F., and Taberlet, P. (2008). Species detection using environmental DNA from water samples. *Biology Letters* 4, 423–425.
- Forman, R.T.T. (2003). *Road Ecology: Science and Solutions* (Island Press).
- Forman, R.T.T., and Alexander, L.E. (1998). Roads and Their Major Ecological Effects. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29, 207–231.
- Francillon-Vieillot, H., Arntzen, J.W., and Géraudie, J. (1990). Age, Growth and Longevity of Sympatric *Triturus cristatus*, *T. marmoratus* and Their Hybrids (Amphibia, Urodela): A Skeletochronological Comparison. *Journal of Herpetology* 24, 13–22.
- Gill, D.E. (1978). The Metapopulation Ecology of the Red-Spotted Newt, *Notophthalmus viridescens* (Rafinesque). *Ecological Monographs* 48, 145–166.
- Glista, D.J., DeVault, T.L., and DeWoody, J.A. (2009). A review of mitigation measures for reducing wildlife mortality on roadways. *Landscape and Urban Planning* 91, 1–7.
- Greenwood, P.J., and Harvey, P.H. (1982). The Natal and Breeding Dispersal of Birds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13, 1–21.

- Guerin, S. (2017). Méthodes d'étude et modélisation de la dynamique de population du Triton marbré dans le cadre du projet de construction d'une infrastructure de grande ampleur en zone bocagère dans l'ouest de la France. These de doctorat. Paris Sciences et Lettres.
- Hamer, A.J. (2016). Accessible habitat delineated by a highway predicts landscape-scale effects of habitat loss in an amphibian community. *Landsc. Ecol.* 31, 2259–2274.
- Hamer, A.J., van der Ree, R., Mahony, M.J., and Langton, T. (2014). Usage rates of an under-road tunnel by three Australian frog species: implications for road mitigation. *Anim Conserv* 17, 379–387.
- Hamilton, W.D., and May, R.M. (1977). Dispersal in stable habitats. *Nature* 269, 578–581.
- Hanski, I. (1999). *Metapopulation ecology* (Oxford University Press).
- Hanski, I., and Gilpin, M. (1991). Metapopulation dynamics: brief history and conceptual domain. *Biol J Linn Soc* 42, 3–16.
- Haubrock, P.J., and Altrichter, J. (2016). Northern crested newt (*Triturus cristatus*) migration in a nature reserve: multiple incidents of breeding season displacements exceeding 1km. *The Herpetological Bulletin* 138, 31–33.
- Jackson, S.D. (1999). Overview of transportation related wildlife problems. In *Proceedings of the International Conference on Wildlife Ecology and Transportation*. State of Florida Department of Transportation, Tallahassee, Florida. FL-ER-73-99, pp. 1–4.
- Jarvis, L.E., Hartup, M., and Petrovan, S.O. (2019). Road mitigation using tunnels and fences promotes site connectivity and population expansion for a protected amphibian. *Eur J Wildl Res* 65, 27.
- Jehle, R., and Arntzen, J.W. (2000). Post-breeding migrations of newts (*Triturus cristatus* and *T. marmoratus*) with contrasting ecological requirements. *Journal of Zoology* 251, 297–306.
- Jehle, R., Bouma, P., Sztatecsny, M., and Arntzen, J.W. (2000). High aquatic niche overlap in the newts *Triturus cristatus* and *T. marmoratus* (Amphibia, Urodela). *Hydrobiologia* 437, 149–155.
- Joly, P. (2019). Behavior in a changing landscape: Using movement ecology to inform the conservation of pond-breeding amphibians. *Front. Ecol. Evol.* 7.
- Joly, P., Miaud, C., Lehmann, A., and Grolet, O. (2001). Habitat matrix effects on pond occupancy in newts. *Conserv. Biol.* 15, 239–248.
- Kupfer, A., and Kneitz, S. (2000). Population ecology of the great crested newt (*Triturus cristatus*) in an agricultural landscape: dynamics, pond fidelity and dispersal. *Herpetological Journal* 10, 165–171.
- Lagrange, P., Pradel, R., Bélisle, M., and Gimenez, O. (2014). Estimating dispersal among numerous sites using capture–recapture data. *Ecology* 95, 2316–2323.
- Law, B.S., and Dickman, C.R. (1998). The use of habitat mosaics by terrestrial vertebrate fauna: implications for conservation and management. *Biodiversity and Conservation* 7, 323–333.
- Lesbarrères, D., and Fahrig, L. (2012). Measures to reduce population fragmentation by roads: what has worked and how do we know? *Trends in Ecology & Evolution* 27, 374–380.
- Lesbarrères, D., Lodé, T., and Merilä, J. (2004). What type of amphibian tunnel could reduce road kills? *Oryx* 38, 220–223.
- Lesbarrères, D., Fowler, M.S., Pagano, A., and Lodé, T. (2010). Recovery of anuran community diversity following habitat replacement. *Journal of Applied Ecology* 47, 148–156.

- Lescure, J., and de Massary, J.-C. (2012). Atlas des amphibiens et reptiles de France (Biotope: Muséum national d'histoire naturelle).
- Liebhold, A., Koenig, W.D., and Bjørnstad, O.N. (2004). Spatial Synchrony in Population Dynamics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 35, 467–490.
- MacKenzie, D.I., and Nichols, J.D. (2004). Occupancy as a surrogate for abundance estimation.
- Maes, D., and Bonte, D. (2006). Using distribution patterns of five threatened invertebrates in a highly fragmented dune landscape to develop a multispecies conservation approach. *Biological Conservation* 133, 490–499.
- Matos, C., Petrovan, S.O., Wheeler, P.M., and Ward, A.I. (2018). Short-term movements and behaviour govern the use of road mitigation measures by a protected amphibian. *Animal Conservation* 22, 285–296.
- Matos, C., Petrovan, S.O., Wheeler, P.M., and Ward, A.I. (2019). Landscape connectivity and spatial prioritization in an urbanising world: A network analysis approach for a threatened amphibian. *Biological Conservation* 237, 238–247.
- Matthysen, E. (2012). Multicausality of dispersal: a review. *Dispersal Ecology and Evolution* 27, 3–18.
- Miaud, C. (2014). Protocole d'hygiène pour le contrôle des maladies des amphibiens dans la nature à destination des opérateurs de terrain.
- Miaud, C., Guyétant, R., and Faber, H. (2000). Age, Size, and Growth of the Alpine Newt, *Triturus alpestris* (Urodela: Salamandridae), at High Altitude and a Review of Life-History Trait Variation throughout Its Range. *Herpetologica* 56, 135–144.
- Mönkkönen, M., Härdling, R., Forsman, J.T., and Tuomi, J. (1999). Evolution of heterospecific attraction: using other species as cues in habitat selection. *Evolutionary Ecology* 13, 93–106.
- Niemi, M., Jääskeläinen, N.C., Nummi, P., Mäkelä, T., and Norrdahl, K. (2014). Dry paths effectively reduce road mortality of small and medium-sized terrestrial vertebrates. *J. Environ. Manage.* 144, 51–57.
- Patrick, D.A., Schalk, C.M., Gibbs, J.P., and Woltz, H.W. (2010). Effective culvert placement and design to facilitate passage of amphibians across roads. *Journal of Herpetology* 44, 618–626.
- Perret, N., and Joly, P. (2002). Impacts of Tattooing and Pit-Tagging on Survival and Fecundity in the Alpine Newt (*Triturus alpestris*). *Herpetologica* 58, 131–138.
- Perret, N., Pradel, R., Miaud, C., Grolet, O., and Joly, P. (2003). Transience, dispersal and survival rates in newt patchy populations. *Journal of Animal Ecology* 72, 567–575.
- Petranka, J.W., Kennedy, C.A., and Murray, S.S. (2003). Response of amphibians to restoration of a southern appalachian wetland: a long-term analysis of community dynamics. *Wetlands* 23, 1030–1042.
- Petrovan, S.O., and Schmidt, B.R. (2019). Neglected juveniles; a call for integrating all amphibian life stages in assessments of mitigation success (and how to do it). *Biological Conservation* 236, 252–260.
- 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.
- Popp, J.N., and Boyle, S.P. (2016). Railway ecology: Underrepresented in science? *Basic and Applied Ecology* 19, 84–93.
- Puky, M., Farkas, J., and Ronkay, M.T. (2007). Use of existing mitigation measures by amphibians, reptiles, and small to medium-size mammals in Hungary: Crossing structures can function as multiple species-oriented measures. Road Ecology Center.

- Pullin, A.S., Knight, T.M., Stone, D.A., and Charman, K. (2004). Do conservation managers use scientific evidence to support their decision-making? *Biological Conservation* 119, 245–252.
- van der Ree, R., Gulle, N., Holland, K., Grift, E. van der, Mata, C., and Suarez, F. (2007). Overcoming the Barrier Effect of Roads-How Effective Are Mitigation Strategies? Road Ecology Center.
- van der Ree, R., Heinze, D., McCarthy, M., and Mansergh, I. (2009). Wildlife Tunnel Enhances Population Viability. *Ecology and Society* 14.
- van der Ree, R., Jaeger, J.A.G., van der Grift, E.A., Clevenger, A.P., van der Ree, R., Jaeger, J.A.G., van der Grift, E.A., and Clevenger, A.P. (2011). Effects of roads and traffic on wildlife populations and landscape function: Road ecology is moving toward larger scales. *Ecology and Society* 16, 48–57.
- van der Ree, R., Jaeger, J.A., Rytwinski, T., and van der Grift, E.A. (2015). Good science and experimentation are needed in road ecology. *Handbook of Road Ecology* 71.
- Reed, D.H., O’Grady, J.J., Brook, B.W., Ballou, J.D., and Frankham, R. (2003). Estimates of minimum viable population sizes for vertebrates and factors influencing those estimates. *Biological Conservation* 113, 23–34.
- 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.
- 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. *Conserv Genet* 12, 161–173.
- Schmidt, B.R., and Zumbach, S. (2008). Amphibian Road Mortality and How to Prevent It: A Review. In *Urban Herpetology*, J.C. Mitchell, R.E. Jung Brown, and B. Bartolomew, eds. (St. Louis, Missouri: University of Zurich), pp. 157–167.
- Schmidt, K.A., Dall, S.R.X., and Gils, J.A.V. (2010). The ecology of information: an overview on the ecological significance of making informed decisions. *Oikos* 119, 304–316.
- Schoorl, J., and Zuiderwijk, A. (1981). Ecological isolation in *Triturus cristatus* and *Triturus marmoratus* (Amphibia : Salamandridae). *Amphibia-Reptilia* 1, 235–252.
- Semlitsch, R.D. (2002). Critical Elements for Biologically Based Recovery Plans of Aquatic-Breeding Amphibians. *Conservation Biology* 16, 619–629.
- Semlitsch, R.D. (2008). Differentiating Migration and Dispersal Processes for Pond-Breeding Amphibians. *Journal of Wildlife Management* 72, 260–267.
- Seppänen, J.-T., Forsman, J.T., Mönkkönen, M., and Thomson, R.L. (2007). Social Information Use Is a Process Across Time, Space, and Ecology, Reaching Heterospecifics. *Ecology* 88, 1622–1633.
- Sinsch, U. (1997). Postmetamorphic dispersal and recruitment of first breeders in a *Bufo calamita* metapopulation. *Oecologia* 112, 42–47.
- Sinsch, U. (2014). Movement ecology of amphibians: from individual migratory behaviour to spatially structured populations in heterogeneous landscapes. *Can. J. Zool.* 92, 491–502.
- Smith, M.A., and Green, D.M. (2005). Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: are all amphibian populations metapopulations? *Ecography* 28, 110–128.
- Speare, R., Berger, L., Skerratt, L.F., Alford, R., Mendez, D., Cashins, S., Kenyon, N., Hauselberger, K., and Rowley, J. (2004). Hygiene protocol for handling amphibians in field studies. Unpublished Report by the Amphibian Diseases Group, James Cook University, Townsville 4811.

- Testud, G., and Miaud, C. (2018). From effects of linear transport infrastructures on amphibians to mitigation measures. *Reptiles and Amphibians*.
- Testud, G., Vergnes, A., Cordier, P., Labarraque, D., and Miaud, C. (2019). Automatic detection of small PIT-tagged animals using wildlife crossings. *Animal Biotelemetry* 7, 21.
- Trombulak, S.C., and Frissell, C.A. (2000). Review of ecological effects of roads on terrestrial and aquatic communities. *Conservation Biology* 14, 18–30.
- Unglaub, B., Steinfartz, S., Drechsler, A., and Schmidt, B.R. (2015). Linking habitat suitability to demography in a pond-breeding amphibian. *Frontiers in Zoology* 12, 9.
- Valone, T.J., and Templeton, J.J. (2002). Public information for the assessment of quality: a widespread social phenomenon. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 357, 1549–1557.
- Vasconcelos, D., and Calhoun, A.J.K. (2006). Monitoring created seasonal pools for functional success: A six-year case study of amphibian responses, Sears Island, Maine, USA. *Wetlands* 26, 992–1003.
- Visser, M., Leeuw, M. de, Zuiderwijk, A., and Arntzen, J.W. (2017). Stabilization of a salamander moving hybrid zone. *Ecology and Evolution* 7, 689–696.
- Winandy, L., Legrand, P., and Denoël, M. (2017). Habitat selection and reproduction of newts in networks of fish and fishless aquatic patches. *Animal Behaviour* 123, 107–115.
- Woltz, H.W., Gibbs, J.P., and Ducey, P.K. (2008). Road crossing structures for amphibians and reptiles: Informing design through behavioral analysis. *Biological Conservation* 141, 2745–2750.

Tables

Localité	Nombre de mare	Espèce	Individus capturés	Individus recapturés	Individus dispersant	Franchissement de la LGV
Lombron	2	<i>Triturus</i>	184	40,00	0	0
		<i>crystatus</i>	(+7)	22%	0%	0%
Chantenay-Villedieu	9 *	<i>Triturus</i>	906	322	12	4
		<i>crystatus</i>	(+82)	36%	3.7%	1.2%
		<i>Triturus</i>	1026	454	41	2
		<i>crystatus</i>	(+65)	44%	9%	0.4%
Beaulieu sur Oudon	12	<i>Triturus</i>	236	79	14	1
		<i>marmoratus</i>	(+24)	33%	17.7%	1.3%
		<i>Ichtyosaura</i>	816	231	13	0
		<i>alpestris</i>	(+72)	28%	5.6%	0%
		<i>Triturus</i>	85	32	0	0
		<i>crystatus</i>	(+16)	38%	0%	0%
Le Pertre	4	<i>Triturus</i>	60	23	0	0
		<i>marmoratus</i>	(+1)	38%	0%	0%
		<i>Ichtyosaura</i>	84	23	0	0
		<i>alpestris</i>	(+10)	27%	0%	0%
		<i>Triturus</i>	660	222	28	0
		<i>crystatus</i>	(+198)	34%	12.6%	0%
Brielles	9	<i>Triturus</i>	139	40	4	0
		<i>marmoratus</i>	(+22)	29%	10%	0%
		<i>Ichtyosaura</i>	192	34	4	1
		<i>alpestris</i>	(+84)	18%	11.8%	2.9%

Table 1 : Effectifs des individus capturés et recapturés par secteur et espèce et proportion d'individus dispersant parmi les individus recapturés. *Un tunnel immergé à été considérés à ces deux extrémités comme deux mares temporaires au vu de leur colonisations par les différentes espèces.

		Chantenay										
Déplacements entre mares	Inter vs intra annuel	année	<i>Triturus marmoratus</i>		<i>Triturus X blasii</i>		<i>Ichthyosaura alpestris</i>		<i>Triturus cristatus</i>			Total
			Mâle	femelle	Mâle	femelle	Mâle	femelle	Mâle	femelle	Juvenile	
A <-> B	inter	2017/2018							2	0	0	5
		2018/2019							2	1	0	
	Intra	2019							3	0	0	3
I <-> J	inter	2018/2019							2	1	0	3
		Intra	2019							0	1	0
Total			0	0	0	0	0	0	9	3	0	12

Table 2 : Tableau récapitulatifs des changements de mares à Chantenay en intra et inter-annuels en fonction des années, du sexe et de l'âge des Tritons crêtés

		Beaulieu-sur-Oudon										
Déplacements entre mares	Inter vs intra annuel	année	<i>Triturus marmoratus</i>		<i>Triturus X blasii</i>		<i>Ichthyosaura alpestris</i>		<i>Triturus cristatus</i>			Total
			Mâle	femelle	Mâle	femelle	Mâle	femelle	Mâle	femelle	Juvenile	
A <-> D, E, F	inter	2017/2018	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3
		2017/2019	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
		2018/2019	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	intra et inter	2017 2017/2018	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
A ->B	inter	2018/2019	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
D, E, F <-> G, H, I, J	inter	2018/2019	1	0	0	0	1	0	0	0	0	2
	intra	2017	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
G <-> H <-> I <-> J	inter	2017/2018	0	0	0	0	5	0	0	0	0	6
		2018/2019	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	intra	2017	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
		2018	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
K -> C	inter	2017/2018	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
D <-> E <-> F	inter	2017/2018	1	0	0	0	1	0	2	3	1	23
		2017/2019	1	0	0	0	0	0	2	0	1	
		2018/2019	0	0	1	0	0	0	7	2	0	
	inter et inter	2017/2018/2019	0	0	0	0	0	0	1	0	0	8
	inter et intra	2017/2018 2018	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
		2018/2019 2019	0	0	0	0	0	0	3	1	1	
	inter et intra intra	2018/2019 2019 2019	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	intra et inter	2018 2018/2019	1	0	0	0	0	0	0	0	0	22
	Intra	2017	0	0	0	0	1	0	2	1	0	
		2018	0	0	0	0	1	0	1	2	0	
2019		7	0	0	0	0	0	4	2	0		
Intra intra	2019 2x	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
Total			14	0	1	1	13	0	27	11	3	70

Table 3 : Tableau récapitulatifs des changements de mares à Beaulieu-sur-Oudon en intra et inter-annuels en fonction des années, du sexe et de l'âge et de l'espèce

		Brielles										
Déplacements entre mares	Inter vs intra annuel	année	<i>Triturus marmoratus</i>		<i>Triturus X blasii</i>		<i>Ichthyosaura alpestris</i>		<i>Triturus cristatus</i>			Total
			Mâle	femelle	Mâle	femelle	Mâle	femelle	Mâle	femelle	Juvenile	
G -> A	inter	2018/2019	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
C ->B	inter	2018/2019	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
D <-> E <-> F <->G	inter	2018/2019	1	0	1	0	2	0	8	3	0	15
	inter et intra	2018/2019 2019	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2
	intra et inter	2018 2018/2019	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	Intra	2018	0	0	0	0	0	0	5	3	0	18
	2019	1	1	0	0	0	1	7	0	0		
Total			3	1	1	0	3	1	22	6	0	37

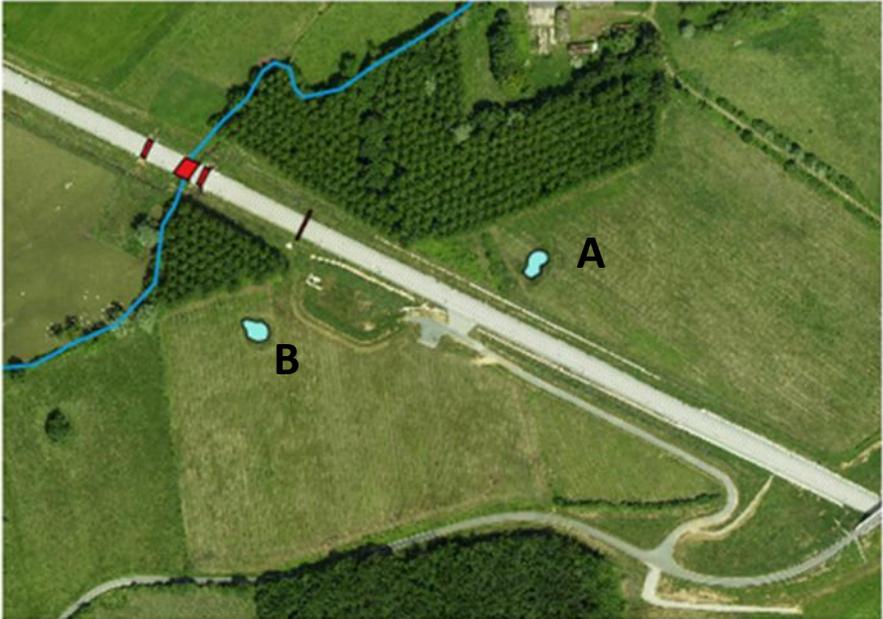
Table 4 : Tableau récapitulatifs des changements de mares à Brielles en intra et inter-annuels en fonction des années, du sexe et de l'âge et de l'espèce

Figures



Figure 1 : Répartition des nasses à vairons dans la mare compensatoire B (MCI132-02)

Figure 2a : Carte du secteur de Lombron avant/après la construction de la LGV



-  Mare historique
-  Mare Compensatoire
-  Cours d'eau
-  Tunnel

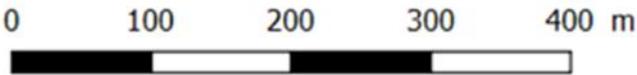


Figure 2b : Effectifs des Tritons crêtés capturés par mare du secteur de lombron au cours des 2 années de suivis (2018/2019).

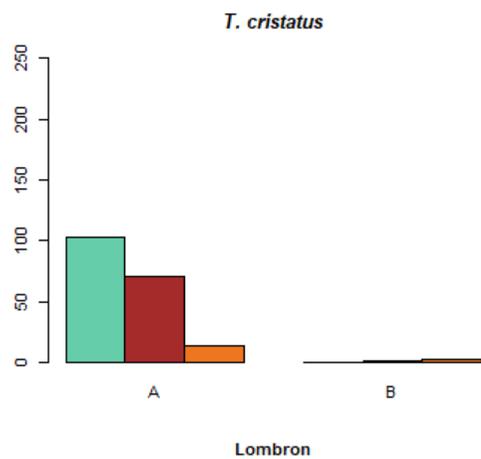
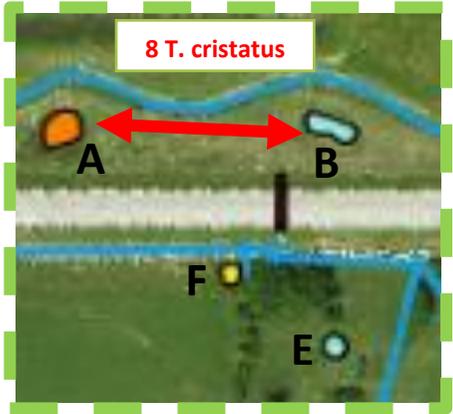
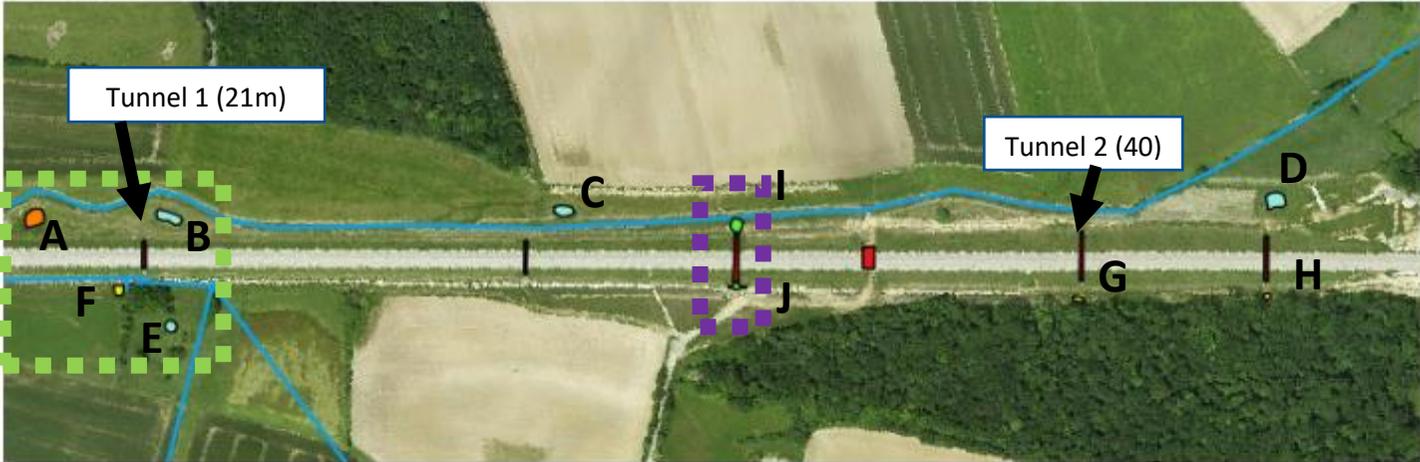
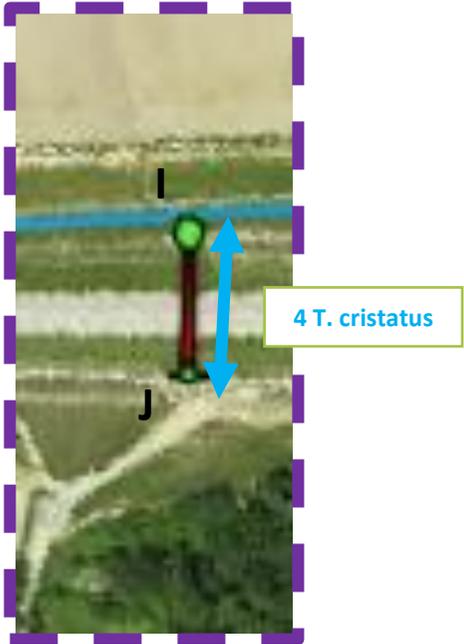


Figure 3a : Carte du secteur de Chantenay-Villedieu avant/après la construction de la LGV



- | | | | | | | | | |
|---|--------------------|---|-----------------------------|--|-----|-----|-----|-------|
|  | Mare historique |  | Cours d'eau | 0 | 100 | 200 | 300 | 400 m |
|  | Tunnel inondé |  | Tunnel |  | | | | |
|  | Mare compensatoire |  | Échange sans franchissement | N
 | | | | |
|  | Mare relais |  | Échange avec franchissement | | | | | |

Figure 3b : Effectifs des Tritons crêtés capturés par mare du secteur de Chantenay-Villedieu au cours des 2 années de suivis (2017/2019).

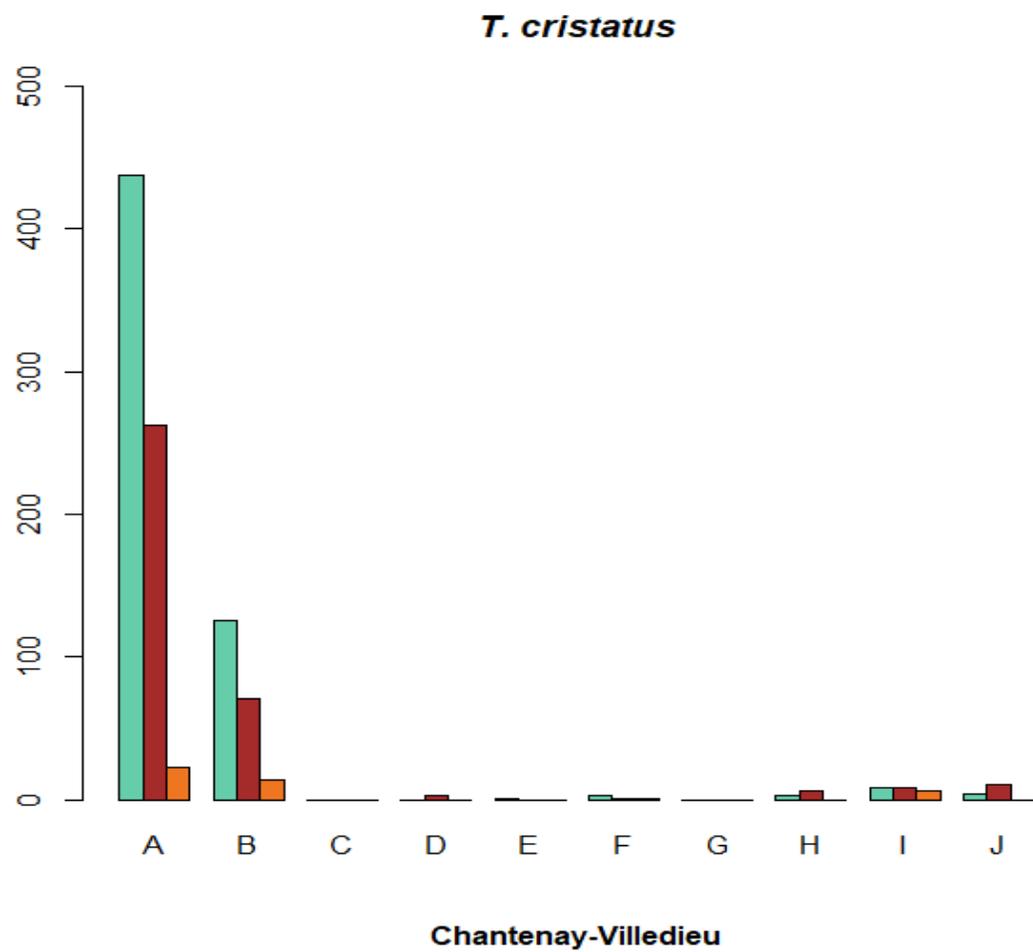
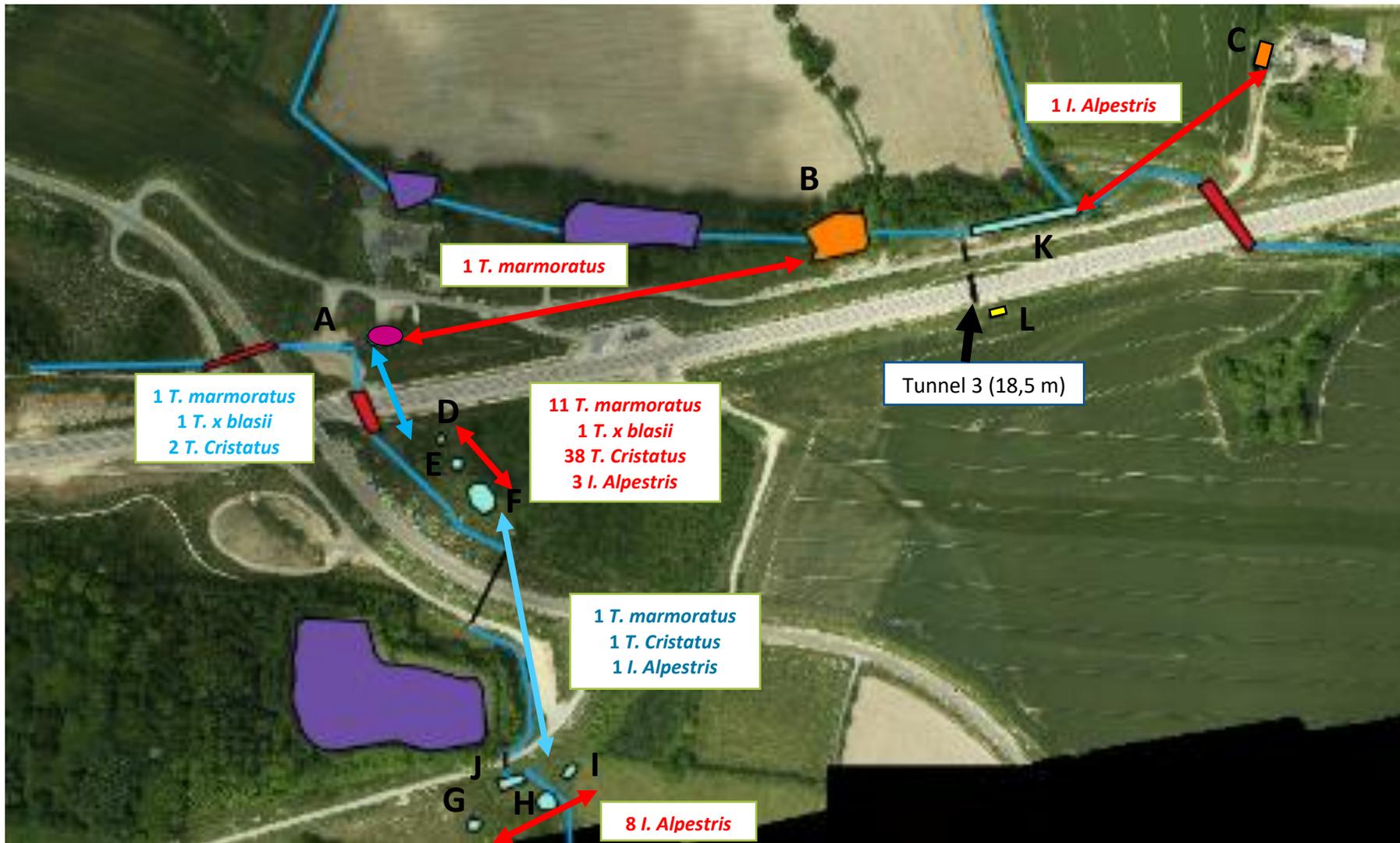


Figure 4a : Carte du secteur de Beaulieu-sur-Oudon avant/après la construction de la LGV



0 100 200 300 400 m





- Plan d'eau
- Mare historique
- Mare déplacée
- Mare compensatoire
- Mare relais
- Cours d'eau
- Tunnel
- Échange sans franchissement
- Échange avec franchissement



Figure 4b : Effectifs des Tritons crêtés capturés par mare du secteur de Beaulieu-sur-Oudon au cours des 3 années de suivis (2017/2019).

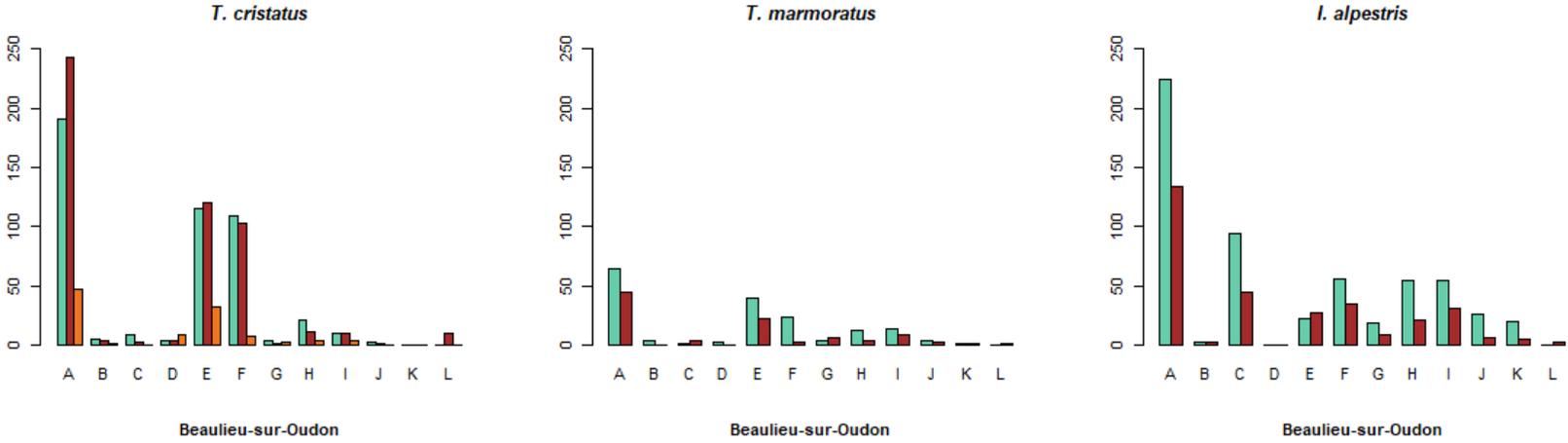


Figure 5a : Carte du secteur du Pertre avant/après la construction de la LGV

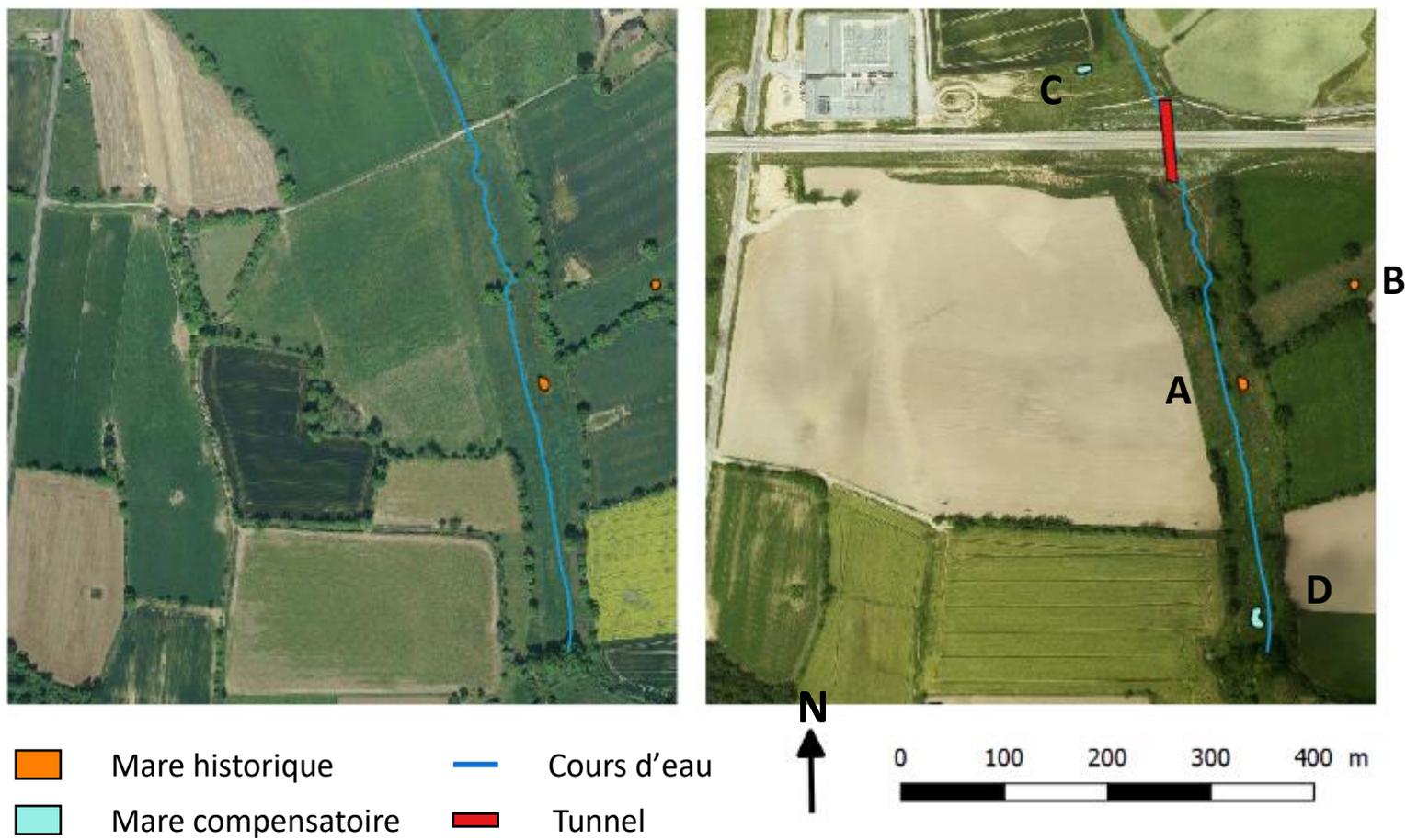


Figure 5b : Effectifs des Tritons crêtés capturés par mare du secteur du Pertre au cours des 2 années de suivis (2018/2019).

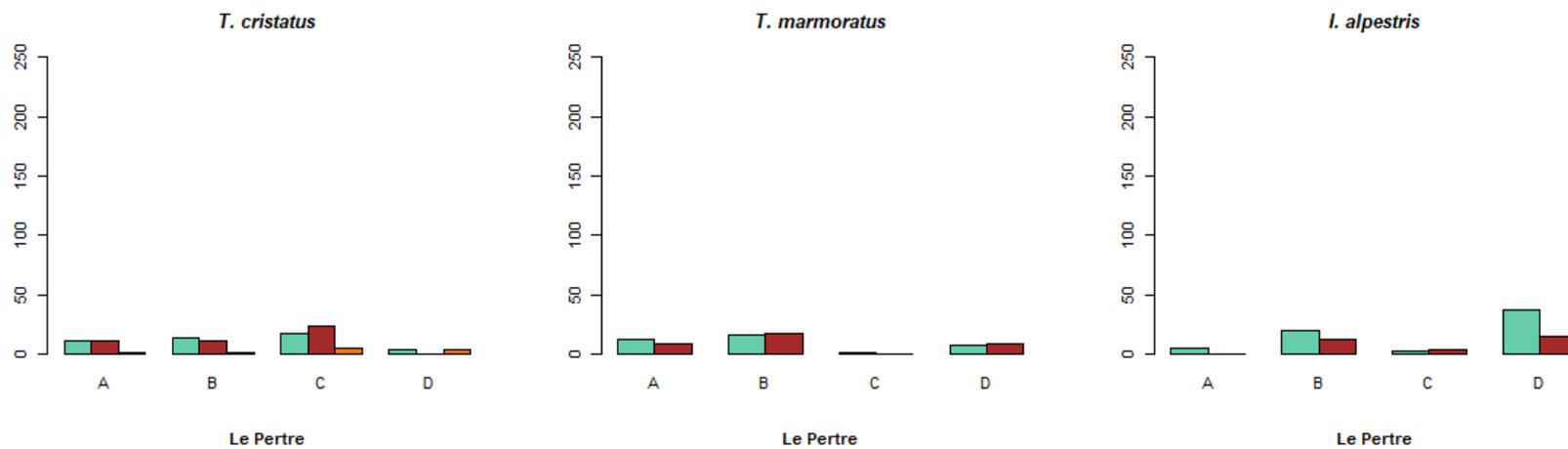
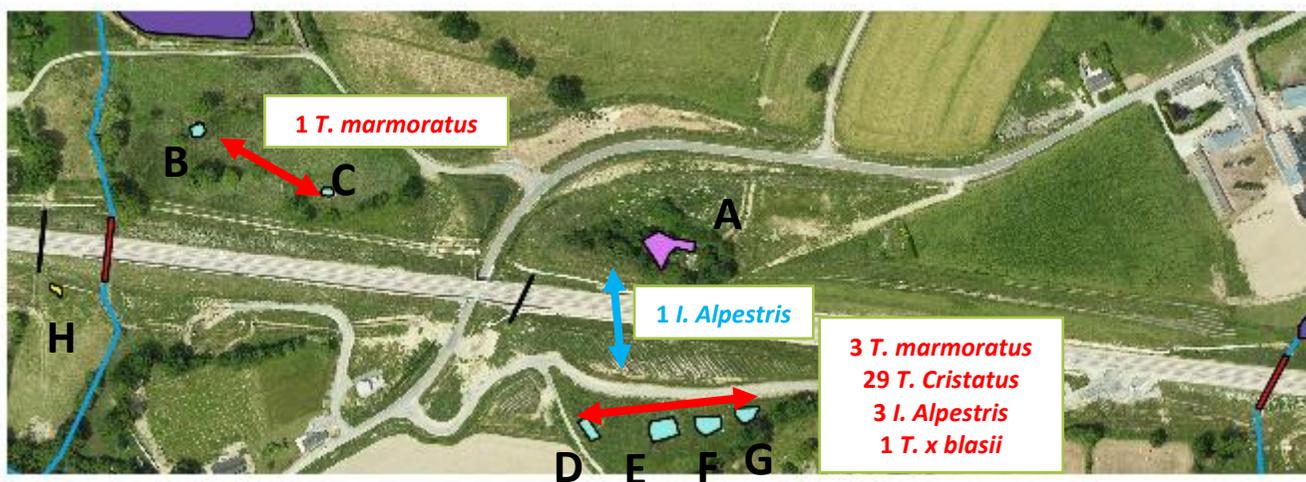


Figure 6a : Carte du secteur de Brielles avant/après la construction de la LGV



-  Plan d'eau
-  Mare historique
-  Mare modifiée
-  Mare compensatoire
-  Mare relais
-  Cours d'eau
-  Tunnel
-  Échange sans franchissement
-  Échange avec franchissement

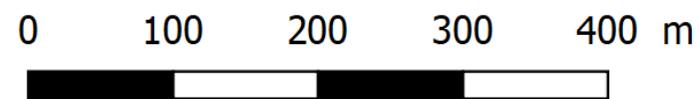
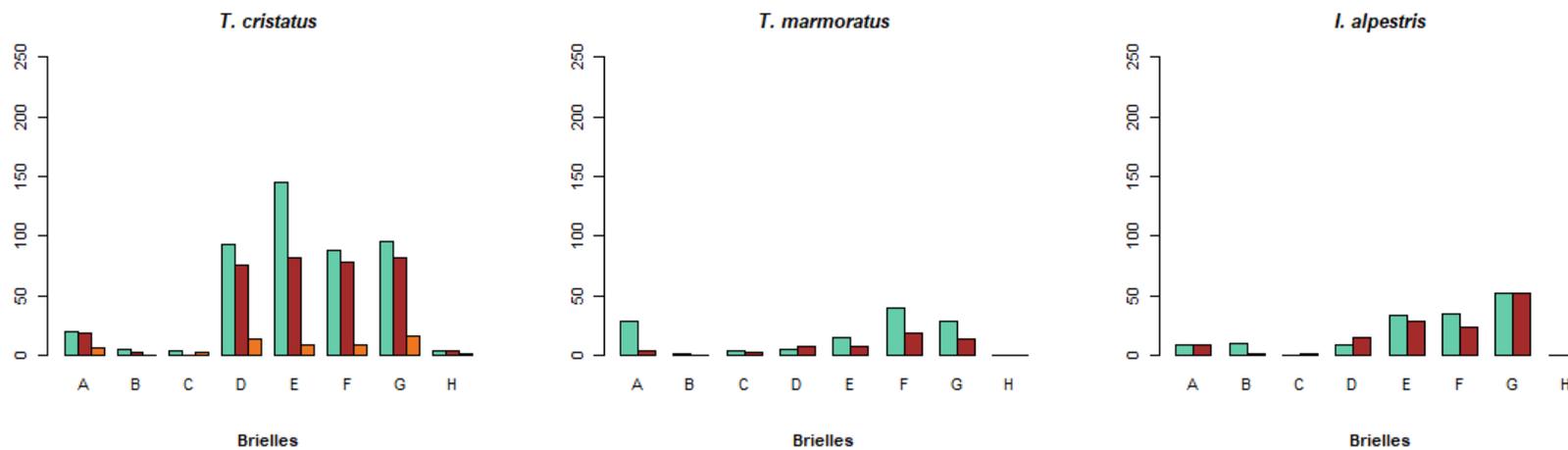


Figure 6b : Effectifs des Tritons crêtés capturés par mare du secteur de Brielles au cours des 2 années de suivis (2018/2019).



Annexes

Annexe 1 : Fiche descriptive des 5 secteurs avant/après la construction de la LGV.

Secteur de Lombron (Sarthe 72)	
Avant la construction de la LGV	Après la construction de la LGV
<p><u>Paysage</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Une exploitation forestière • Pâturages continus • Prairies fortement amendées • Terrains en friches • Champs cultivés • Reliquats de haies <p><u>Route</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Route reliant les communes de Lombron et Sainte-Corneille <p><u>Sites aquatiques</u> :</p> <p>Le secteur est une petite zone humide</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ruisseau « le Lortier » (traverse la zone en longeant l'exploitation forestières) • Une mare était présente sur la partie est <p><u>Inventaire historique</u> :</p> <p><i>Sur le secteur</i> :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Triton crêté • Rainette verte 	<p><u>Modification du paysage</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> • L'exploitation forestière a été fragmentée en deux parties non égales • Une partie importante du pâturage, des prairies et terrains en friches ont été remplacés par une jeune plantation d'arbres (80% de chêne sessile), peu visible sur les cartographies l'heure actuelle • Les reliquats de haies ont été dans l'ensemble maintenus • La mare a été détruite par le déplacement de la route traversant le secteur. • Un bassin d'orage a été construit au sud de la LGV. <p><u>Mesures de compensation</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Deux mares compensatoires ont été aménagées au nord (Mare « A ») et au sud (Mare « B ») de la LGV. • À proximité de cette mare, le ruisseau « le Lortier » qui traverse la zone n'a quasiment pas été modifié. <p><u>Mesures de réduction</u></p> <p>Trois ouvrages ont été aménagés sous la LGV pour permettre le passage du ruisseau du Lortier.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Un pont cadre de 10,38m de largeur

<ul style="list-style-type: none"> • Crapaud épineux • Grenouille agile <p><i>À proximité :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Triton palmé (800m) • Triton ponctué (800m) • Grenouille verte non identifiée (800m) 	<ul style="list-style-type: none"> • Deux dalots de chaque côté (3 x 2,10 m) servant de décharge de la zone inondable du ruisseau en cas de fort débit. • Un passage à faune (buse sèche de 80cm) est présent. <p><u>Inventaire :</u></p> <p>Un suivi de capture marquage recapture des Tritons crêtés a été réalisé sur le secteur de 2018 à 2019.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dans la mare compensatoire « A », sont présents une dizaine de Tritons palmés, une cinquantaine de Tritons ponctués, 155 pontes de Grenouilles agiles observées en 2018. Un mâle de Crapaud épineux a été entendu. Concernant les invertébrés, elle abrite des dytiques. • Dans la mare compensatoire « B », sont présents une petite dizaine de Tritons palmés, et une petite dizaine de Tritons ponctués, et une dizaine de pontes de Grenouilles agiles. Concernant les invertébrés, des branchiopodes ont été observés en 2018.
--	--

Secteur de Chantenay-Villedieu (Sarthe 72)	
Avant la construction de la LGV	Après la construction de la LGV
<p><u>Paysage :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Bocages • Deux forêts • Grandes cultures • Pâturages continus • Terrains en friches • Prairies de fauche <p><u>Route :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Départementale 142 <p><u>Sites aquatiques :</u></p> <p>Le secteur est une très importante zone humide</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ruisseau de la « Morinière » et ses affluents • Deux mares séparées par le ruisseau <p><u>Inventaire historique :</u></p> <p><i>Sur le secteur</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Salamandre tachetée (zone de migration) • Triton palmé • Triton créché • Triton ponctué • Crapaud épineux 	<p><u>Modification du paysage :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Le paysage a été faiblement modifiés dans sa composition par la ligne à grande vitesse. • La ligne a fragmenté le paysage entre nord-ouest et sud-est et a conduit à de la destruction de boisements. • Les deux mares devaient être détruites, mais une des deux (mare « A ») a pu être évitée. Un bassin d'orage a été construit au nord-est à proximité de la mare « D ». <p><u>Mesures de compensation :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Des jeunes pousses d'arbres ont été replantées pour reconstruire des haies et compenser la destruction de boisements. • Des zones de cultures ont été converties en prairies et bandes enherbées. • Des gîtes provisoires ont été installés (tas de branchages). • Le ruisseau de la Morinière a été déplacé de quelques mètres et légèrement re-méandré. • Quatre mares compensatoires ont été construites visant le Triton créché et le Pélodyte ponctué (mares « B », « C », « D » et « E »). • Un transfert d'amphibiens de la mare détruite vers les mares de compensation créées a été réalisé. <p><u>Mesures de réduction :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Trois mares relais ont été construites (mares « F », « G » et « H »).

<ul style="list-style-type: none"> • Pelodyte ponctué • Grenouille agile • Rainette verte • Complexe des Grenouilles vertes non différenciées. 	<ul style="list-style-type: none"> • Un ouvrage hydraulique inondé pendant la saison de reproduction a été installé à l'emplacement de la mare détruite. Ses extrémités inondées ont été nommées coté « I » et coté « J » et considérées comme deux mares. • Deux ouvrages hydrauliques (Dalots 1.5x1.5m et 2x2m) ont été construits pour raccorder les différents affluents du ruisseau de la Morinière • Quatre batrachoducs (Dalot 1x1m) et un passage à grande faune inférieur (largeur 8m) ont été construits. <p>Deux batrachoducs de 21 (« Tunnel 1 ») et 40 m (« Tunnel 2 ») ont été utilisés pour réaliser les expériences de « homing » visant à évaluer l'influence de la longueur des tunnels pour le Triton crêté (juvénile et adulte), la Salamandre tachetée (adulte), la Grenouille agile (adulte) et le Crapaud épineux (adulte et juvénile) et l'enrichissement sonore pour le Triton crêté (adulte).</p> <p><u>Inventaire :</u></p> <p>Un suivi de capture marquage recapture des Tritons crêtés a été réalisé dans les mares du secteur de 2017 à 2019.</p> <p><i>Autre</i></p> <p>Plus de 70 adultes de Salamandres tachetées (principalement des femelles gestantes) ont été observés le long de la clôture pendant des nuits pluvieuses de 2019 entre le côté « J » du tunnel inondé et la mare relais « H ». Plusieurs individus ont été aperçu également dans le passage grande faune et un à l'entrée du batrachoduc PPF0515 de 40 m de long (Tunnel 2 des expériences de « homing »). Des mâles chanteurs de Pélodytes ponctués</p>
--	---

autour du ruisseau de la Morinière, et dans des flaques d'eau sous le passage à grande faune.

- Dans la mare historique « A », sont présents une cinquantaine de Tritons palmés, une dizaine de Tritons ponctués, une cinquantaine de Rainettes vertes, une cinquantaine de pontes de Grenouilles agiles, ainsi que quelques Grenouilles vertes non capturées et un Crapaud épineux chanteur. En 2017, plusieurs Loches franches et rotengles ont été capturés mais plus aucune les autres années. Des ragondins vivent dans la mare. Concernant les invertébrés, la mare abrite un grand nombre de notonectes et dytiques et des trichoptères.
- Dans la mare compensatoire « B », sont présents une quarantaine de Tritons palmés, une dizaine de Tritons ponctués, une dizaine de Rainettes vertes, ainsi que quelques Grenouilles vertes non capturées et des pelodytes ponctués. Il a été observé jusqu'à 75 pontes de grenouilles agiles en 2018. Des traces importantes de ragondins sont présentes. Concernant les invertébrés, la mare abrite un grand nombre de notonectes et dytiques et des trichoptères.
- Dans la mare compensatoire « C », ont été observés deux pontes de Grenouilles agiles. Concernant les invertébrés, la mare abrite des dytiques.
- Dans la mare compensatoire « D », sont présents une dizaine de Tritons palmés et une petite dizaine de Tritons ponctués ainsi qu'une dizaine de pontes de Grenouilles agiles. Concernant les invertébrés, la mare abrite des notonectes et des dytiques.
- Dans la mare compensatoire « E », sont présents une vingtaine de Tritons palmés, une dizaine de Tritons ponctués, des Rainettes vertes, des Pélodytes ponctués et une vingtaine de pontes de Grenouilles agiles. Des traces de ragondins étaient présentes. Concernant les

	<p>invertébrés, la mare abrite des notonectes et des dytiques.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dans la mare relais « F », sont présents une dizaine de Tritons palmés, une dizaine de Tritons ponctués, des Rainettes vertes, des pelodytes ponctués et une dizaine de pontes de Grenouilles agiles. Concernant les invertébrés, la mare abrite des notonectes et des dytiques. • Dans la mare relais « G » étaient présents quelques Tritons palmés, une vingtaine de larves de Salamandres tachetées dans la mare et dans des ornières à proximité ainsi que des femelles, quelques Grenouilles vertes dont au moins une <i>Pelophylax</i> avec des caractéristiques très marquées de Lessonae identifiées par P. Geniez. Concernant les invertébrés, la mare abrite des notonectes, des dytiques et des trichoptères. • Dans la mare relais « H » étaient présents une vingtaine de Tritons palmés, une quinzaine de pontes de Grenouilles agiles, plusieurs centaines de larves de Salamandres tachetées dans la mare et dans des ornières à proximité ainsi que des femelles et quelques Grenouilles vertes. Une femelle de Crapaud épineux a été observée à proximité immédiate en 2018. Concernant les invertébrés, la mare abrite des notonectes, des dytiques. • Du côté « I » du tunnel inondé, ont été capturés des Tritons palmés et ponctués, des Pélodytes ponctués, une cinquantaine de larves de Salamandres tachetées. Une dizaine de pontes de Grenouilles agiles ont été observées. Concernant les invertébrés, le site aquatique abrite des petits gastéropodes aquatiques, des notonectes, des dytiques, des trichoptères et des gammares. • Du côté « J » du tunnel inondé, ont été capturés des Tritons palmés et ponctués, des Pélodytes ponctués, une centaine de larves de Salamandres tachetées ainsi que des femelles et une dizaine de pontes de Grenouilles agiles.
--	---

	<p>Concernant les invertébrés, le site aquatique abrite des petits gastéropodes aquatiques, des trichoptères et des dytiques.</p>
--	---

Secteur de Beaulieu-sur-Oudon (Mayenne 53 et Ille-et-Vilaine 35)	
Avant la construction de la LGV	Après la construction de la LGV
<p><u>Paysage :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Bocages • Forêts importantes • Grandes cultures • Pâturages continus • Terrains en friches • Prairies de fauche <p><u>Route :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Départementale 142 <p><u>Sites aquatiques :</u> Le secteur est une importante zone humide</p> <ul style="list-style-type: none"> • Affluent du ruisseau de la Lézerie • Affluent du ruisseau du Housseau • Cinq mares historiques <p><u>Inventaire historique :</u> <i>Sur le secteur</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Triton palmé • Triton créché • Triton marbré • Triton alpestre • Crapaud épineux • Alyte accoucheur 	<p><u>Modification du paysage :</u> La construction de la LGV en traversant ce paysage a conduit à :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Des déboisements • La destruction de trois mares • Le déplacement d'une mare de quelques mètres (mare « A »). <p><u>Mesures de compensation :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Des jeunes arbres et arbustes ont été plantés pour reconstruire des haies et compenser la destruction de boisements. • Un bassin d'orage a été construit à l'est de la LGV et maintenu en eau (mare « K ») • Six mares compensatoires ont été creusées (« D », « F », « G », « H », « I » et « J »). • Une mare relais a été construite (« L »). • Un transfert des amphibiens a été réalisé à partir des mares détruites vers les mares nouvellement créées a eu lieu en mars 2013. <p><u>Mesures de réduction :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Des ouvrages hydrauliques ont été construits pour faire passer les affluents des ruisseaux de la Lézerie (1.5x1.5m) et du Housseau (1x1m et 2.5x2.5m) et assurer le rôle de passage à faune (présence d'herbier ou de banquettes pour les deux plus grands). • Quatre tunnels ont été également mis en place sous les routes adjacentes.

<ul style="list-style-type: none"> • Grenouille agile • Rainette verte • Complexe des Grenouilles vertes non différenciées. 	<p>L'ouvrage hydraulique de 1x1 m sous la LGV et 18.50m de long a été utilisé pour réaliser les expériences de « homing » visant à évaluer l'influence de l'enrichissement sonore pour le Triton crêté, marbré et alpestre et la Grenouille verte (« Tunnel 3 »).</p> <p><u>Inventaire :</u></p> <p>Un suivi par capture marquage recapture des Tritons crêtés, Tritons marbrés et Tritons alpestres a été réalisés dans les mares du secteur de 2017 à 2019.</p> <p><i>Autre</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Dans la mare historique déplacée « A », sont présents plusieurs centaines de Tritons palmés, une centaine de mâles chanteurs de Rainettes vertes et une centaine de Grenouilles vertes. Une dizaine de Grenouilles agiles, et des larves de Salamandres tachetées. Concernant les invertébrés, la mare abrite des notonectes, des dytiques et des trichoptères. • Dans la mare forestière historique « B », une dizaine de Tritons palmés était présent ainsi que 4 larves de Salamandres tachetées. Un Crossope aquatique a été capturé accidentellement. Des dytiques ont été capturés • Dans la mare historique « C », ont été capturés plus de 200 Tritons palmés, une Grenouille agile, trois larves de Salamandres tachetées. Une cinquantaine de Grenouilles vertes sont présentes. Des mâles chanteurs et des dizaines de têtards d'Alytes accoucheurs ont été observés. Concernant les invertébrés, la mare abrite des notonectes et des dytiques et des trichoptères. Des Anax imperators et des Crocothemis ont été observés autour de la mare ainsi que plusieurs dizaines de larves dans la mare. • Dans la mare compensatoire « D », ont été capturés une vingtaine de Tritons palmés, une Grenouille agile, trois
--	---

	<p>larves de Salamandres tachetées, et une Grenouille verte. Concernant les invertébrés, la mare abrite des notonectes et des dytiques.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dans la mare compensatoire « E », ont été capturés une centaine Tritons palmés, une dizaine de Grenouilles agiles, une dizaine de larves de Salamandres tachetées, et une trentaine de Grenouilles vertes. Concernant les invertébrés, la mare abrite des sangsues, des notonectes, des dytiques, et des larves d'odonates. • Dans la mare compensatoire « F », ont été capturés une quarantaine de Tritons palmés, une dizaine de Grenouilles agiles, une larve de Salamandre tachetée, et une trentaine de Grenouilles vertes. Concernant les invertébrés, la mare abrite des notonectes et des dytiques. • Dans la mare compensatoire « G », ont été capturés jusqu'à 175 Tritons palmés (en une session de 2018), une dizaine de Grenouille agile, deux têtards d'Alytes accoucheurs, une larve de Salamandre tachetée, et une dizaine de Grenouilles vertes. Concernant les invertébrés, la mare abrite des notonectes, des dytiques, et des larves d'odonates. • Dans la mare compensatoire « H », ont été capturés une cinquantaine Tritons palmés, 3 Grenouilles agiles, une larve de Salamandre tachetée, et jusqu'à 50 Grenouilles vertes en 2018. Concernant les invertébrés, la mare abrite des notonectes, des dytiques et des larves d'odonates. • Dans la mare compensatoire « I », ont été capturés une centaine de Tritons palmés une dizaine de Grenouilles agiles et 20 pontes, un Crapaud épineux, un têtard d'Alyte accoucheur, deux larves de Salamandres tachetées, une dizaine de Grenouilles vertes ainsi que quelque Rainettes vertes. Concernant les invertébrés, la
--	---

	<p>mare abrite des notonectes, des dytiques, des larves d'odonates, et des larves de moustiques.</p> <ul style="list-style-type: none">• Dans la mare compensatoire « J », ont été capturés une trentaine de Tritons palmés, des Grenouilles agiles et leurs pontes et des Crapauds épineux. Un grand nombre de Grenouilles vertes. 40 et 120 perche arc-en-ciel ont été capturées en mars et avril 2019. Concernant les invertébrés, la mare abrite des notonectes, des dytiques, des larves d'odonates.• Dans la mare compensatoire « K », ont été capturés une vingtaine de Tritons palmés, des Grenouilles agiles, deux larves de Salamandres tachetées et une centaine de Grenouilles vertes. Des Perche arc-en-ciel sont présentes chaque années (maximum en 2018). Concernant les invertébrés, la mare abrite des notonectes, des dytiques, des trichoptères et des nêpes.• Dans la mare relais « L », ont été capturés une cinquantaine de Tritons palmés, une larve de Salamandre tachetée, des têtards d'alytes accoucheurs était présent en 2017. Des Grenouilles vertes ont été observées. Concernant les invertébrés, la mare abrite des larves d'odonates, des dytiques. Des Grenouilles vertes ont été observées dans l'ouvrage hydraulique OH1305 à proximité immédiate (Tunnel 3 de 18,5m dans les expériences de « homing »).
--	---

Secteur du Pertre (Ille-et-Vilaine 35)	
Avant la construction de la LGV	Après la construction de la LGV
<p><u>Paysage :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Bocages • Fourrés alluviales • Grandes cultures • Pâturages abandonnés • Terrains en friches • Prairies de fauche <p><u>Sites aquatiques :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Rivière de « la Seiche » • Deux mares historiques (« A » et « B ») <p><u>Inventaire historique :</u></p> <p><i>Sur le secteur</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Grenouille agile • Triton palmé <p><i>À proximité</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Triton crêté (750m) • Triton alpestre (750m) • Crapaud épineux (750m) • Alyte accoucheur (750m) 	<p><u>Modification du paysage :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Des déboisements importants de haies ont eu lieu en lien avec le remembrement des terrains agricoles. • La mare à 750m du secteur a été détruites et ses populations ont fait l'objet d'un transfert. <p><u>Mesures de compensation :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Deux mares compensatoires ont été créée au sud et au nord de la Seiche. • Des plantations de haies ont eu lieu dans une bande étroite du nord au sud, entourant « la Seiche ». • La ripisylve de la Seiche a été restauré et les deux mares présentes sur le secteur ont été conservés et curés. <p><u>Mesures de réduction :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Un ouvrage hydraulique avec banquettes a été construit et des herbiers ont été mis en places aux extrémités pour laisser passer la rivière. <p><u>Inventaire :</u></p> <p>Un suivi par capture marquage recapture des Tritons crêté, marbré et alpestre a été réalisés dans les mares du secteur de 2018 à 2019.</p> <p><i>Autre</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Dans la mare Historique « A » ont été observés une cinquantaine de Tritons palmés, une trentaine de larves de Salamandre tachetée, 13 pontes de Grenouilles agiles, 4 Crapauds épineux et une Grenouille verte. Parmi les invertébrés ont été observés des notonectes, dytiques et des larves d'odonates.

<ul style="list-style-type: none"> • Triton marbré (1 km) 	<ul style="list-style-type: none"> • Dans la mare historique « B » ont été observés une trentaine de Tritons palmés, une dizaine de larves de salamandre de salamandre, une vingtaine de pontes de Grenouilles agiles, 2 Grenouilles vertes et 1 Crapaud épineux. Concernant les invertébrés ont été observés des dytiques et notonectes, ainsi qu'une trentaine de petits gastéropodes aquatiques. • Dans la mare compensatoire « C » ont été observés une cinquantaine de Tritons palmés, Une dizaine de Grenouilles agiles et 2 pontes, 7 Grenouilles vertes. Concernant les invertébrés 3 larves odonates, une vingtaine de petits gastéropodes aquatiques, une dizaine de notonectes et dytiques ainsi que quelque larves d'odonates. • Dans la mare compensatoire « D » ont été observés une centaine de Tritons palmés, 150 pontes de Grenouilles agiles, une larve de Salamandre tachetée, une petite dizaine de Grenouilles vertes. Des traces de ragondins ont été observés en grand nombre en 2019 et une petite Loche franche a été capturé en 2018. Concernant les invertébrés, la mare est principalement colonisée par des larves d'odonates (Libellules et demoiselles), et par quelque dytiques et notonectes.
--	--

Secteur de Brielles (Ille-et-Vilaine 35)	
Avant la construction de la LGV	Après la construction de la LGV
<p><u>Paysage :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Bocages • Cultures • Prairies humides eutrophes <p><u>Route :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Départementale 43 traversait du sud-ouest au nord-est <p><u>Sites aquatiques :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Un étang au nord du secteur • Deux mares historique • Ruisseau de la « Bousserie » à l'ouest • Rivière de « la Crossonnière » à l'est <p><u>Inventaire historique :</u></p> <p><i>Sur le secteur</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Salamandre tachetée • Crapaud épineux • Rainette verte • Grenouilles vertes non différenciées • Grenouille agile <p><i>À proximité</i></p>	<p><u>Modification du paysage :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Le paysage à assez peu été dégradé lors de la construction avec peu de destruction et remembrement • La départementale a été décalée et passe sous la ligne grâce à un tunnel de 7m40 de large • La construction a conduit à la destruction d'une des deux mares et à la réduction de taille de la deuxième (Mare « A ») <p><u>Mesures de compensation :</u></p> <p>6 mares compensatoires ont été creusés ciblant principalement le Triton marbré et la Rainette verte</p> <ul style="list-style-type: none"> • Deux dans la partie nord-ouest (mares « B » et « C ») • Quatre dans la partie sud-est (mares « D », « E », « F » et « G ») <p><u>Mesures de réduction :</u></p> <p><i>À l'ouest :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Un ouvrage hydraulique avec banquettes de 2.5x2m pour l'écoulement de ruisseau de « la Bousserie » accompagné par un passage à faune de type buse sèche de 80 cm. • Une mare relais a proximité immédiate de la buse sèche (Mare « H ») <p><i>À l'est :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Un passage à faune de type buse sèche de 80cm à proximité de la départementale.

<ul style="list-style-type: none"> • Triton palmé (500 m) • Triton marbré (500 m) • Triton crêté (850m) • Alyte accoucheur (850m) 	<ul style="list-style-type: none"> • Un pont cadre (largeur 3m88) pour la rivière de la Crossonnière. <p><u>Inventaire :</u></p> <p>Un suivi par capture marquage recapture des Tritons crêté, marbré et alpestre a été réalisés dans les mares du secteur de 2018 à 2019.</p> <p><i>Autre</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Dans la mare historique modifiée « A » ont été observés une dizaine de Tritons palmés, une trentaine de pontes de Grenouilles agiles, quelques larves de Salamandres tachetées. Parmi les invertébrés ont été observés des centaines de notonectes, des dytiques, des larves de trichoptères et des ranatres. • Dans la mare compensatoire « B » ont été observées une dizaine de Tritons palmés, une trentaine de pontes de Grenouilles agiles, une dizaine de Grenouilles vertes et une larve de salamandre. Parmi les invertébrés ont été observés une cinquantaine de notonectes et une vingtaine de larves de libellules, des dytiques. • Dans la mare compensatoire « B » ont été observées une dizaine de Tritons palmés, une trentaine de pontes de Grenouilles agiles, une dizaine de Grenouilles vertes et une larve de salamandre. Parmi les invertébrés ont été observés une cinquantaine de notonectes et une vingtaine de larves de libellules, des dytiques. • Dans la mare compensatoire « C » ont été observées une dizaine de Tritons palmés, cinq pontes de Grenouilles agiles, trois Grenouilles vertes, deux Rainettes vertes. Parmi les invertébrés ont été observés des notonectes et des dytiques. • Dans la mare compensatoire « D » ont été observées une vingtaine de Tritons palmés, 10 pontes de Grenouilles agiles, une Grenouille verte, une larve de
---	--

	<p>Salamandre tachetée. Parmi les invertébrés ont été observés des notonectes et des dytiques.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dans la mare compensatoire « E » ont été observées une cinquantaine de Tritons palmés, une cinquantaine de pontes de Grenouilles agiles, trois Grenouilles vertes et une Rainette verte. Parmi les invertébrés ont été observés des notonectes, des larves d'odonates et une vingtaine de dytiques. • Dans la mare compensatoire « F » ont été observées une quarantaine de Tritons palmés, une vingtaine de pontes de Grenouilles agiles, deux Grenouilles vertes et une larve de Salamandre tachetée. Parmi les invertébrés ont été observés des notonectes, des larves d'odonates et des dytiques. • Dans la mare compensatoire « G » ont été observées une vingtaine de Tritons palmés, une dizaine de pontes de Grenouilles agiles, trois Grenouilles vertes et une larve de Salamandre tachetée. Parmi les invertébrés ont été observés une vingtaine de notonectes, une quinzaine de dytiques, des larves d'odonates, des vers de vase et des gammares. • Dans la mare relais « H » ont été observées une dizaine de Tritons palmés, 11 pontes de Grenouilles agiles et une dizaine de larves de Salamandres tachetées. Parmi les invertébrés ont été observés des notonectes, une quinzaine de dytiques, des larves d'odonates, de nombreux gastéropodes.
--	---

Annexe 2 : Estimation des tailles de populations

Les estimations de tailles de populations pour les cinq secteurs ont été réalisées chaque années en réunissant tous les individus du secteur. Les analyses ont été conduites à l'aide du programme capture dans le logiciel Mark. Pour chaque sexe, espèces et secteurs ont été estimés Les effectifs (N), la déviation standard (Sd), l'estimation minimale (Nmin), l'estimation maximale (Nmax) et le sex-ratio estimés (Sex-ratio) :

Localité	Espece	Année	Sexe	N	Sd	Nmin	Nmax	Sex-ratio
Chantenay -Villedieu	<i>Triturus cristatus</i>	2017	Mâle	303	82,40	195	537	0,78
			Femelle	83	32,40	49	192	
			Total	386		244	729	
		2018	Mâle	587	38,27	524	674	0,52
			Femelle	534	73,15	421	712	
			Total	1121		945	1386	
		2019	Mâle	330	20,09	299	379	0,51
			Femelle	311	43,15	256	429	
			Total	641		555	808	
Beaulieu sur Oudon	<i>Triturus cristatus</i>	2017	Mâle	243	21,57	210	295	0,36
			Femelle	426	53,08	344	555	
			Total	669		554	850	
		2018	Mâle	408	18,83	375	448	0,43
			Femelle	546	70,47	435	715	
			Total	954		810	1163	
		2019	Mâle	347	273,27	276	2108	0,57
			Femelle	259	10,37	248	292	
			Total	606		524	2400	
	<i>Triturus marmoratus</i>	2017	Mâle	77	8,71	64	97	0,35
			Femelle	140	83,63	60	443	
			Total	217		124	540	
		2018	Mâle	89	16,45	70	140	0,13
			Femelle	590	561,33	147	2924	

	Total	679		217	3064	
	Mâle	106	13,09	97	164	
2019	Femelle	54	11,54	42	91	0,66
	Total	160		139	255	
	Mâle	357	43,48	298	477	
2017	Femelle	238	37,53	183	334	0,60
	Total	595		481	811	
	Mâle	317	43,94	251	426	
2018	Femelle	184	13,31	162	213	0,63
	Total	501		413	639	
	Mâle	352	26,42	310	414	
2019	Femelle	338	68,83	239	518	0,51
	Total	690		549	932	

*Ichtyosaura
alpestris*

Localité	Espece	Année	Sexe	N	Sd	Nmin	Nmax	Sex-ratio
Lombron	<i>Triturus cristatus</i>	2018	Mâle	99	6,00	96	130	0,60
			Femelle	66	0,78	66	66	
			Total	165		162	196	
		2019	Mâle	20	5,27	16	40	0,65
			Femelle	11	4,39	8	30	
			Total	31		24	70	
Le Pertre	<i>Triturus cristatus</i>	2018	Mâle	86	27,25	54	171	0,23
			Femelle	282	262,46	77	1379	
			Total	368		131	1550	
		2019	Mâle		Aucune recapture			
			Femelle	73	43,33	34	235	
			Total	73		34	235	
Le Pertre	<i>Triturus marmoratus</i>	2018	Mâle	50	7,34	42	77	
			Femelle		Aucune recapture			
			Total	50		42	77	
		2019	Mâle		Aucune recapture			
			Femelle		Aucune recapture			
			Total	0		0	0	
Brielles	<i>Ichtyosaura alpestris</i>	2018	Mâle	44	8,67	35	72	0,92
			Femelle	4	1,00	4	7	
			Total	48		39	79	
		2019	Mâle	64	7,63	55	86	0,62
			Femelle	39	5,55	34	57	
			Total	103		89	143	
Brielles	<i>Triturus cristatus</i>	2018	Mâle	588	112,42	420	872	0,56
			Femelle	471	118,48	305	788	

		Total	1059		725	1660	
		Mâle	567	35,71	508	648	
	2019	Femelle	579	64,82	475	731	0,49
		Total	1146		983	1379	
		Mâle	142	33,12	98	235	
	2018	Femelle	112	68,98	48	366	0,56
		Total	254		146	601	
<i>Triturus</i>		Mâle	109	19,01	84	162	
<i>marmoratus</i>	2019	Femelle	65	19,86	43	128	0,63
		Total	174		127	290	
		Mâle	2184	2124,46	488	10963	
	2018	Femelle		Aucune recapture			
		Total	2184		488	10963	
<i>Ichtyosaura</i>		Mâle	231	57,50	154	390	
<i>alpestris</i>	2019	Femelle	371	101,82	233	652	0,38
		Total	602		387	1042	

Chapitre 3 Comportement dans les tunnels

Le chapitre 3 de ce manuscrit présente une approche expérimentale traitant l'axe 3. Les objectifs de cet axe sont de mesurer :

- Les capacités des amphibiens à utiliser les batrachoducs et leurs comportements dans ceux-ci.
- Les variations de comportements et d'utilisations des batrachoducs selon différents paramètres structuraux des tunnels.
- Les variations de comportement et d'utilisation des batrachoducs en lien avec des stimulus sonores.

Des expériences ont ainsi été réalisées dans 4 tunnels sur 3 secteurs de la LGV. Ce chapitre est divisé en trois sous-parties. La première partie traite de l'aspect méthodologique du suivi du déplacement avec des antennes RFID dans un tunnel. Cette partie a été publiée dans la revue *Animal Biotelemetry* en 2019. La seconde partie évalue l'utilisation, le franchissement et l'attractivité de 3 tunnels pour 3 espèces d'urodèles et 3 anoures. La deuxième partie a été publiée dans la revue *Global ecology and conservation* en 2020. La troisième partie est une analyse des trajectoires des amphibiens dans les tunnels pendant les expériences de « homing ».



Salamandre tachetée
Salamandra Salamandra



Triton crêté
Triturus cristatus



Grenouille verte non
différenciés
Pelophylax kl Esculentus
/ Lesonnae

© Philippe Geniez /
EPHE - BEV

I. Détection automatique de la petite faune marquée avec des PIT-tag utilisant les passages à faune

Cette partie a fait l'objet d'une publication en novembre 2019 dans la revue « Animal Biotelemetry ».

1. Résumé de publication

Atténuer l'effet des infrastructures linéaire de transport (ILT) sur la faune est une question cruciale en matière d'écologie routière. L'installation de passages à faune inférieurs (tunnels ou viaducs) est une solution mise en œuvre pour rétablir la connectivité des habitats et réduire la mortalité de la faune. L'évaluation du fonctionnement des passages pour la petite faune a souvent été recommandée mais, principalement en raison de limitations techniques, n'a pas souvent été réalisée ou seulement sous forme de suivi à court terme (moins d'un an). Dans cette étude, nous avons développé et testé un dispositif automatisé qui enregistre le comportement détaillé des animaux lors de l'utilisation des tunnels pour la faune. La méthode est basée sur le marquage et la détection des individus à l'aide d'antennes RFID (identification par radiofréquence) et permet de suivre les petits animaux. Composé de quatre antennes (détecteurs) placées à environ 2 m d'intervalle, le système a été testé dans un tunnel de 7 m du Nord-Ouest de la France en 2017. Une espèce d'amphibien (le crapaud *Bufo spinosus*, n = 13) et deux carabes (les carabes terrestres *Carabus coriaceus* et *Carabus nemoralis*, respectivement, n = 3 et n = 4), préalablement marqués avec des PIT-tag (transpondeur passif intégré), ont été enregistrés lors de leur passage sur ces détecteurs. Cela a permis d'estimer les trajectoires individuelles, y compris la vitesse de franchissement.

Nous avons constaté que 12 des 13 crapauds et 3 des 7 coléoptères terrestres ont franchi avec succès la totalité du tunnel de 7 m de long. Le taux de détection de chaque détecteur a varié de 8,33 à 100%, avec une moyenne de 52,08%. Tous les individus ont été enregistrés par au moins un détecteur. Nous avons observé une grande variabilité dans les caractéristiques de traversée des crapauds pour (durée moyenne du transit = 41 min et 15 s \pm 25 min ; longueur 7 m) et des coléoptères terrestres (6 h 11 min \pm 3 h 30 min ; longueur 7 m). Le système a fourni des informations sur les trajectoires précises (par exemple, la vitesse de passage, les demi-tours, la distance parcourue dans le tunnel, la proportion d'individus atteignant la sortie, etc.) pour chaque individu, dans un contexte de traversée de tunnel. Conclusion : Le système nous a permis d'enregistrer le comportement des petits animaux dans le contexte du passage d'un tunnel dans lequel d'autres types de suivi (par exemple, le radio-traçage) ou de détection (par exemple, les pièges à caméra) ne sont pas efficaces. Il ouvre également la possibilité d'une série d'expériences qui contribueraient à une meilleure compréhension du comportement des

petits animaux dans les tunnels, en permettant une comparaison des caractéristiques des tunnels (telles que la taille, le matériau de construction, le substrat, etc).

2. Automatic detection of small PIT-tagged animals using wildlife crossings

Guillaume Testud, Alan Vergnes, Philippe Cordier, Dorothée Labarraque and Claude Miaud

<https://doi.org/10.1186/s40317-019-0183-5>

TELEMETRY CASE REPORT

Open Access



Automatic detection of small PIT-tagged animals using wildlife crossings

Guillaume Testud^{1,4}, Alan Vergnes², Philippe Cordier³, Dorothée Labarraque⁴ and Claude Miaud^{1*} 

Abstract

Background: Mitigating the effect of linear transport infrastructure (LTI) on fauna is a crucial issue in road ecology. Wildlife crossing structures (tunnels or overpasses) are one solution that has been implemented to restore habitat connectivity and reduce wildlife mortality. Evaluating how these crossings function for small wildlife has often been recommended but, mainly due to technical limitations, is not often conducted in practice or only as short-term monitoring (less than 1 year). In this study, we developed and tested an automated device that records the detailed behaviour of animals when using wildlife tunnels. The method is based on marking and detecting individuals with RFID (radio-frequency identification) tags and allows small animals to be tracked. Composed of four antennas (detectors) placed at roughly 2 m intervals, the system was tested in a tunnel in northern France in the summer of 2017. One species of amphibian (the toad *Bufo spinosus*, $n = 13$) and two carabids (the ground beetles *Carabus coriaceus* and *Carabus nemoralis*, respectively, $n = 3$ and $n = 4$), marked beforehand with PIT (passive integrated transponder) tags, were recorded when they crossed these detectors. This allowed individual trajectories, including crossing speed, to be estimated.

Results: We found that 12 of the 13 toads and 3 of the 7 ground beetles successfully crossed the entire wildlife passage of 7 m long. The detection rate of each detector varied from 8.33 to 100%, with a mean of 52.08%. All individuals were recorded by at least one detector. We observed high variability in the crossing characteristics of toads (mean transit duration = 41 min and $15 \text{ s} \pm 25 \text{ min}$) and ground beetles ($6 \text{ h } 11 \text{ min} \pm 3 \text{ h } 30 \text{ min}$). The system provided information on precise trajectories (e.g., crossing speed, U-turns, distance travelled in the tunnel, proportion of individuals reaching the exit, etc.) for each individual, in a context of tunnel crossing.

Conclusion: The system allowed us to record small animal behaviour in the context of tunnel crossing in which other types of tracking (e.g. radio-tracking) or detection (e.g. camera traps) are not effective. It also opens the possibility for a range of experiments that would contribute to a better understanding of the behaviour of small animals in tunnels, allowing a comparison of tunnel characteristics (such as size, building material, substrate, etc.) with the aim of increasing wildlife use of the tunnel and proposing guidelines for the construction and maintenance of these mitigation measures.

Keywords: RFID, PIT tag, Amphibian, Ground beetle, Mitigation evaluation, Linear transport infrastructure, Habitat fragmentation, Movement

*Correspondence: claude.miaud@cefe.cnrs.fr

¹ UMR 5175 CEFE, EPHE, CNRS, UM, Univ P. Valéry, SupAgro, IRD, INRA, Biogéographie et Écologie des Vertébrés, PSL Research University, 34293 Montpellier, France

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2019. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

Background

The negative effects of linear transport infrastructure (LTI) on ground-dwelling fauna [1, 2] such as amphibians [3–5] and some ground beetles [6–10] are well documented. Direct mortality, habitat destruction, and fragmentation (due to a barrier effect) are the most commonly observed effects, with one study highlighting a success rate of only 3% in ground beetles crossing a railway line [11, 12]. Mitigation measures aim to restore crucial conservation aspects such as habitat connectivity and reducing mortality, both of which are important issues in road ecology. Of these measures, wildlife crossings (overpasses above or underpasses below an LTI) have been widely implemented. These are designed to guide animals to the entrance of the crossing and prevent their access to the LTI [1, 13]. Despite the high cost of these structures, their efficacy is rarely evaluated in practice [7]. Due to technical limitations, this is particularly the case for small wildlife such as amphibians and ground beetles [14, 15].

Several methods are available for monitoring the use of wildlife crossings by amphibians and ground beetles. For example, individuals can be caught at the entrance of the tunnel by pitfall traps, and then counted and/or marked. Monitoring at the exit can then provide information about the transit time within the tunnel. Radio-tracking allows an animal's movements before entering and when leaving a tunnel to be recorded (e.g., [16]).

However, for small animals, the size of the emitter and battery limits the use of radio-tracking [15], making it impossible to record successive positions within the tunnel during the crossing. Camera traps are widely used to monitor tunnels (reviewed in [17] and [18]), and the increasing quality of the recorded pictures/videos and automatic detection devices allow their use for small ectothermic organisms [19–21]. Moreover, the precise trajectory of amphibian during short-term movements can be recorded thanks to fluorescent pigments [22, 23].

In this study, we experimented with the use of RFID (radio-frequency identification) technology to study the crossing of a wildlife tunnel by small vertebrates (amphibians) and ground-dwelling insects (ground beetles). Our method involved marking individuals with PIT (passive integrated transponder) tags, in which an alphanumeric code is stored to identify the individual. While this marking technique is widely used in amphibians (e.g., newts, salamanders and frogs [24–26]), it is more scarce for ground-dwelling insects, though it has been used for mole crickets [27] and weevil beetles [28]. To our knowledge, no previous studies using RFID on ground beetles have been published. With this method, an array of detectors can be used to provide fine-scale movement data, as has been shown with fish [29], lizards [30] and voles [31, 32]. In the context of wildlife passage evaluation, studies

have used PIT tags associated with an array of detectors to monitor a fish pass (e.g., [33, 34]). The system has also been used for terrestrial animals: for example, to detect the passage of tortoises and snakes in tunnels under roadways [16, 35]. It was also used for tracking salamanders migrating on land [14]. However, to our knowledge, it has never previously been used to monitor amphibian or insect movements in wildlife crossings.

To address this gap, we tested an RFID system composed of four detectors placed in a wildlife tunnel to record the behaviour of small animals crossing it. One species of amphibian (*Bufo spinosus*) and two species of flightless ground beetles (*Carabus coriaceus* and *Carabus nemoralis*) were marked and released at the entrance of the tunnel to test the system. The advantages and drawbacks of the method are discussed, as well as recommendations to allow its generalized use in the field.

Methods

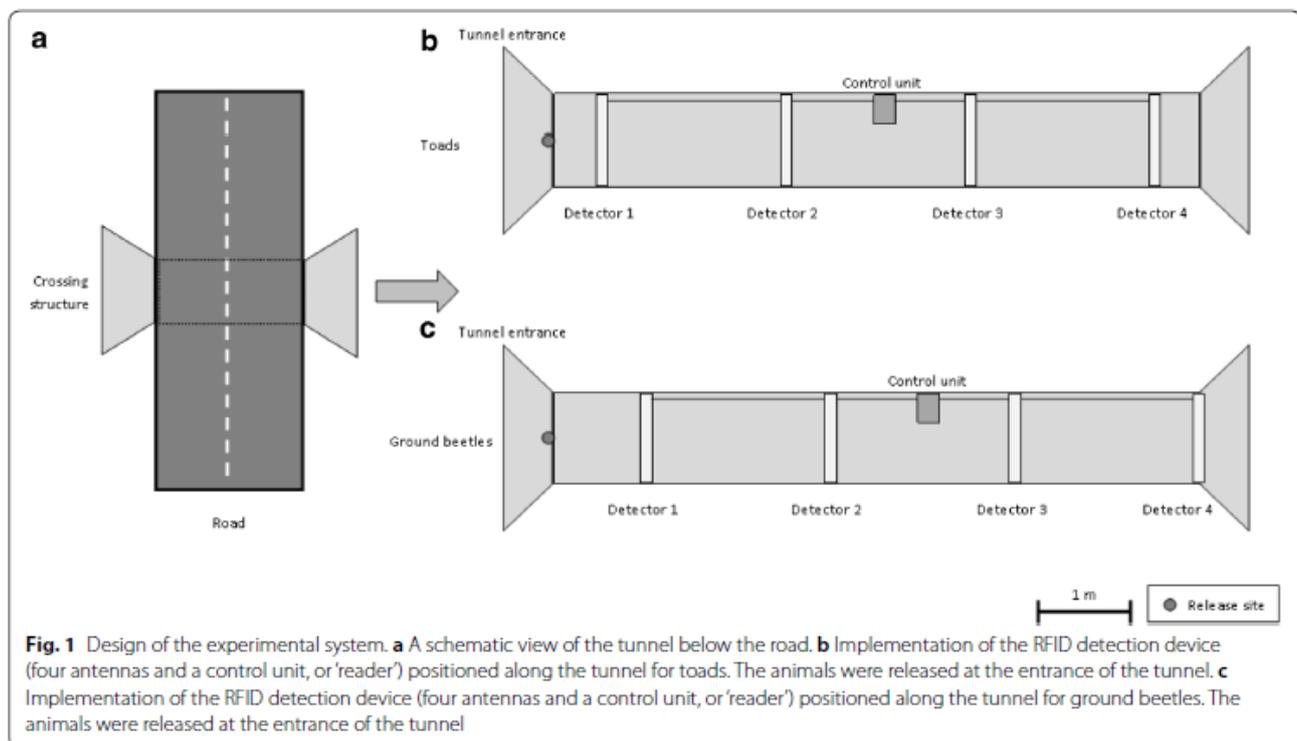
Design of the monitoring system

The structure of the tracking system was almost the same for the two experiments (one with toads and one with carabids). The crossing was an existing tunnel (7-m long, 1-m wide and 1-m high) (Fig. 1) composed of scuppers (drainpipes) that lay under a road. At each end, 50-cm high fences were built to prevent the animals from escaping from the tunnel. A thin layer of soil (less than 8-cm deep) lined the base of the tunnel.

Four detectors were set up within the tunnel. The detectors were Biolog-id outdoor antennas (100 × 8.5 × 2.5 cm) connected to an electronic control unit or 'reader' (which multiplexed the four 134.2 kHz antennas, each protected in a waterproof box). Each antenna included an auto-tuning function and a rechargeable power battery. The detection distance of an antenna was 3 cm, with models of PIT tag and detectors used. The reader, also protected by a waterproof box, had a memory capacity of about 1000 recordings and an interface that worked with Windows software. The minimum time between the detection of two successive PIT tags was 70 ms.

For the toad experiment, the detectors were positioned on the ground of the tunnel. The first detector was positioned at a distance of 0.5 m from the entrance, the second at 2.5 m, the third at 4.5 m and the last at 6.5 m (or 0.5 m from the exit). The distance between the first and last detector was thus about 6 m (Fig. 1). Preliminary observations showed that the toads easily crossed the detectors (thickness of 2.5 cm) when moving in the tunnel.

In the ground beetle experiment, the first detector was located 1 m from the entrance, the second at 3 m, the third at 5 m and the last at 7 m, i.e., at the tunnel exit. The detectors were buried in the soil present in the tunnel,



allowing the beetles to cross them when moving in the tunnel.

The transponders (PIT tags, 1.4×8 mm, weight 34.2 mg) (Biolog-Tiny REF 10268 [R02-0717]) used to mark the toads and insects were electronic chips packaged in a 'biocompatible' glass ampoule that meets international standards for animal identification (ISO 11784/11785).

Amphibian capture and tracking

The study area was located in the region of Pays-de-la-Loire in northwestern France. Within this area, at the beginning of March 2017, 13 adult common toads (*Bufo spinosus*) were collected by hand on rainy or foggy nights while they were migrating to aquatic breeding sites. The toads were measured: the mean snout-vent length was 6 ± 1 cm. They were then kept in opaque plastic tanks ($0.80 \times 0.40 \times 0.25$ m) until the beginning of the experiment. The holding duration was up to 1 week to capture enough individuals for the experiment and release them when the meteorological conditions were favourable for amphibian activity. Each individual was implanted with a PIT tag using an injector with a 1.75 mm diameter needle.

The release of the marked toads in the experimental device started at 9:30 p.m. (i.e., after the sunset), as these toads are active at night in this region and during this season. For the release, a marked toad was kept in an

individual $15 \times 15 \times 15$ cm plastic tank deposited at the entrance of the tunnel for a 5-min period. Each toad was released successively at the entrance of the tunnel every 5 min. At the exit of the tunnel, the individuals were caught, identified and stored in individual plastic tanks. They were released at the exact place of capture the day after the experiment.

Ground beetle capture and tracking

Between 17 and 21 June 2017 in a forest close to the study area, 7 adult ground beetles—*Carabus (Archicarabus) nemoralis* (O.F. Müller, 1764) ($n=3$) and *Carabus (Procastes) coriaceus coriaceus* (L. 1758) ($n=4$)—were captured with pitfall traps. The species *C. nemoralis* is a carabid of 18–28 mm [36] with a weight ranging from 0.360 to 0.605 g [37]. The species *C. coriaceus* is one of the largest carabids in Europe, varying in size from 33 to 40 mm [38], and in weight between 1.195 and 1.878 g [39]. Neither species has functional wings: their active dispersal and movements are strictly ground dwelling [40]. These species are widespread in Europe, but prefer deciduous and mixed forests [38].

Individuals were brought to the laboratory, identified by sex and tagged. The tag was glued to the end of a 30-mm length of fishing line (0.260 mm in diameter, Daiwa Sports Ltd, Wishaw, UK), and the line was then glued to the beetle's elytra (cyanoacrylate glue was used) (Fig. 2). A short adhesive strip (i.e., band aid) was glued on top to

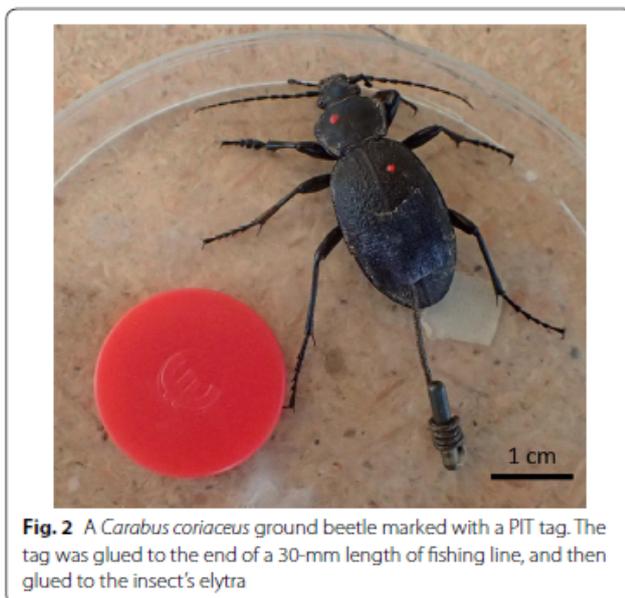


Fig. 2 A *Carabus coriaceus* ground beetle marked with a PIT tag. The tag was glued to the end of a 30-mm length of fishing line, and then glued to the insect's elytra

consolidate the fixation of the fishing line on the beetle's back. Finally, a spot was made on the insect elytra using a paint marker [41] so we could identify marked individuals in case they lost their RFID tag. The overall tagging system weighed around 0.120 g, which is less than 30% of the body mass of these species (19.83–33.33% of the body weight of *C. nemoralis* and 6.38–10.05% of *C. coriaceus* [39], respectively). Tagged individuals were fed ad libitum and stored 24 h at 9 °C until release in the experimental device.

The release in the experimental device followed the method described for toads. As both beetle species are mainly crepuscular and nocturnal [38], release began from dusk (9:26 p.m.) on 22 June 2017 and movements were detected until 9:00 a.m. on 23 June 2017. The recaptured individuals were released at the place of capture the day after the experiment.

Analysis of movements

For each toad, the time of its entrance in and exit from the tunnel was recorded using direct observation. This allowed the calculation of the mean crossing speed. The detection of the marked individuals by the different successive antennas allowed building trajectories in the tunnel.

For each ground beetle, the time of entrance was known through direct observation (i.e., time of release). Due to their small size, nocturnal conditions and low speed traversal limited, direct observation of beetle's exit from the tunnel was difficult to conduct. Therefore, detection by detector 4 was considered the beetle's exit, completed by a visual inspection of the tunnel the day

after the release to check for marked individuals that have crossed detector 4 and may have stayed in the end of the tunnel.

Results

Tunnel crossing by toads

Of the 13 released toads, 12 completely crossed the tunnel, while one made a U-turn and was recaptured at the entrance after staying 120 min inside. It was detected only in detector 1 twice, 3 and 8 min after its release. The toad detectability rate (i.e., the number of toads detected/the number of toads crossing the tunnel) varied between the detectors. The first detector recorded 8/12 marked toads, the second 1/12, the third 4/12 and the last antenna 12/12 (Fig. 3).

The mean crossing time was 41 min 15 s (± 25 min) at a speed of 0.0035 m s^{-1} ($\pm 0.0017 \text{ m s}^{-1}$). One individual took twice as long to cross as the others (Fig. 3).

The path of three individuals (Fig. 4) illustrates the variability of toad movements within the tunnel: individual T1 had a rather constant speed, while individual T7 moved quickly in the first half of the tunnel, and then stayed more than an hour before moving again. Individual T9 moved slowly in the first half of the tunnel, and then accelerated in the second half.

Tunnel crossing by ground beetles

Of the 7 tracked individuals, 6 were at least detected once but only 3 managed to completely cross the tunnel. Three individuals were retrieved inside the tunnel at the end of the experiment and the undetected individual may have made a U-turn before detector 1. This was achieved in an average time of 6 h 11 min (± 3 h 30 min), corresponding to an average speed of 0.0003 m s^{-1} . Individual G1 (a female *C. nemoralis*) crossed the tunnel in 10 h 29 min at a speed of 0.0001 m s^{-1} , individual G2 (a male *C. coriaceus*) crossed in 6 h 13 min at a speed of 0.0003 m s^{-1} and individual G3 (a female *C. nemoralis*) in 3 h 12 min at a speed of 0.0006 m s^{-1} .

The path of the three individuals in the tunnel was variable (Fig. 5): the speed of individual G1 was relatively constant, individual G2 turned back at one point before continuing on to the exit, and individual G3 went slowly in the first 3 m and then moved rapidly (4 m in less than 10 min).

Discussion

Monitoring small animals in wildlife underpasses is subject to specific constraints. While radio-tracking (harmonic radar, VHF, GPS) transmitters or GPS tags can be used to record movements before entering or when leaving a tunnel, they do not allow tracking during the crossing. Another method that is widely used to monitor

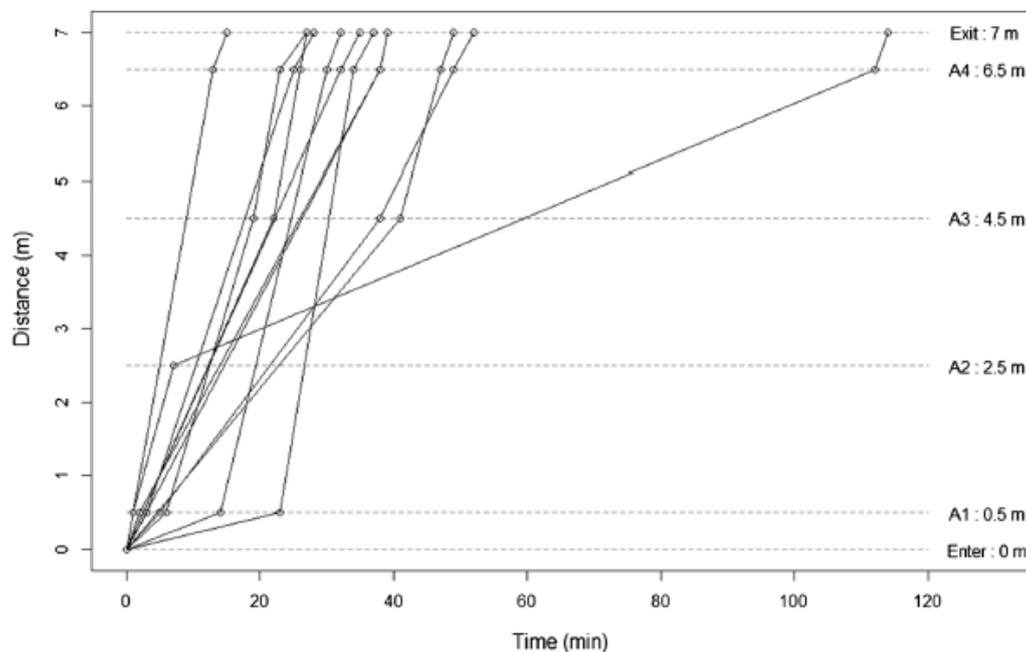


Fig. 3 The individual trajectories of 12 tagged toads that completely crossed the tunnel. The x-axis shows the time (in minutes) from release; the y-axis shows the distance travelled (in metres) from the entrance. Black line = observed toad trajectories; circles = detection events (four detectors); horizontal dotted line = detector' position in metres from the entrance

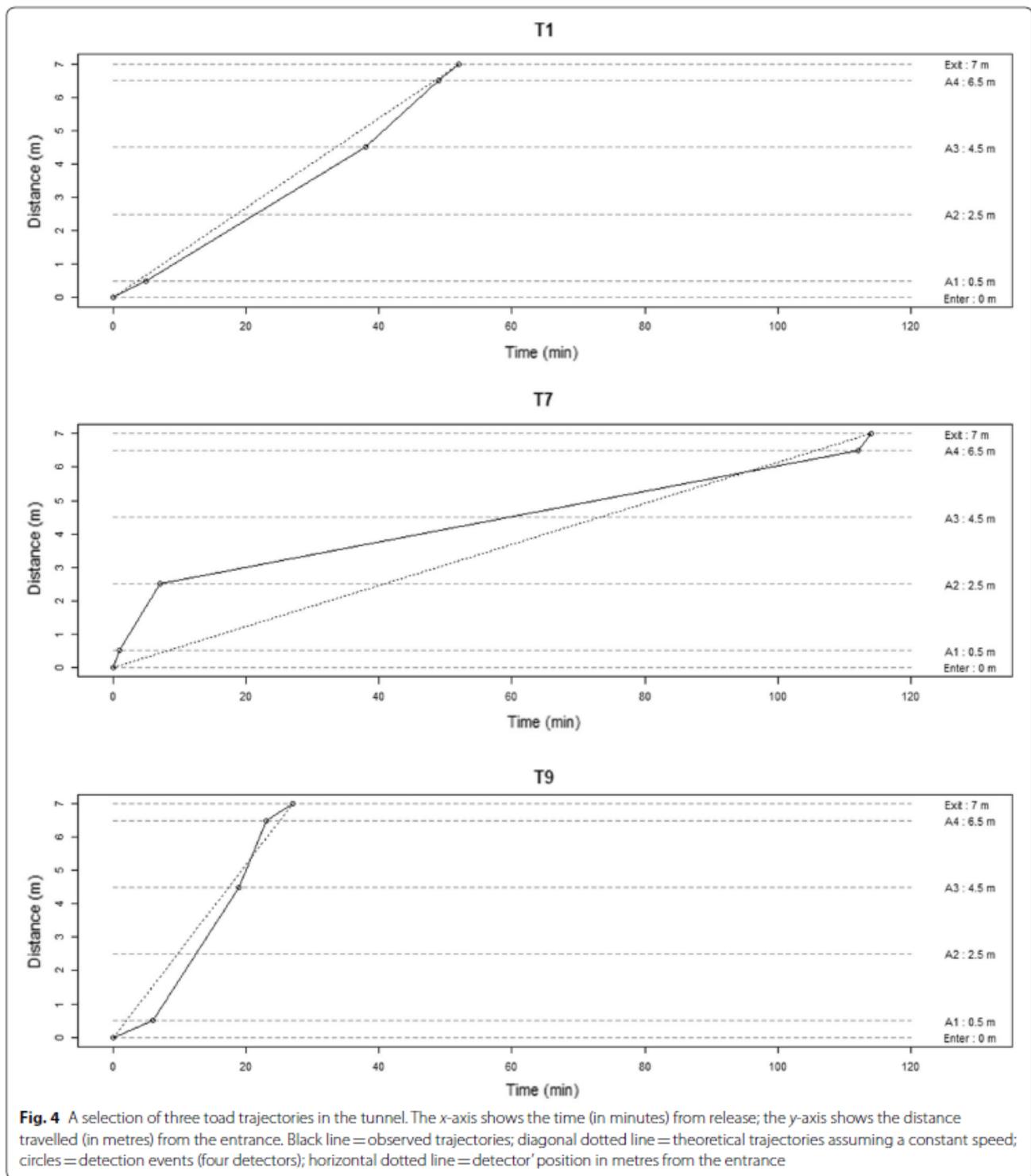
the use of tunnels is camera traps [17]. These have been used to record snakes and terrestrial turtles entering and leaving an ecopassage [16]. In another study, 58 salamanders were detected crossing four tunnels using cameras installed at the entrance, while 104 individuals were caught in pitfall traps at the exit of each tunnel [42]. For insects, monitoring with camera traps is still emerging [43]. The quality of the recorded pictures/videos and issues of detectability currently limit the effectiveness of camera traps for small organisms; however, technological developments may improve their use for small ectothermic animals [18–21]. The fine-scale movements of amphibians have been recording with individuals brushed with fluorescent pigments, leaving a detectable track on the ground [22]. This method was used to monitor in the context of wildlife underpass and it would be interesting to add it to the list of potential methods for their evaluation [23]. The main limitation could be the number of individuals that can be followed together and the need to access the tunnel—that is not always feasible—to follow the tracks left on the ground.

PIT tags associated with an array of detectors can be an effective alternative method when radio-tracking or direct detection (visual or with photos/videos) is not feasible. It has the advantages of PIT tag marking (low price, allowing many animals to be individually marked, plus marking longevity) and allows the automatic recording

of marked individuals over long periods [35]. The price of the automatic recorder (antennas and reader) can limit its implementation in several tunnels, while simultaneous experiments are needed to test for, e.g., amphibian movements in tunnels of various characteristics. This method has been used to monitor fish migration (e.g., [34]) and the use of fish passes—in the latter study, the detectability of the tagged fish was tested experimentally and reached 100% [33]. For terrestrial organisms such as tortoises and snakes, the use of wildlife underpasses under roadways has been evaluated using antennas implanted at the entrance and exit of the tunnel [16, 35]. In our study, we modified this to use several antennas within the tunnel; this allowed the recording of more precise trajectories and behaviour information.

Another challenge with monitoring small animals is marking the individuals. PIT tags, implanted in the body cavity, have been widely used in amphibians, and have been demonstrated as non-invasive (i.e., not affecting behaviour, body condition and/or survival) in newts (e.g., [26, 44]), salamanders (e.g., [25, 45]) and frogs (e.g., [24, 46]).

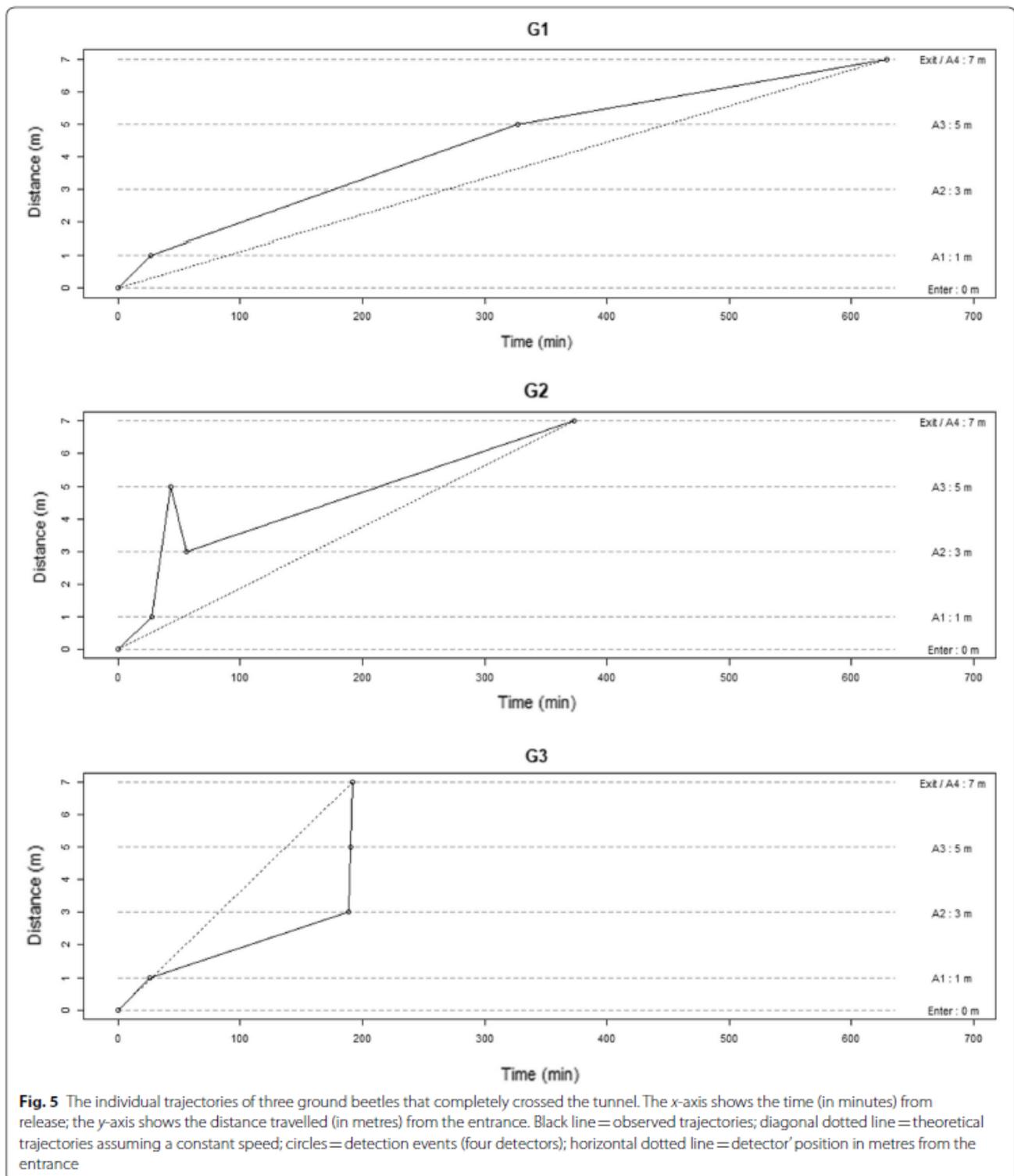
In invertebrates, PIT tags can also be implanted in the body cavity (e.g., in mole crickets, [27]) or glued onto the external tegument (e.g., in weevil beetles, [28]). In our study, a PIT tag was glued onto a ground beetle's elytra (Fig. 2) and this stayed in place long enough for the



experiment (several hours). We consider that the tag did not alter the insect's behaviour.

However, using small PIT tags requires a short detection distance (e.g., less than 30 mm), so the marked animals have to move close to the detector. The animal's

locomotive characteristics can also alter its detection, for example, with jumping animals such as water frogs, etc. In our experiment with toads, the detection rate varies among the antenna while we know that all the individuals crossed the entire tunnel. Precise observation showed that some



toads were able to avoid crossing the antenna by standing along the vertical sidewalls of the tunnel. Adding an object that prevents this behaviour makes it possible to obtain the crossing of all antennas in the following experiments.

Moreover, a minimum time has to elapse between the detection of two successive PIT tags (70 ms in this study). In the case that two individuals simultaneously cross the antenna, only one individual will be recorded.

And if one individual stays on the antenna, the detection of the other individuals will be inhibited [14]. These effects could explain the variation we observed in the detection rate between the four detectors.

Conclusion

In the context of wildlife crossings, while a large variety of animals can use them, evaluations tend to be species specific and mainly focus on large animals [13, 47, 48]. The system tested in this study, based on PIT tags, an array of detectors, and automatic recording, allows the detection of small animals (e.g., mammals, amphibians, reptiles and insects), and can provide precise behavioural information on how they react to tunnel characteristics. This system has the potential to enhance the ability to evaluate wildlife passages, resulting in more detailed information that is critical in improving their design [49]. Targeted experiments could also be implemented to test particular tunnel characteristics (e.g., length, substrate, luminosity, etc.) to guide the design of new wildlife crossings or modify existing ones.

Acknowledgements

We would like to thank A. Conan, E. Garcia, A. Legrand, Q. Le Petitcorps, Fiona Pujalte and Victor Vergnes Pujalte for their support in the field and D. Picard for student supervision. Many thanks to Elise Bradbury (elisebrad@gmail.com) for the text review and editing. This manuscript was improved by the reviewer's constructive comments.

Authors' contributions

GT, AV, PC, DL and CM designed the study. GT and AV conducted the experiments. GT, AV and CM conducted the analysis. All authors contributed to the writing. All authors read and approved the final manuscript.

Funding

Funding for this research programme was provided by the civil engineering construction firm Eiffage within the framework of the environmental observatory during the construction/exploitation of the LGV Bretagne–Pays-de-la-Loire high-speed railway line. GT was directly funded by the French National Research and Technology Agency (ANRT-CIFRE), Grant No. 2017/0212 and the engineering firm Egis. The tags and detectors were provided by Eiffage, Egis and the Ecole Pratique des Hautes Etudes (EPHE).

Availability of data and materials

Not applicable.

Ethics approval and consent to participate

Authorization to catch common toads as a control was provided by the regional government of the study area (Regional Environment, Housing and Planning Agency of Sarthe, Mayenne and Ille-et-Vilaine, interprefectoral derogation from the prohibition to capture and transport specimens of protected animal species, 29 May 2017).

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests. PC is a scientist in a private company specializing in RFID marking, including wildlife.

Author details

¹UMR 5175 CEFE, EPHE, CNRS, UM, Univ P. Valéry, SupAgro, IRD, INRA, Biogéographie et Écologie des Vertébrés, PSL Research University, 34293 Montpellier, France. ²UMR 5175 CEFE, CNRS, EPHE, UM, SupAgro, IRD, INRA, Université Paul

Valéry, 34293 Montpellier, France. ³Biolog-Id, 1 rue du Commandant Robert Malrait, 27303 Bernay, France. ⁴Egis Structures & Environnement, 33-43, Avenue Georges Pompidou, 31130 Balma, France.

Received: 31 January 2019 Accepted: 3 October 2019

Published online: 22 October 2019

References

- Jackson SD. Overview of transportation related wildlife problems. In: proceedings of the international conference on wildlife ecology and transportation. FL-ER-69-98, Tallahassee: Florida Department of Transportation; 2000. p. 1–4.
- Rytwinski T, Soanes K, Jaeger JA, Fahrig L, Findlay CS, Houlahan J, et al. How effective is road mitigation at reducing road-kill? A meta-analysis. *PLoS ONE*. 2016;11(11):e0166941.
- Andrews KM, Gibbons JW, Jochimsen DM, Mitchell J. Ecological effects of roads on amphibians and reptiles: a literature review. *Herpetol Conserv*. 2008;3:121–43.
- Colino-Rabanal VJ, Lizana M. Herpetofauna and roads: a review. *Basic Appl Herpetol*. 2012;31(26):5–31.
- Puky M. Amphibian road kills: a global perspective. In: Irwin CL, Garrett P, McDermott KP (eds) Proceedings of the 2005 international conference on ecology and transportation. Raleigh, NC: Center for Transportation and the Environment, North Carolina State University; 2005. p. 325–38.
- Fahrig L, Rytwinski T. Effects of roads on animal abundance: an empirical review and synthesis. *Ecol Soc*. 2009;14(1):21.
- van der Grift EA, van der Ree R, Fahrig L, Findlay CS, Houlahan J, Jaeger JA, et al. Evaluating the effectiveness of road mitigation measures. *Biodivers Conserv*. 2013;22(2):425–48.
- Koivula MJ, Vermeulen HJW. Highways and forest fragmentation—effects on carabid beetles (Coleoptera, Carabidae). *Landsc Ecol*. 2005;20(8):911–26.
- Muñoz PT, Torres FP, Megías AG. Effects of roads on insects: a review. *Biodivers Conserv*. 2015;24(3):659–82.
- Niemelä J. Carabid beetles (Coleoptera: Carabidae) and habitat fragmentation: a review. *EJE*. 2013;98(2):127–32.
- Forman RTT, Alexander LE. Roads and their major ecological effects. *Annu Rev Ecol Syst*. 1998;29(1):207–31.
- Mader HJ, Schell C, Kornacker P. Linear barriers to arthropod movements in the landscape. *Biol Conserv*. 1990;54(3):209–22.
- Glista DJ, DeVault TL, DeWoody JA. A review of mitigation measures for reducing wildlife mortality on roadways. *Landsc Urban Plan*. 2009;91(1):1–7.
- Charney ND, Letcher BH, Haro A, Warren PS. Terrestrial passive integrated transponder antennae for tracking small animal movements. *J Wildl Manag*. 2009;73(7):1245–50.
- Kissling WD, Pattermore DE, Hagen M. Challenges and prospects in the telemetry of insects. *Biol Rev*. 2014;89(3):511–30.
- Baxter-Gilbert JH, Riley JL, Lesbarrères D, Litzgus JD. Mitigating reptile road mortality: fence failures compromise ecopassage effectiveness. *PLoS ONE*. 2015;10(3):e0120537.
- Jumeau J. Les possibilités de dispersion et éléments d'habitat-refuge dans un paysage d'agriculture intensive fragmenté par un réseau routier dense: le cas de la petite faune dans la plaine du Bas-Rhin [PhD Thesis]. Strasbourg; 2017.
- Welbourne DJ, Paull DJ, Claridge AW, Ford F. A frontier in the use of camera traps: surveying terrestrial squamate assemblages. *Remote Sens Ecol Conserv*. 2017;3(3):133–45.
- Hobbs MT, Brehme CS. An improved camera trap for amphibians, reptiles, small mammals, and large invertebrates. *PLoS ONE*. 2017;12(10):e0185026.
- Jarvis LE, Hartup M, Petrovan SO. Road mitigation using tunnels and fences promotes site connectivity and population expansion for a protected amphibian. *Eur J Wildl Res*. 2019;65(2):27.
- Petrovan SO, Schmidt BR. Neglected juveniles; a call for integrating all amphibian life stages in assessments of mitigation success (and how to do it). *Biol Conserv*. 2019;1(236):252–60.
- Eggert C. Use of fluorescent pigments and implantable transmitters to track a fossorial toad (*Pelobates fuscus*). *Herpetol J*. 2002;12(2):69–74.

23. Matos C, Petrovan SO, Wheeler PM, Ward AI. Short-term movements and behaviour govern the use of road mitigation measures by a protected amphibian. *Anim Conserv*. 2019;22(3):285–96.
24. Matthews KR, Preisler HK. Site fidelity of the declining amphibian *Rana sierrae* (Sierra Nevada yellow-legged frog). *Can J Fish Aquat Sci*. 2010;67(2):243–55.
25. Ott JA, Scott DE. Effects of toe-clipping and PIT-tagging on growth and survival in metamorphic *Ambystoma opacum*. *J Herpetol*. 1999;33(2):344–8.
26. Perret N, Joly P. Impacts of tattooing and PIT-tagging on survival and fecundity in the Alpine newt (*Triturus alpestris*). *Herpetologica*. 2002;1(58):131–8.
27. O'Neal ME, Landis DA, Rothwell E, Kempel L, Reinhard D. Tracking insects with harmonic radar: a case study. *Am Entomol*. 2004;50(4):212–8.
28. Vinatier F, Chailleux A, Duyck P-F, Salmon F, Lescourret F, Tixier P. Radiotelemetry unravels movements of a walking insect species in heterogeneous environments. *Anim Behav*. 2010;80(2):221–9.
29. Zydlewski GB, Horton G, Dubreuil T, Letcher B, Casey S, Zydlewski J. Remote monitoring of fish in small streams. *Fisheries*. 2006;31(10):492–502.
30. Gruber B. Measuring activity of geckos with an automatic movement monitoring system. *Herpetol Rev*. 2004;35(3):245.
31. Godsall B, Coulson T, Malo AF. From physiology to space use: energy reserves and androgenization explain home-range size variation in a woodland rodent. *J Anim Ecol*. 2014;83(1):126–35.
32. Harper SJ, Batzli GO. Monitoring use of runways by voles with passive integrated transponders. *J Mammal*. 1996;77(2):364–9.
33. Lucas MC, Mercer T, Armstrong JD, McGinty S, Rycroft P. Use of a flat-bed passive integrated transponder antenna array to study the migration and behaviour of lowland river fishes at a fish pass. *Fish Res*. 1999;44(2):183–91.
34. Prentice E. PIT-tag monitoring systems for hydroelectric dams and fish hatcheries. In: American fisheries society symposium. 1990. p. 323–34.
35. Boarman WL, Beigel ML, Goodlett GC, Sazaki M. A passive integrated transponder system for tracking animal movements. *Wildl Soc Bull*. 1998;26:886–91.
36. Turin H. De Nederlandse loopkevers: verspreiding en oecologie (Coleoptera: Carabidae). In: Nationaal natuurhistorisch museum, editor. Leiden, Pays-Bas: Nationaal Natuurhistorisch Museum; 2000.
37. Weber F, Heimbach U. Behavioural, reproductive and developmental seasonality in *Carabus auronitens* and *Carabus nemoralis* (Col., Carabidae). *Mitteilungen Aus Biol Bundesanst Für Land-Forstwirtschaft*. 2001;382:1–194.
38. Hürka K. Carabidae of the Czech and Slovak Republics. Zlin: Ing. Vít Kabourek; 1996.
39. Riecken U, Raths U. Use of radio telemetry for studying dispersal and habitat use of *Carabus coriaceus* L. In: *Annales Zoologici Fennici*. JSTOR; 1996. p. 109–116.
40. Ribera I, Dolédec S, Downie IS, Foster GN. Effect of land disturbance and stress on species traits of ground beetle assemblages. *Ecology*. 2001;82(4):1112–29.
41. Vergnes A, Chantepie S, Robert A, Clergeau P. Are urban green spaces suitable for woodland carabids? First insights from a short-term experiment. *J Insect Conserv*. 2013;17(4):671–9.
42. Pagnucco KS, Paszkowski CA, Scrimgeour GJ. Characterizing movement patterns and spatio-temporal use of under-road tunnels by long-toed salamanders in Waterton Lakes National Park, Canada. *Copeia*. 2012;2012(2):331–40.
43. Collett RA, Fisher DO. Time-lapse camera trapping as an alternative to pitfall trapping for estimating activity of leaf litter arthropods. *Ecol Evol*. 2017;7(18):7527–33.
44. Jehle R, Hodl W. Pits versus patterns: effects of transponders on recapture rate and body condition of Danube crested newts (*Triturus dobrogicus*) and common spadefoot toads (*Pelobates fuscus*). *Herpetol J*. 1998;8:181–6.
45. Schulte U, Küsters D, Steinfartz S. A PIT tag based analysis of annual movement patterns of adult fire salamanders (*Salamandra salamandra*) in a Middle European habitat. *Amphib-Reptil*. 2007;28(4):531–6.
46. Christy M. The efficacy of using Passive Integrated Transponder (PIT) tags without anaesthetic in free-living frogs. *Aust Zool*. 1996;30(2):139–42.
47. Clevenger AP, Waltho N. factors influencing the effectiveness of wildlife underpasses in Banff National Park, Alberta, Canada. *Conserv Biol*. 2000;14(1):47–56.
48. Yanes M, Velasco JM, Suarez F. Permeability of roads and railways to vertebrates: the importance of culverts. *Biol Conserv*. 1995;71(3):217–22.
49. Pomezanski D, Bennett L. Developing recommendations for monitoring wildlife underpass usage using trail cameras. *Environ Monit Assess*. 2018;190(7):413.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more blom.edcentral.com/submissions



II. L'enrichissement acoustique des passages à faune sous les voies ferrées améliore leur utilisation par les amphibiens

Cette partie a fait l'objet d'une publication en septembre 2019 dans la revue « Global Ecology and Conservation ».

1. Résumé de publication

Les infrastructures de transport linéaire peuvent avoir un impact direct ou indirect sur la faune et la flore, et les amphibiens sont particulièrement touchés. Dans certains cas, des mesures d'atténuation, comme des tunnels sous les infrastructures de transport linéaire sont mises en œuvre (mesures de réduction), alors qu'une évaluation de leur efficacité fait souvent défaut, en particulier pour les petits animaux comme les amphibiens. Peu d'études ont porté sur le comportement de passage dans les passages souterrains, mais ces informations peuvent être cruciales pour améliorer les mesures d'atténuation. Dans cette étude, nous avons mené des expériences dans trois tunnels sous une ligne ferroviaire à grande vitesse avec des amphibiens marqués individuellement (Triton crêté *Triturus cristatus*, Triton marbré *Triturus marmoratus*, Triton alpestre *Ichthyosaura alpestris*, Salamandre tachetée *Salamandra salamandra*, Crapaud épineux *Bufo spinosus*, Grenouille agile *Rana dalmatina* et Grenouille verte *Pelophylax kl. esculentus/lessonae*) qui ont été relâchés à l'entrée de tunnels de longueur variable. Les comportements (par exemple, franchissement complet, aller-retour) et la vitesse de traversée ont été enregistrés. *Rana dalmatina*, *S. salamandra* et *T. cristatus* (mais pas *B. spinosus*) ont montré des différences de fréquences des comportements dans les tunnels de 21 m et 40 m de long, la fréquence d'individus qui a franchit complètement le tunnel est plus importante dans le tunnel de 21 m. La vitesse de franchissement de la salamandre tachetée et du Triton crêté ne différait pas entre les tunnels de différentes longueurs. Dans une deuxième expérience, nous avons évalué l'effet de l'enrichissement acoustique sur le comportement de traversée d'une espèce de grenouille (*Pelophylax spp*) et de trois espèces de tritons (*T. cristatus*, *T. marmoratus* et *I. alpestris*) en diffusant un enregistrement sonore des chants des espèces d'anoues sympatriques (*Pelophylax spp* et *Hyla arborea*). Les *Pelophylax spp* ont montré une forte augmentation des franchissements complets et de la vitesse. Les *T. cristatus* ont montré une augmentation du nombre de franchissements complets (mais pas de la vitesse) dans l'un des tunnels avec l'enrichissement acoustique. Ces résultats indiquent le fort potentiel de l'enrichissement acoustique pour attirer les amphibiens dans différents contextes et pourraient contribuer à éclairer la conception des passages pour la faune en tant que mesures d'atténuation pour les populations d'amphibiens touchées, bien que davantage d'expériences sur l'effet des caractéristiques des tunnels sur le comportement des amphibiens seraient utiles.

2. Acoustic enrichment in wildlife passages under railways improves their use by amphibians

Guillaume Testud, Clément Fauconnier, Dorothee Labarraque, Thierry Lengagne, Quentin Le Petitcorps, Damien Picard and Claude Miaud

<https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e01252>



Original Research Article

Acoustic enrichment in wildlife passages under railways improves their use by amphibians

Guillaume Testud^{a, b}, Clément Fauconnier^a, Dorothee Labarraque^b, Thierry Lengagne^c, Quentin Le Petitcorps^a, Damien Picard^d, Claude Miaud^{a, *}^a Biogeography and Vertebrate Ecology, PSL University, UMR 5175 CEFE, EPHE, 1919 Route de Mende, 34293, Montpellier, France^b Egis Structures & Environnement, 33-43 Avenue Georges Pompidou, 31130, Balma, France^c Laboratoire d'écologie des hydrosystèmes Naturels et Anthropisés, UMR CNRS 5023 3, Rue Raphaël Dubois - Bât. Darwin, C F-69622, Villeurbanne Cedex, France^d Laboratoire Cogitamus, Université d'Angers, 40 Rue de Rennes, 49035, Angers, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 26 May 2020

Received in revised form 25 August 2020

Accepted 25 August 2020

Keywords:

Transport infrastructure

Tunnels

Mitigation evaluation

Acoustic orientation

ABSTRACT

Linear transport infrastructure can impact wildlife directly or indirectly, and amphibians are particularly affected. In some cases, mitigation measures – such as tunnels below the linear transport infrastructure – are implemented, but an evaluation of their effectiveness is often lacking, especially for small animals such as amphibians. Few studies have focused on crossing behaviour in underpasses, yet this information may be crucial to improve mitigation measures. In this study, we conducted experiments in three tunnels below a high-speed railway with individually marked amphibians (great crested newt *Triturus cristatus*, marbled newt *Triturus marmoratus*, alpine newt *Ichthyosaura alpestris*, fire salamander *Salamandra salamandra*, spined toad *Bufo spinosus*, agile frog *Rana dalmatina* and edible/pool frog *Pelophylax kl. esculentus/lessonae*) which were released at the entrance of tunnels varying in length. Behaviours (e.g. completed crossing, U-turn, not moving, and stay) and crossing speed were recorded. *R. dalmatina*, *S. salamandra* and *T. cristatus* (but not *B. spinosus*) exhibited crossing rate differences between tunnels 21 m and 40 m in length. More individuals performed “complete crossing” through the shorter tunnel. The crossing speed of the *S. salamandra* and *T. cristatus* did not differ between the tunnels of different lengths. In a second experiment, we evaluated the effect of acoustic enrichment on the crossing behaviour of one frog and three newt species by broadcasting a soundtrack of mating calls of syntopic anuran species in the tunnels. *Pelophylax kl* exhibited a large increase in complete crossings and in speed. *T. cristatus* showed an increase in tunnel complete crossings (but not speed) in one of the acoustically enhanced tunnels. These results indicate that acoustic enrichment can improve the crossing of underpasses. This low cost and easily implementable method could help to inform the design of wildlife passages as mitigation measures for impacted amphibian populations, though more experiments on the effect of tunnel characteristics on amphibian behaviour would be valuable.

© 2020 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Corresponding author.

E-mail address: claude.oaid@cefe.cnrs.fr (C. Miaud).

1. Introduction

Global passenger and freight travel is expected to double from its level in 2010 in coming decades, and it is projected that around the world an additional 25 million kilometres of paved roads and 335,000 km of railway tracks will be needed (Dulac, 2013). The effects of linear transport infrastructure (LTI) such as roads and railways on animals have long been known (Barbour, 1895) and have been extensively studied (e.g. Rytwinski and Fahrig, 2015). The construction of LTI in landscapes can directly alter the physical environment by changing the habitat surface as well as its connectivity, impacting animals through direct mortality and behaviour changes in land use and movements (Jackson and Griffin, 2000; Trombulak and Frissell, 2000). The resulting decrease in population size, landscape connectivity and dispersal can significantly alter the viability of populations (Eigenbrod et al., 2008; Forman and Alexander, 1998; Glista et al., 2009; Hamer et al., 2014; Lesbarrères and Fahrig, 2012).

By affecting connectivity, landscape fragmentation caused by LTI can alter the two main types of animal movements: (1) migration (i.e. seasonal movements between different landscapes at different times of an individual's lifecycle), and (2) dispersal (i.e. an individual's movement away from its birth area to reproduce in a different population) (Joly, 2019; Ronce, 2007). As a consequence, it is not surprising that amphibians, which have a biphasic lifecycle (terrestrial and aquatic), are one of the groups most affected by landscape fragmentation (Beebee, 2013; Cushman, 2006; Holderegger and Di Giulio, 2010).

Wildlife passages constructed for small vertebrates (often tunnels below railway tracks) aim to reduce the barrier effect and thus its alteration of population functioning (Beebee, 2013; Clevenger and Ford, 2010; Colino-Rabanal and Lizana, 2012; Dodd et al., 2004; Hamer et al., 2014; Jarvis et al., 2019). However, while evaluating the effectiveness of these structures for different species is crucial (Jarvis et al., 2019; Lesbarrères and Fahrig, 2012), amphibian behaviour near and inside the tunnels is rarely investigated (Matos et al., 2018; Testud and Miaud, 2018). Some experiments have tested abiotic tunnel characteristics such as diameter and length (Patrick et al., 2010), substrate (Lesbarrères et al., 2004; Trochet et al., 2019), and light, humidity and temperature (Bain et al., 2017). Biotic parameters (e.g. physiological condition of amphibians, vegetation colonization of the tunnels) or social information (e.g. presence of conspecific cues), on the other hand, have been little studied.

According to the chorus attraction hypothesis (Gerhardt and Huber, 2002), amphibians may use the calls of conspecifics or other species for orientation (Buxton et al., 2015; Diego-Rasilla and Luengo, 2007, 2004; James et al., 2015; Madden and Jehle, 2017; Pupin et al., 2007; Swanson et al., 2007). For example, adult of marbled newt *Triturus marmoratus* orientate to the calls of the natterjack toad *Epidalea calamita* in an experimental arena (Diego-Rasilla and Luengo, 2004). Wildlife managers have begun capitalizing on this acoustic attraction to lure animals to specific places by broadcasting vocalizations (Putman and Blumstein, 2019). In amphibians, acoustic enrichment with conspecific chorus calls has been shown to improve the colonization of new ponds by frogs and toads (Buxton et al., 2015; James et al., 2015). These findings suggest that acoustic enrichment might be an interesting avenue to explore to increase the effectiveness of wildlife passages.

The aim of this study was to evaluate the use of wildlife passages by amphibians and investigate methods to improve their effectiveness. To this end we studied the movement of seven European amphibian species (spined toad *Bufo spinosus*, agile frog *Rana dalmatina*, edible/pool frogs *Pelophylax kl. esculentus/lessonae*, fire salamander *Salamandra salamandra*, alpine newt *Ichthyosaura alpestris*, marbled newt *T. marmoratus* and great crested newt *Triturus cristatus*), in underpasses below a high-speed railway track in France by: (1) performing homing experiments to compare their ability to cross tunnels of two lengths in the same location, and (2) evaluating the efficacy of acoustic enrichment by analysing different crossing behaviours and speed in tunnels with and without the broadcasting of anuran calls.

2. Materials and methods

2.1. Study area and wildlife crossing structures

The study area was located in the region of Pays-de-la-Loire in northwestern France. Our focus was on three wildlife crossing structures constructed at different locations under the same high-speed railway track. Tunnels 1 and 2 are separated by a distance of 800 m and are close to the town of Chantenay-Villedieu. Tunnel 3 is about 70 km (direct distance) from the other tunnels and is close to the town of Beaulieu-sur-Oudon. The three tunnels consist of square concrete culvert of 1 m in width and 1 m in height (Fig. 1): in length, tunnel 1 is 21 m, tunnel 2 is 40 m and tunnel 3 is 18.5 m. Tunnels 1 and 2 are dry fauna-crossing structures installed for amphibians, while tunnel 3 is a hydraulic structure that had a light trickle of water during the experimental period.

The tunnels were implemented in areas where previous inventories showed the presence of many ponds and amphibian migration between these ponds and surrounding terrestrial habitats. The individuals used in the homing experiments were collected (in water and on land, see below) in the closed surrounding of the tunnels (e.g. less than 500 m).

2.2. Capture and marking of specimens

Specimens of seven species most representative of the local amphibian community were captured for the study (*B. spinosus*, *S. salamandra*, *R. dalmatina*, *P. kl. esculentus/lessonae*, *I. alpestris*, *T. marmoratus* and *T. cristatus*). The seven species were captured using methods that depended on the species. *B. spinosus* and *S. salamandra* were collected on land before

reproduction (from February to early April in 2018 and 2019) during nocturnal transects along railway track fences. Individuals of *R. dalmatina* were caught in water at the beginning of the species' reproductive period (from February to early March 2019) with minnow traps (mesh 4 mm). *P. kl. esculentus/lessonae* (consisting of the edible frog *P. kl. esculentus* and the pool frog *P. lessonae*: hereafter, *Pelophylax kl.*) were caught in ponds before egg-laying (mid-May 2018 and 2019) manually or with a dip-net at night with the help of a flashlight. *I. alpestris* and *T. marmoratus* were caught in ponds during their reproductive period (mid-May 2019) with minnow traps. *T. cristatus* individuals were caught in ponds during their reproductive period (from mid-February to mid-May 2018 and 2019) with minnow traps. A total of 1179 individuals were captured: the numbers for each species are provided in Table 1.

The captured specimens were marked with transponders (PIT-tags, 1.4 × 8 mm, weight 34.2 mg, Biolog-Tiny REF 10268 [R02-0717]), consisting of electronic chips packaged in a 'biocompatible' glass ampoule that meet international standards for animal identification (ISO 11784/11785). The animals were anaesthetized with 2% xylocaine (ointment). The PIT-tags were injected subcutaneously at the intersection of the belly and flank with a PIT-tag injector (Biolog-Tiny REF 10268 [R0 955]). They were housed in several opaque plastic tanks (0.80 × 0.40 × 0.25 m) with moist forest litter. They were kept outside, close to the capture site, in a shaded place with an ambient temperature ranging from 5 °C (night) to 15 °C (day). The time spent in captivity between capture and the experiment was about 1–2 days for newts, toads and frogs. As the number of *S. salamandra* captured in a night could be low, some of these individuals were housed for up to 10 days. The results obtained with individuals housed 1–5 days and individuals housed 6–10 days were similar (χ^2 test, P-value = 0.47). The individuals were released at the place of capture the day after the experiment. Authorization to catch amphibians was provided by the regional government of the study area (Regional Environment, Housing and Planning Agency of Sarthe, Mayenne and Ille-et-Vilaine, interprefectoral derogation from the prohibition to capture and transport specimens of protected animal species, May 29, 2017). The protocols used in this study were approved by the Ethical Committee of UMR 5175 CEFE (Montpellier, France), decision of the committee held on June 27, 2017.

2.3. Experiments

Before an experiment, each individual was identified by a hand-held RFID reader (reader RS1-F1, Biolog-ID©, reading distance = 4–10 cm). One experimenter with a reader was positioned at the entrance and another at the exit of the tunnel. The tested individual was released at the entrance of the tunnel and the exact time recorded (min). If the individual did not move in the tunnel after 10 min, it was returned to a new storage tank. Individuals that entered the tunnel but then did a U-turn and exited at the entrance were returned to a new storage tank after noting the exact time of exit. If the individual crossed the tunnel, the experimenter at the exit noted the individual's number and the exact time of exit and then returned it to a new storage tank.



Fig. 1. Tunnel implemented under a railway as mitigation for the amphibian community (square concrete culvert 21 m length, 1 m high, 1 m width).

Table 1

Number of individuals of the seven species tested in the different experiments. Life stage A = adult; J = juvenile. (1) caught on land before reproduction; (2) caught when entering water (before egg laying); (3) caught in water before egg laying; (4) caught in water during reproduction.

Species	Life stage	Without acoustic enrichment			With acoustic enrichment			Total		
		Tunnel 1	Tunnel 2	Tunnel 3	Tunnel 1	Tunnel 2	Tunnel 3	Tunnel 1	Tunnel 2	Tunnel 3
<i>Bufo spinosus</i> (1)	A	5	14					5	14	
	J	7	15					7	15	
<i>Rana dalmatina</i> (2)	A	50	9					50	9	
	J									
<i>Pelophylax kl</i> (3)	A			228			35			263
	J			61						61
<i>Salamandra salamandra</i> (1)	A	69	32					69	32	
<i>Ichtyosaurus alpestris</i> (4)	A			36			30			66
<i>Triturus cristatus</i> (4)	A	229	59	62	46	46	71	275	105	133
	J	16	3	7	14	3	4	30	6	11
<i>Triturus marmoratus</i> (4)	A			14			14			28

The experiments were conducted over 22 nights from March 2018 to May 2018 and from February to May 2019 (tunnel 1 = 7 nights, tunnel 2 = 7 nights, tunnel 3 = 8 nights). They were performed after sunset (from about 7:00pm to 9:30pm). During a test, an individual was released at the tunnel entrance every 1 min. In the case of the presence of a returning individual (animals within 50 cm of the entrance and moving towards the tunnel entrance), the next release was stopped until the capture of this individual. The experiment was stopped 4 h 30 min after the last tested individual was released at the entrance to start its crossing. The individuals that did not exit the tunnel – either at the entrance or at the exit – were then collected by an experimenter, identified and their position in the tunnel was recorded.

2.4. Crossing behaviour

The crossing behaviour of specimens in the tunnels was described by four main behavioural categories: (1) 'Not moving': individuals that did not move in the tunnel after 10 min, (2) 'U-turn': individuals that entered the tunnel but did a U-turn and exited at the entrance, (3) 'Stay': individuals that did not exit at the entrance or at the exit by the end of the experiment, and (4) 'Complete crossing': individuals that crossed the tunnel to the exit. The proportions of each behaviour category were calculated as the number of individuals displaying the behaviour divided by the number of individuals tested.

Additionally, in two Urodela species (*T. cristatus* and *S. salamandra*), the crossing speed in tunnels 1 and 2 was evaluated for individuals that entirely crossed the passage. This was estimated by the length of the tunnel (in metres) divided by the time taken to completely cross the tunnel (in minutes). The mean speeds between tunnels were compared with a Wilcoxon-Mann-Whitney test.

2.5. Acoustic enrichment

In 2019, an acoustic enrichment experiment was performed during the crossing experiments. In this test, we used a soundtrack of a mixed chorus of edible frog *Pelophylax kl esculentus* and European tree frog *Hyla arborea*, the two main species using mating calls in the ponds in our study area. The recordings were made with an omnidirectional microphone (Sennheiser ME62/K6, flat frequency response between 20 Hz and 20 kHz) coupled with a Fostex FR2LE recorder. The signal was sampled at 44.1 kHz with a 16-bit dynamic. Files were saved in .wav format. The stereo soundtrack was emitted using a D-Jix M349BT MP3 audio player connected to two loudspeakers (BOOM 2, Ultimate Ears). The loudspeakers were installed outside the tunnel, 10 m from the exit and space 5 m apart. The average amplitude of the signal emitted was set at 74.8 ± 0.8 dB with a Lutron SL-4001 sound level meter (mean \pm SD, 1 m from the loudspeaker, C weighting, slow settings, re: 20 μ Pa). The number of individuals and the species tested in these experiments are provided in Table 1.

2.6. Statistical analysis

The proportion of each behaviour category was compared between tunnels (of different lengths and with or without acoustic enrichment) using the Fisher-Freeman-Halton test or χ^2 test (depending on the sample size for each behaviour category). The mean speed of individuals that completely crossed a tunnel was compared between tunnels with a Wilcoxon-Mann-Whitney test.

3. Results

3.1. Crossing behaviour and speed in tunnels of different lengths

In adult *T. cristatus* newts, the proportion of behaviour categories significantly differed between tunnel 1 and 2 (tunnel 1 N = 222; tunnel 2 N = 59, χ^2 test, p-value: 0.00091). More 'complete crossings' and less 'U-turns' were observed in the

shorter tunnel (Fig. 2a). In juvenile *T. cristatus* newts, the proportion of behaviour categories was not compared between tunnel 1 and 2 because of the low number of individuals in tunnel 2 (tunnel 1 N = 16; tunnel 2 N = 3, Fig. 2b). In *S. salamandra* adults, the proportion of behaviour categories also significantly differed between tunnel 1 and 2 (tunnel 1 N = 69; tunnel 2 N = 32, Fisher-Freeman-Halton test, p-value: 0.00091). More 'complete crossings' and fewer 'stays' were observed in the shorter tunnel (Fig. 2c). In adult *R. dalmatina* frogs, the proportion of behaviour categories did not differ between tunnel 1 and 2 (tunnel 1 N = 50; tunnel 2 N = 9, Fisher-Freeman-Halton test p-value: 0.07). However, no 'complete crossings' and more 'U-turns' were observed in the longer tunnel (Fig. 2d). In adult *B. spinosus* toads, the proportion of behaviour categories did not differ between tunnel 1 and 2 (tunnel 1 N = 5; tunnel 2 N = 14, Fisher-Freeman-Halton test, p-value: 0.5, Fig. 2e). This was also the case for juvenile *B. spinosus* toads (tunnel 1 N = 7; tunnel 2 N = 15, Fisher-Freeman-Halton test, p-value: 0.6, Fig. 2f).

According to the previous results, individuals (in *S. salamandra* and *T. cristatus*) that completely crossed a tunnel allowed estimating a mean crossing speed. In *S. salamandra* adults, the crossing speed did not differ between tunnel 1 and 2 (tunnel 1 N = 47; tunnel 2 N = 11, Wilcoxon-Mann-Whitney test, p-value: 0.71, Fig. 3). This was also the case in *T. cristatus* adults (tunnel 1 N = 88; tunnel 2 N = 8, Wilcoxon-Mann-Whitney test, p-value: 0.31, Fig. 3).

3.2. Comparisons between species

Behaviour categories observed in tunnels 1 and 2 in *T. cristatus* and *B. spinosus* adults and juveniles, and in *S. salamandra* and *R. dalmatina* adults are shown in Fig. 2. Of these species, we found that *T. cristatus* adults were the least likely to enter the tunnels (Fig. 2a), while *S. salamandra* completed the most crossings (Fig. 2c), and *R. dalmatina* did the most U-turns (Fig. 2c).

Concerning crossing speed, *T. cristatus* adults crossed tunnel 1 more quickly than *S. salamandra* adults (*T. cristatus* N = 88; *S. salamandra* N = 47, Wilcoxon-Mann-Whitney test, p-value: 0.043, Fig. 3).

3.3. Acoustic enrichment in tunnels

In juvenile *T. cristatus* newts (tunnel 1), the proportion of behaviour categories did not differ with or without acoustic enrichment (without N = 16; with N = 14, Fisher-Freeman-Halton test, p-value: 0.21, Fig. 4a). The number of juveniles that completed crossings was too low to calculate the crossing speed (Table 1). In *T. cristatus* adults (tunnel 1), the proportion of behaviour categories significantly differed with and without acoustic enrichment (without enrichment N = 229; with enrichment N = 46, χ^2 test p-value: 0.030). More 'complete crossings' and less 'U-turns' were observed in the acoustically enriched tunnel (Fig. 4b). However, the crossing speed did not change (without enrichment N = 88; with enrichment N = 32, Wilcoxon-Mann-Whitney test p-value: 0.63, Fig. 5). In tunnel 2, in adult *T. cristatus* newts, the proportion of behaviour categories did not differ with or without acoustic enrichment (without N = 59; with N = 46, Fisher-Freeman-Halton test, test p-value: 0.22, Fig. 4c), nor did enrichment change the crossing speed (without N = 8; with N = 7, Wilcoxon-Mann-Whitney p-value: 1.0, Fig. 5). In tunnel 3, the proportion of behaviour categories in adult *T. cristatus* newts did not differ with or without acoustic enrichment (without N = 62; with N = 71, Fisher-Freeman-Halton test, test p-value: 0.57, Fig. 4d), nor did enrichment change the crossing speed (without N = 17; with N = 15, Wilcoxon-Mann-Whitney test p-value: 0.31, Fig. 5).

In adult *T. marmoratus* newts (tunnel 3), the proportion of behaviour categories did not differ with or without acoustic enrichment (without N = 14; with N = 14, Fisher-Freeman-Halton test, test p-value: 0.45, Fig. 4e). The number of individuals completely crossing the tunnels was too low to calculate crossing speed (Table 1).

In *I. alpestris* adults (tunnel 3), the proportion of behaviour categories did not differ with or without acoustic enrichment (without N = 36; with N = 30, Fisher-Freeman-Halton test, test p-value: 0.12, Fig. 4f). The number of individuals completely crossing the tunnels was too low to calculate crossing speed (Table 1).

In *Pelophylax* kl. adults (tunnel 3), the proportion of behaviour categories significantly differed with and without acoustic enrichment (without enrichment N = 228; with enrichment N = 35, χ^2 test, p-value: 1×10^{-13}). The four categories showed marked changes in the enriched tunnel: only one individual did not move, only one individual stayed in the tunnel, and only one did a U-turn. The majority, 91% (N = 35), of the tested frogs completely crossed the enriched tunnel (Fig. 4g). Moreover, the crossing speed in this tunnel was doubled (without N = 55; with N = 32, Wilcoxon-Mann-Whitney test, p-value: 7.7×10^{-7} , Fig. 5).

4. Discussion

Various studies have demonstrated that linear transport infrastructure strongly alters animal land use behaviour and movements (Jackson and Griffin, 2000; Trombulak and Frissell, 2000). When LTI interrupts amphibian migration or dispersal, different mitigation methods have been implemented with varying efficacy (Colino-Rabanal and Lizana, 2012). Wildlife passages constructed specifically for small vertebrates such as amphibians can reduce direct mortality from LTI as well as its barrier effect, contributing to improve population viability (Beebee, 2013; Clevenger and Ford, 2010; Dodd et al., 2004; Hamer et al., 2014; Jarvis et al., 2019). However, the effectiveness of these mitigation measures has not been sufficiently assessed (Jarvis et al., 2019; Lesbarrères et al., 2004; Pagnucco et al., 2012; Puky et al., 2007; Testud and Miaud, 2018; Woltz et al., 2008), especially for European newts (Matos et al., 2017).

Evaluating the behaviour of amphibians in tunnels is challenging (see a review in Testud et al., 2019). The lack of behavioural data on small species crossing tunnels is partly due to methodological issues (Weber et al., 2019). For example,

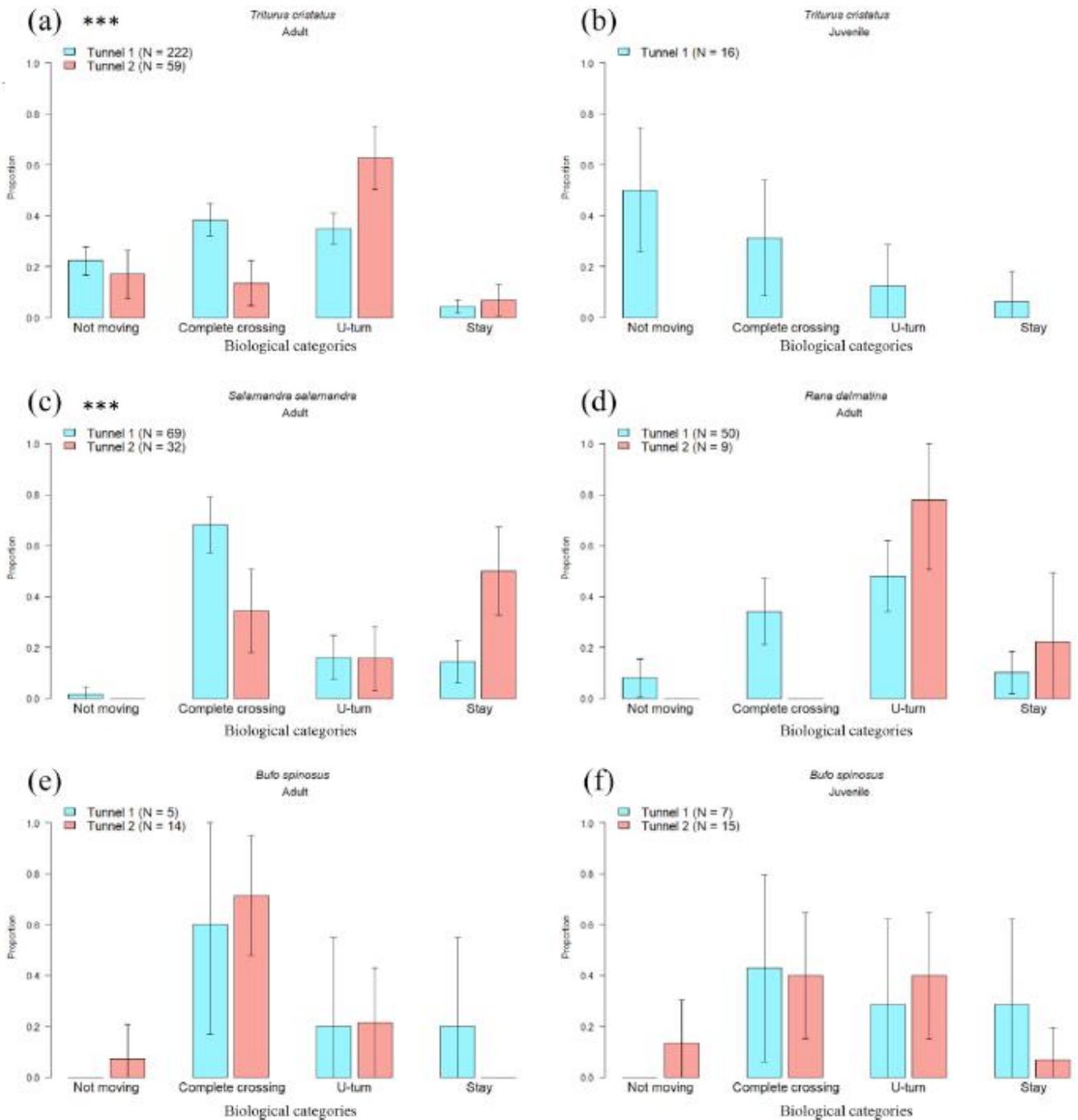


Fig. 2. Proportion of different behavioural patterns for four amphibian species in two tunnels of different lengths. Patterns: 'Not moving', 'Complete crossing', 'U-turn' and 'Stay' (described in 'Materials and methods'). Blue bars: tunnel 1 (21 m length) and light red bars: tunnel 2 (40 m length). (a) *Triturus cristatus* adults, (b) *Triturus cristatus* juveniles, (c) *Salamandra salamandra* adults, (d) *Rana dalmatina* adults, (e) *Bufo spinosus* adults, (f) *Bufo spinosus* juveniles. N: sample size, Vertical bars; confidence intervals at 0.05. * refers to test significance (*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

camera traps are widely used for movement tracking in tunnels (reviewed in Jumeau, 2017). The detection rate can be low with amphibians (Pagnucco et al., 2012), but the current increase in the quality of video traps make them usable with amphibians (Hobbs and Brehme, 2017; Jarvis et al., 2019; Pomezanski and Bennett, 2018). Marking amphibians with fluorescent pigments was used as a method to record continuous tracks on the tunnel floor, but this method is limited in terms of the number of individuals that can be monitored and does not provide information on movement speed (Matos et al., 2019). A more promising method is PIT-tagging individuals and tracking their movements with detectors installed in tunnels (Atkinson-Adams, 2015; Testud et al., 2019).

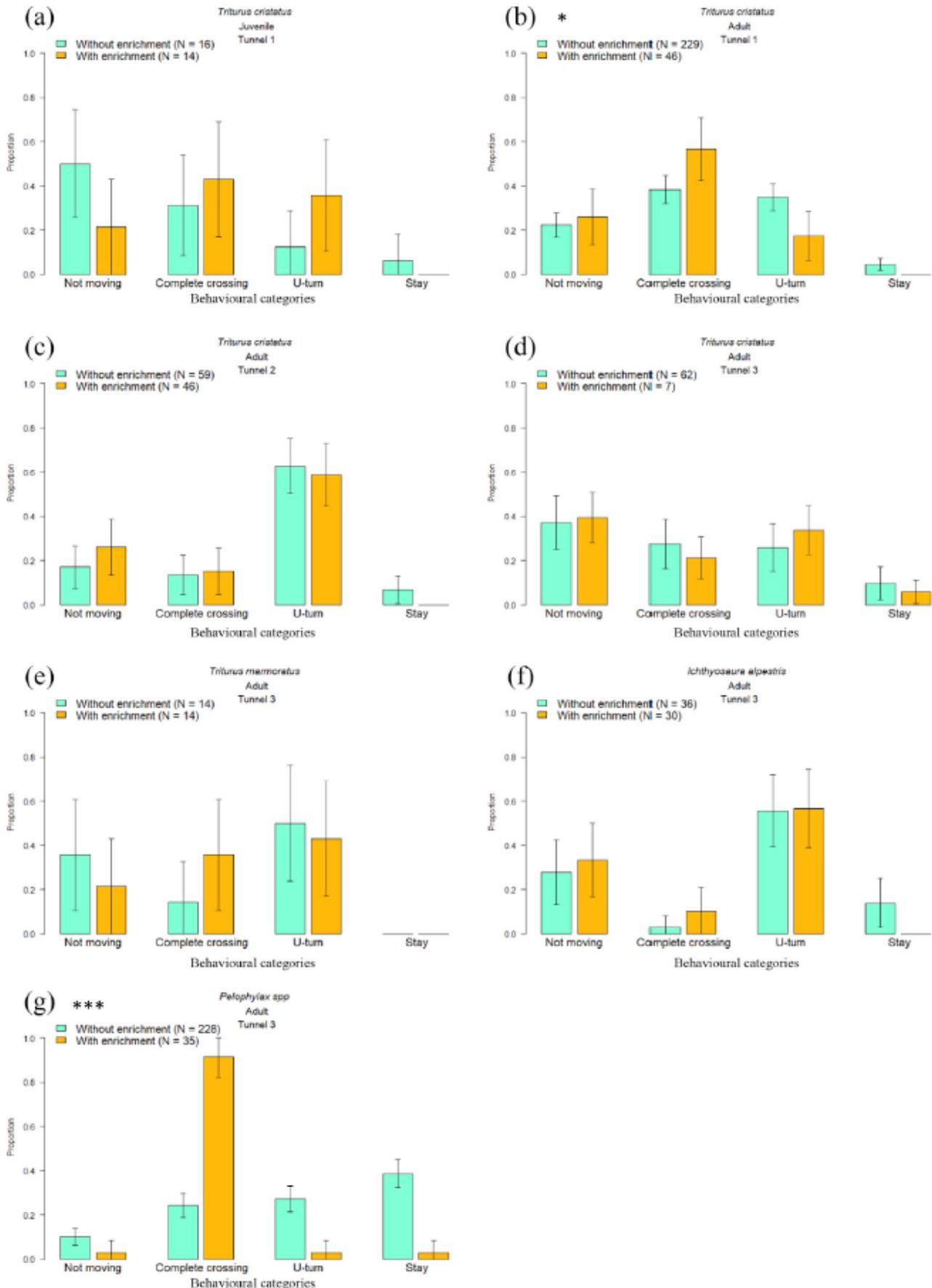


Fig. 4. Proportion of different behavioural patterns for four amphibian species in three tunnels with and without acoustic enrichment. Patterns: 'Not moving', 'Complete crossing', 'U-turn' and 'Stay' (described in 'Materials and methods'). Green bars: without acoustic enrichment, orange bars = with acoustic enrichment. Tunnel 1 (21 m length, dry), tunnel 2 (40 m length, dry) and tunnel 3 (18.5 m length, wet). (a) *Triturus cristatus* juveniles in tunnel 1, (b) *Triturus cristatus* adults in tunnel 1, (c) *Triturus cristatus* adults in tunnel 2, (d) *Triturus cristatus* adults in tunnel 3, (e) *Triturus marmoratus* adults in tunnel 3, (f) *Ichthyosaura alpestris* adults in tunnel 3, (g) *Pelophylax kl. adults* in tunnel 3. N: sample size, vertical bars; confidence intervals at 0.05. * refers to test significance (*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

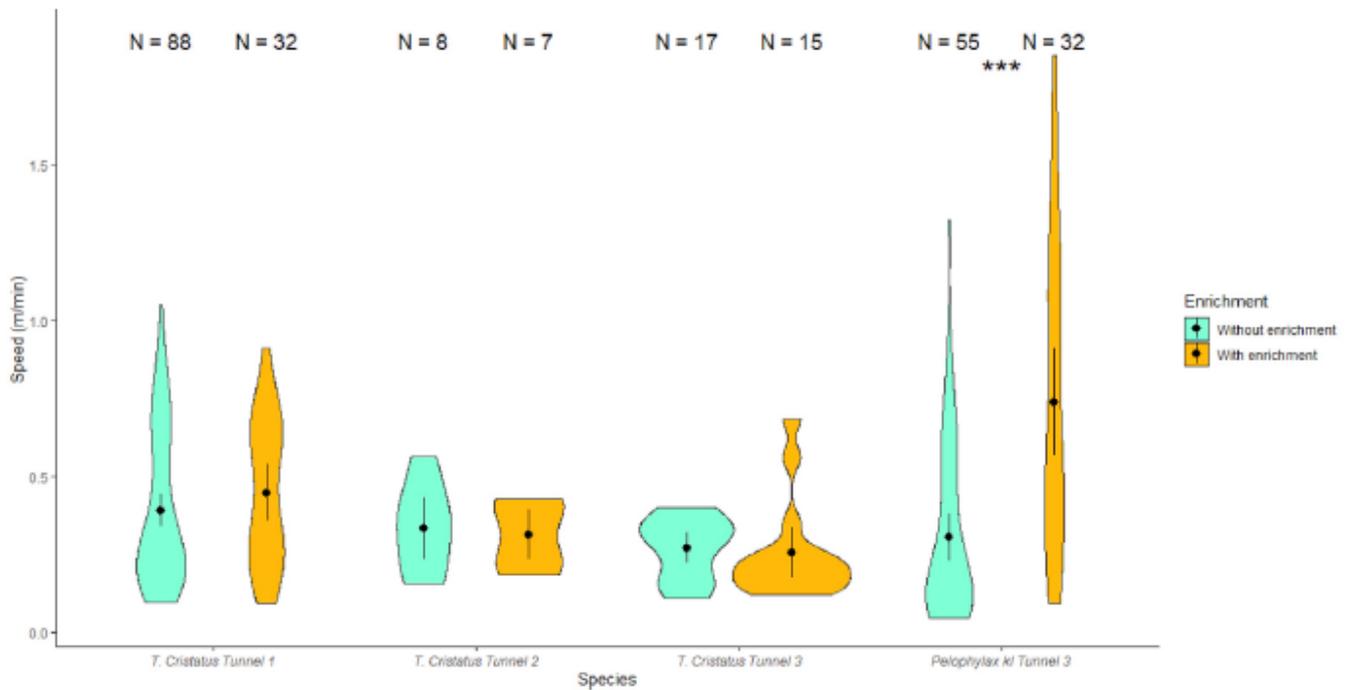


Fig. 5. Crossing speed of two amphibian species (*Triturus cristatus* and *Pelophylax kl.*, both adults), in three tunnels with and without acoustic enrichment. Green bars: Tunnel 1 (21 m length, dry), and orange bars: tunnel 2 (40 m length, dry) and tunnel 3 (18.5 m length, wet). N: sample size, vertical bars; confidence intervals at 0.05. * refers to test significance (*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

About 38% of the individuals of three species of Australian frogs (*Limnodynastes peronii*, *Litoria aurea* and *L. latopalmata*) entering a tunnel 12 m long and 0.5 m wide crossed it completely (Hamer et al., 2014). In the California tiger salamander *Ambystoma californiense*, 51% of individuals completely crossed a 'real' tunnel 22 m in length and 0.25 m in diameter (Bain et al., 2017). In the same study, the crossing rate was not influenced by the relative humidity of the tunnel, though the mean speed of this salamander was 0.77 m/min in the dry tunnel and 1 m/min in the wet tunnel (Bain et al., 2017). In the (Hamer et al., 2014) study, Australian frogs had a mean speed of 0.8 m/min. In our experiments, adult *T. cristatus* newts crossed the 21-m tunnel at a mean speed of 0.39 ± 0.03 m/min ($N = 88$), which was faster than the *S. salamandra* adults (mean speed = 0.29 ± 0.02 m/min, $N = 47$). The length of the crossed tunnels did not affect the speed of either *S. salamandra* or *T. cristatus*.

When amphibians migrate or disperse and seek to orient themselves when moving from point A to point B, they can use a redundant, multisensory orientation system (Sinsch, 2006). This may include celestial information (Diego-Rasilla and Luengo, 2002), magnetism (Diego-Rasilla, 2003; Diego-Rasilla et al., 2008, 2005; Fischer et al., 2001; Phillips, 1986), and olfactory cues (Joly and Miaud, 1993). The chorus attraction hypothesis (Gerhardt and Huber, 2002) postulates that amphibians can also use conspecific and heterospecific amphibian calls to locate a site of interest (Buxton et al., 2015; Diego-Rasilla and Luengo, 2007, 2004; James et al., 2015; Madden and Jehle, 2017; Pupin et al., 2007; Swanson et al., 2007). Even non-calling species such as newts can exhibit positive phonotaxis for sympatric anuran songs: adult marbled newts (*T. marmoratus*) orientate to the calls of the *E. calamita* (Diego-Rasilla and Luengo, 2004). Adult palmate newts (*Lissotriton helveticus*) orientate to the calls of Iberian water frog (*Pelophylax perezi*) (Diego-Rasilla and Luengo, 2007). Adult *L. vulgaris* orientate to the calls of the common toad (*Bufo bufo*) and European green toad (*Bufo viridis*) (Pupin et al., 2007). Adult *T. cristatus* orientate to the call of the *B. bufo*, but not to that of the sympatric common frog (*Rana temporaria*) (Madden and Jehle, 2017). Similarly, the palmate newt *Lissotriton helveticus* did not orientate to *R. temporaria* calls ((Diego-Rasilla and Luengo, 2007). This lack of response to the common frog call was explained by the fact that the newt's breeding migration did not overlap with the frog's calling period. These four cited studies were performed in experimental conditions using circular arenas. Very few studies have used acoustic enrichment to direct amphibians towards a target in nature. Of these, the colonization of new ponds by the green and golden bell frog (*Litoria aurea*) was encouraged using acoustic enrichment (speakers with conspecific frog calls, James et al., 2015). Similarly, the Cope's gray treefrog (*Hyla chrysoscelis*) and the American toad (*Anaxyrus americanus*) colonized new habitats where conspecific chorus calls were broadcasted (Buxton et al., 2015).

To our knowledge, no previous studies have been conducted on acoustic enrichment in natural environments with Urodela species, and particularly in the context of wildlife passages for both Anura and Urodela species. Enrichment increased the proportion and speed of *Pelophylax* spp. crossing the tunnel (conspecific call). In newts, broadcasting heterospecific calls resulted in *T. cristatus* adults completing more crossings and doing less U-turns in the 'enriched' tunnel 1 (the speed was unchanged). However, this difference was not observed in 'enriched' tunnels 2 and 3. For the marbled and alpine newts, no

effect of acoustic enrichment was observed on the proportion of crossings in tunnel 3. These divergent findings suggest the effect of acoustic enrichment on the behaviour of newts in wildlife passages needs to be confirmed by testing more individuals and using other calls and tunnel characteristics.

5. Conclusion

The length of the tunnel probably influenced the proportion of complete crossings by the fire salamander and crested newt; previous studies have recommended limiting the length of wildlife passages as much as possible (Patrick et al., 2010). Construction constraints can result in rather long tunnels, and increasing the width or diameter (while keeping costs reasonable) in order to increase the use by amphibians still remains to be tested (Colino-Rabanal and Lizana, 2012; Puky, 2003). The effects of other characteristics (humidity, light, substrate, etc.) also need more investigation, with careful consideration of interspecific differences (Baguette and Dyck, 2007; Lesbarrères et al., 2010; Puky et al., 2007).

Studies have shown that acoustic enrichment is successful at attracting amphibians to newly created aquatic sites. In this study, our experiments demonstrated the potential of this method in improving the effectiveness of wildlife passages: both the water frog (when conspecific calls were broadcast) and the crested newt (when heterospecific calls were broadcast) performed better in tunnel 1 (21 m) – however, they did not complete more crossings in the other two acoustically enriched tunnels.

These results could be extended with further studies focusing on the type of emitted calls, e.g. mixing heterospecific vocalizations with conspecific vocalizations of the target species (Putman and Blumstein, 2019), frequency and sound amplitude, the distance and position of loudspeakers in the tunnel, etc. As including loudspeakers in a wildlife passage could be costly (in terms of installation, risk of degradation, etc.), acoustic enrichment could be planned for specific periods (the best timing remains to be evaluated): for example, to allow the establishment or reinforcement of a breeding migration path. Another option could be natural acoustic enrichment, e.g. by creating breeding sites colonized by a community of anurans close to the wildlife passage. As the effectiveness and durability of acoustic playback on attracting animals for wildlife management is poorly known, further investigation would be valuable in evaluating this in wildlife passages for small fauna.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

We would like to thank Marie-Aurélia Sabatte, Eva Garcia, Agathe Legrand, Anthony Martin, Camille Clowez, Philippe Geniez, Emelie Segrestan, Lynda Farineau, Annick Lucas, François Le Hérisse, Julien Maziere, Margot Piccinin and Adrien Parais for their field participation. We are also grateful to the Janvier and Fred and Arnaud for their hospitality. Philippe Cordier (Biolog-id©) offered us valuable RFID assistance, and Laura Benestan, Aurelie Coulon and the 'Movement' group at the Centre of Functional and Evolutionary Ecology (CEFE) gave constructive advice. This work was supported by the French National Research Agency (ANR), the French engineering group Egis (CIFRE grant number 2017/0212) and the French construction group Eiffage.

References

- Arntzen, J.W., 1999. Sexual selection and male mate choice in the common toad, *Bufo bufo*. *Ethol. Ecol. Evol.* 11, 407–414. <https://doi.org/10.1080/08927014.1999.9522823>.
- Atkinson-Adams, M.R., 2015. Movement and Habitat Use of the Long-Toed Salamander (*Ambystoma macrodactylum*) in Waterton Lakes National Park, Alberta (PhD Thesis). University of Alberta.
- Baguette, M., Dyck, H.V., 2007. Landscape connectivity and animal behavior: functional grain as a key determinant for dispersal. *Landsc. Ecol.* 22, 1117–1129. <https://doi.org/10.1007/s10980-007-9108-4>.
- Bain, T.K., Cook, D.G., Girman, D.J., 2017. Evaluating the effects of abiotic and biotic factors on movement through wildlife crossing tunnels during migration of the California tiger salamander, *Ambystoma californiense*. *Herpetol. Conserv. Biol.* 12, 192–201.
- Barbour, E.H., 1895. Bird fatality along Nebraska railroads. *Auk* 12, 187–187.
- Beebe, T.J.C., 2013. Effects of road mortality and mitigation measures on amphibian populations. *Conserv. Biol.* 27, 657–668. <https://doi.org/10.1111/cobi.12063>.
- Buxton, V.L., Ward, M.P., Sperry, J.H., 2015. Use of chorus sounds for location of breeding habitat in 2 species of anuran amphibians. *Behav. Ecol.* 26, 1111–1118. <https://doi.org/10.1093/beheco/arv059>.
- Cayuela, H., Grolet, O., Joly, P., 2018. Context-dependent dispersal, public information, and heterospecific attraction in newts. *Oecologia* 188, 1069–1080. <https://doi.org/10.1007/s00442-018-4267-3>.
- Clevenger, A.P., Ford, A.T., 2010. Wildlife Crossing Structures, Fencing, and Other Highway Design Considerations.
- Colino-Rabanal, V.J., Lizana, M., 2012. Herpetofauna and roads: a review. *Basic Appl. Herpetol.* 26, 5–31.
- Cushman, S.A., 2006. Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: a review and prospectus. *Biol. Conserv.* 128, 231–240. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.09.031>.
- Diego-Rasilla, F.J., 2003. Homing ability and sensitivity to the geomagnetic field in the alpine newt, *Triturus alpestris*. *Ethol. Ecol. Evol.* 15, 251–259. <https://doi.org/10.1080/08927014.2003.9522670>.
- Diego-Rasilla, F.J., Luengo, R.M., 2007. Acoustic orientation in the palmate newt, *Lissotriton helveticus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 61, 1329–1335. <https://doi.org/10.1007/s00265-007-0363-9>.

- Diego-Rasilla, F.J., Luengo, R.M., 2004. Heterospecific call recognition and phonotaxis in the orientation behavior of the marbled newt, *Triturus marmoratus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 55, 556–560.
- Diego-Rasilla, F.J., Luengo, R.M., 2002. Celestial orientation in the marbled newt (*Triturus marmoratus*). *J. Ethol.* 20, 137–141. <https://doi.org/10.1007/s10164-002-0066-7>.
- Diego-Rasilla, F.J., Luengo, R.M., Phillips, J.B., 2008. Use of a magnetic compass for nocturnal homing orientation in the palmate newt, *Lissotriton helveticus*. *Ethology* 114, 808–815. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.2008.01532.x>.
- Diego-Rasilla, F.J., Luengo, R.M., Phillips, J.B., 2005. Magnetic compass mediates nocturnal homing by the alpine newt, *Triturus alpestris*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 58, 361–365. <https://doi.org/10.1007/s00265-005-0951-5>.
- Dodd, K.C.J., Barichivich, W.J., Smith, L.L., 2004. Effectiveness of a barrier wall and culverts in reducing wildlife mortality on a heavily traveled highway in Florida. *Biol. Conserv.* 118, 619–631.
- Dole, J.W., 1972. Homing and orientation of displaced toads, *Bufo americanus*, to their home sites. *Copeia* 151–158. <https://doi.org/10.2307/1442791>, 1972.
- Dulac, J., 2013. Global Land Transport Infrastructure Requirements - Estimating Road and Railway Infrastructure Capacity and Costs to 2050 — UCSTUDI. International Energy Agency.
- Eigenbrod, F., Hecnar, S.J., Fahrig, L., 2008. The relative effects of road traffic and forest cover on anuran populations. *Biol. Conserv.* 141, 35–46. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.08.025>.
- Fischer, J.H., Freaque, M.J., Borland, S.C., Phillips, J.B., 2001. Evidence for the use of magnetic map information by an amphibian. *Anim. Behav.* 62, 1–10. <https://doi.org/10.1006/anbe.2000.1722>.
- Forman, R.T.T., Alexander, L.E., 1998. Roads and their major ecological effects. *Annu. Rev. Ecol. Systemat.* 29, 207–231. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.207>.
- Gerhardt, H.C., Huber, F., 2002. Acoustic Communication in Insects and Anurans: Common Problems and Diverse Solutions. University of Chicago Press.
- Glista, D.J., DeVault, T.L., DeWoody, J.A., 2009. A review of mitigation measures for reducing wildlife mortality on roadways. *Landsc. Urban Plann.* 91, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2008.11.001>.
- Hamer, A.J., van der Ree, R., Mahony, M.J., Langton, T., 2014. Usage rates of an under-road tunnel by three Australian frog species: implications for road mitigation. *Anim. Conserv.* 17, 379–387. <https://doi.org/10.1111/acv.12105>.
- Hayward, R., Oldham, R., Watt, P.J., Head, S.M., 2000. Dispersion patterns of young great crested newts (*Triturus cristatus*). *Herpetol. J.* 10, 129–136.
- Hobbs, M.T., Brehme, C.S., 2017. An improved camera trap for amphibians, reptiles, small mammals, and large invertebrates. *PloS One* 12, e0185026. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185026>.
- Holderegger, R., Di Giulio, M., 2010. The genetic effects of roads: a review of empirical evidence. *Basic Appl. Ecol.* 11, 522–531. <https://doi.org/10.1016/j.baee.2010.06.006>.
- Jackson, S.D., Griffin, C.R., 2000. A strategy for mitigating highway impacts on wildlife. *Wildlife and highways: seeking solutions to an ecological and socio-economic Dilemma. Wildl. Soc.* 143–159.
- James, M.S., Stockwell, M.P., Clulow, J., Clulow, S., Mahony, M.J., 2015. Investigating behaviour for conservation goals: conspecific call playback can be used to alter amphibian distributions within ponds. *Biol. Conserv.* 192, 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.10.001>.
- Jarvis, L.E., Hartup, M., Petrovan, S.O., 2019. Road mitigation using tunnels and fences promotes site connectivity and population expansion for a protected amphibian. *Eur. J. Wildl. Res.* 65, 27. <https://doi.org/10.1007/s10344-019-1263-9>.
- Joly, P., 2019. Behavior in a changing landscape: using movement ecology to inform the conservation of pond-breeding amphibians. *Front. Ecol. Evol.* 7. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00155>.
- Joly, P., Miaud, C., 1993. How does a newt find its pond? The role of chemical cues in migrating newts (*Triturus alpestris*). *Ethol. Ecol. Evol.* 5, 447–447.
- Joly, P., Miaud, C., 1989. Fidelity to the breeding site in the alpine newt *Triturus alpestris*. *Behav. Process.* 19, 47–56. [https://doi.org/10.1016/0376-6357\(89\)90030-2](https://doi.org/10.1016/0376-6357(89)90030-2).
- Jumeau, J., 2017. Les possibilités de dispersion et éléments d'habitat-refuge dans un paysage d'agriculture intensive fragmenté par un réseau routier dense: le cas de la petite faune dans la plaine du Bas-Rhin (PhD Thesis). Strasbourg.
- Lesbarrères, D., Fahrig, L., 2012. Measures to reduce population fragmentation by roads: what has worked and how do we know? *Trends Ecol. Evol.* 27, 374–380. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.01.015>.
- Lesbarrères, D., Fowler, M.S., Pagano, A., Lodé, T., 2010. Recovery of anuran community diversity following habitat replacement. *J. Appl. Ecol.* 47, 148–156. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2009.01748.x>.
- Lesbarrères, D., Lodé, T., Merilä, J., 2004. What type of amphibian tunnel could reduce road kills? *Oryx* 38, 220–223. <https://doi.org/10.1017/S0030605304000389>.
- Madden, N., Jehle, R., 2017. Acoustic orientation in the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Amphib.-Reptil.* 38, 57–65. <https://doi.org/10.1163/15685381-00003083>.
- Matos, C., Petrovan, S., Ward, A.J., Wheeler, P., 2017. Facilitating permeability of landscapes impacted by roads for protected amphibians: patterns of movement for the great crested newt. *PeerJ* 5, e2922. <https://doi.org/10.7717/peerj.2922>.
- Matos, C., Petrovan, S.O., Wheeler, P.M., Ward, A.J., 2019. Short-term movements and behaviour govern the use of road mitigation measures by a protected amphibian. *Anim. Conserv.* 22, 285–296. <https://doi.org/10.1111/acv.12467>.
- Pagnucco, K.S., Paszkowski, C.A., Scrimgeour, G.J., 2012. Characterizing movement patterns and spatio-temporal use of under-road tunnels by long-toed salamanders in Waterton Lakes National Park, Canada. *Copeia* 331–340. <https://doi.org/10.1643/CE-10-128>, 2012.
- Patrick, D.A., Schalk, C.M., Gibbs, J.P., Woltz, H.W., 2010. Effective culvert placement and design to facilitate passage of amphibians across roads. *J. Herpetol.* 44, 618–626.
- Phillips, J.B., 1986. Two magnetoreception pathways in a migratory salamander. *Science* 233, 765–767. <https://doi.org/10.1126/science.3738508>.
- Pomezanski, D., Bennett, L., 2018. Developing recommendations for monitoring wildlife underpass usage using trail cameras. *Environ. Monit. Assess.* 190, 413. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-6794-0>.
- Puky, M., 2003. Amphibian Mitigation Measures in Central-Europe.
- Puky, M., Farkas, J., Ronkay, M.T., 2007. Use of existing mitigation measures by amphibians, reptiles, and small to medium-size mammals in Hungary: crossing structures can function as multiple species-oriented measures. *Road Ecol. Cent.*
- Pupin, E., Sacchi, R., Gentili, A., Galeotti, P., Fasola, M., 2007. Discrimination of toad calls by smooth newts: support for the heterospecific attraction hypothesis. *Anim. Behav.* 74, 1683–1690. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2007.03.020>.
- Putman, B.J., Blumstein, D.T., 2019. Correction to: what is the effectiveness of using conspecific or heterospecific acoustic playbacks for the attraction of animals for wildlife management? A systematic review protocol. *Environ. Evid.* 8, 20. <https://doi.org/10.1186/s13750-019-0161-7>.
- Ronce, O., 2007. How does it feel to be like a rolling stone? Ten questions about dispersal evolution. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 38, 231–253. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095611>.
- Rytwinski, T., Fahrig, L., 2015. The impacts of roads and traffic on terrestrial animal populations. *Handb. Road Ecol.* 237–246.
- Sinsch, U., 2006. Orientation and navigation in Amphibia. *Mar. Freshw. Behav. Physiol.* 39, 65–71. <https://doi.org/10.1080/10236240600562794>.
- Sinsch, U., 1987. Orientation behaviour of toads (*Bufo bufo*) displaced from the breeding site. *J. Comp. Physiol.* 161, 715–727. <https://doi.org/10.1007/BF00605013>.
- Swanson, E.M., Tekmen, S.M., Bee, M.A., 2007. Do female frogs exploit inadvertent social information to locate breeding aggregations? *Can. J. Zool.* 85, 921–932. <https://doi.org/10.1139/Z07-074>.
- Testud, G., Miaud, C., 2018. From effects of linear transport infrastructures on amphibians to mitigation measures. *Reptil. Amphib.* <https://doi.org/10.5772/intechopen.74857>.

- Testud, G., Vergnes, A., Cordier, P., Labarraque, D., Miaud, C., 2019. Automatic detection of small PIT-tagged animals using wildlife crossings. *Anim. Biotelemetry* 7, 21. <https://doi.org/10.1186/s40317-019-0183-5>.
- Trochet, A., Le Chevalier, H., Calvez, O., Ribéron, A., Bertrand, R., Blanchet, S., 2019. Influence of substrate types and morphological traits on movement behavior in a toad and newt species. *PeerJ* 6. <https://doi.org/10.7717/peerj.6053>.
- Trombulak, S.C., Frissell, C.A., 2000. Review of ecological effects of roads on terrestrial and aquatic communities. *Conserv. Biol.* 14, 18–30. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2000.99084.x>.
- Twitty, V., Grant, D., Anderson, O., 1964. Long distance homing in the newt *Taricha rivularis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 51, 51. <https://doi.org/10.1073/pnas.51.1.51>.
- Weber, L., Šmejkal, M., Bartoň, D., Rulík, M., 2019. Testing the applicability of tagging the Great crested newt (*Triturus cristatus*) using passive integrated transponders. *PLoS One* 14, e0219069. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219069>.
- Woltz, H.W., Gibbs, J.P., Ducey, P.K., 2008. Road crossing structures for amphibians and reptiles: informing design through behavioral analysis. *Biol. Conserv.* 141, 2745–2750. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2008.08.010>.

III. Trajectoires individuelles des amphibiens dans les passages à faune

Cette partie est en cours de préparation pour une soumission à une revue internationale début 2021. Une analyse statistique de type GLM est prévue pour la version soumise afin d'améliorer la qualité de l'analyse des trajectoires.

1. Résumé de publication

Les infrastructures de transport linéaire (LTI) telles que les routes et les chemins de fer sont l'une des principales altérations anthropiques des écosystèmes mondiaux. Les aménageurs, les acteurs de la protection de la nature et chercheurs en conservation tentent d'utiliser les connaissances sur la biologie des espèces et les types d'impacts identifiés pour proposer des mesures d'atténuation. Les passages pour la faune tels que les tunnels pour les petits vertébrés (par exemple les amphibiens) sont couramment mis en œuvre dans la planification et la construction des ILT. Si l'on suppose qu'ils améliorent la viabilité des populations touchées, l'évaluation se limite souvent à l'enregistrement de l'utilisation des tunnels. Cependant, même dans ce cas, les informations sont encore rares pour les amphibiens et l'évaluation de l'efficacité des tunnels reste peu étudiée. Certains individus peuvent être réticents à traverser les tunnels, or on sait que chez les amphibiens, l'enrichissement acoustique peut améliorer la colonisation de nouveaux sites de reproduction ou permettre d'orienter des animaux. Dans cette étude, nous avons utilisé 4 antennes RFID installées dans 3 tunnels pour suivre les déplacements fins de 7 espèces d'amphibiens. (1) Nous testons l'efficacité de nos antennes pour détecter les animaux qui les traversent. (2) Nous utilisons des trajectoires pour mieux décrire le comportement des animaux qui les traversent. (3) Nous étudions les variations de vitesse entre chaque section de tunnel. Et, (4) nous utilisons ces différents éléments pour évaluer les réponses des animaux à un enrichissement acoustique dans les tunnels. Nos expériences ont montré que l'utilisation de 4 antennes RFID dans des tunnels permet d'améliorer les connaissances sur la façon dont les espèces d'amphibiens se déplacent à l'intérieur.

Pour les tritons et les salamandres, la comparaison des tunnels de longueur différentes (21 m et 40 m) montre qu'il y a peu de différences dans les comportements observés. Pour les Tritons crêtés qui ont été testés dans les tunnels de 21 et 40 m avec ou sans enrichissement, on

remarque que le comportement exploratoire des animaux semble amplifié avec l'enrichissement. En ce qui concerne les Grenouilles vertes, la comparaison avec et sans enrichissement acoustique dans le tunnel de 18,5 m montre de fortes différences. Les grenouilles étant beaucoup plus directes et rapides à traverser le tunnel avec un enrichissement, nous mettons également en évidence que la vitesse dans la section de 0 à 4,2 m était plus lente que dans les 4 autres sections. Cela peut être dû à la nécessité de prendre des informations sur leur environnement afin de commencer la navigation, alors que les animaux faisant demi tours étaient beaucoup plus rapides sur cette section.

L'utilisation du système multi-antennes RFID fournit donc des informations sur le comportement des petits animaux lors de la traversée des tunnels et permet de tester les caractéristiques des tunnels pour améliorer leur utilisation. L'enrichissement acoustique pour attirer les animaux vers des endroits spécifiques est également prometteur en tant que nouvel outil de conservation.

2. Individual trajectories of amphibian in wildlife passage

Individual trajectories of amphibians in wildlife passage

Guillaume Testud, Quentin Le Petitcorps, Damien Picard, Thierry Lengagne, Dorothée Labarraque, Claude Miaud.

Abstract

Key-words: Linear transport infrastructure, Amphibian, Wildlife passage, Homing, Acoustic enrichment, Mitigation evaluation

Introduction

Linear transportation infrastructure (LTI) such as roads and railways is one of the major anthropogenic alterations to the world's ecosystems (Popp and Boyle, 2016; Rytwinski and Fahrig, 2015). The main impacts of LTIs are habitat loss, habitat fragmentation, loss of connectivity and direct and indirect mortality (Forman and Alexander, 1998; Rytwinski and Fahrig, 2015). Most studies focus on roads but it seems that railways have theoretically similar effects than roads (Bartoszek and Greenwald, 2009; Dorsey, 2011; Popp and Boyle, 2016), even with a lower traffic (Rodriguez *et al.*, 1996). But there is a clear lack of studies on the subject (Dorsey, 2011; Popp and Boyle, 2016; Testud and Miaud, 2018), especially with reptiles and amphibians (Budzik and Budzik, 2014; Kaczmarski and Kaczmarek, 2016; Kornilev *et al.*, 2006).

Planners attempt to use knowledge of species biology and the types of impacts identified to propose mitigation measures (Testud and Miaud, 2018). Wildlife passages such as tunnels for small vertebrates (e.g. amphibians) are commonly implemented in LTIs planning and construction. If they are assumed to improve impacted populations viability (Clevenger and Ford, 2010; Hamer *et al.*, 2014; Jarvis *et al.*, 2019), the evaluation is often limited to the recording of tunnel use (e.g. Matos *et al.*, 2017; Pagnucco *et al.*, 2012; Puky *et al.*, 2007; Testud and Miaud, 2018). However, even in this case, the information is still scarce for amphibians and the evaluation of the efficiency of tunnels remains poorly investigated.

Individuals can be reluctant to cross tunnels (Allaback and Laabs, 2003; Bain *et al.*, 2017; Jarvis *et al.*, 2019; Matos *et al.*, 2017, 2018), and a better knowledge on the causes of the avoidance is particularly welcome for designing new tunnels or adapting existing structures. Sensory-based conservation harnesses species' natural communication and signalling behaviours to mitigate threats to wild populations (Friesen *et al.*, 2017). Wildlife managers have begun capitalizing on the acoustic attraction to lure animals to specific places by broadcasting vocalizations (Putman and Blumstein, 2019). Playbacks have been frequently used to attract birds to unoccupied sites or maintain the animals in a new translocation site (Molles *et al.*, 2008; Ward and Schlossberg, 2004) and is recommended for conservation (Ahlering *et al.*, 2010; Friesen *et al.*, 2017). In amphibians, acoustic enrichment with conspecific chorus calls improves the colonization of new ponds by frogs and toads (Buxton *et al.*, 2015; James *et al.*, 2015). Newts can also be attracted by sympatric anuran songs (Diego-

Rasilla and Luengo, 2004, 2007; Madden and Jehle, 2017; Pupin *et al.*, 2007). The use of acoustic enrichment as a method to increase the crossing of tunnels was tested with several European species (Testud *et al.*, in press).

The crossing rate and speed during crossings vary between 4 amphibian species (*Salamandra salamandra*, *Triturus cristatus*, *Rana dalmatina* and *Bufo spinosus*) and between tunnels of 21 m and 40 m length (Testud *et al.*, in press). Moreover, acoustic enrichment with frog calls increased the speed complete crossing rates of Water frogs *Pelophylax kl.* and great crested newt *T. cristatus* (Testud *et al.*, in press). Pit-tagged individuals and RFID antennas implemented in tunnels allowed obtaining detailed information on movements during tunnel frequentation (Testud *et al.*, 2019). Such data were not analysed in (Testud *et al.*, in press), and are the subject of the present work.

In this study we investigate the individual trajectories (direction changes, variation of speed) of three European amphibian species when crossing tunnels of three lengths. Specifically, we tested the efficiency of the four antennas in detecting amphibians crossing them. We compared the trajectories of great crested newt *T. cristatus* and fire salamander *S. salamandra* in tunnels of 21 and 40 m. Finally, we broadcasted a mixed chorus of Water frog *Pelophylax esculentus* and European tree frog *Hyla arborea*, in the tunnel and evaluated effect of this acoustic enrichment on the individual trajectories of Water frogs *Pelophylax kl.* and great crested newt *T. cristatus*.

Materials and Methods

Study area and wildlife crossing structure

Three wildlife crossing structures built under an HSR (high-speed line) were studied in the Pays-de-la-Loire region (north-western France). The 3 tunnels and surrounding landscape are described in Testud *et al.* (in press). Two of them are located closed to the small town of Chantenay-Villedieu, at 800 m from each other. The third one is located closed to the small town of Beaulieu-sur-Oudon at 70 Km. The 3 tunnels are square concrete culverts 1m wide and 1m high, with respective lengths of 21 m, 40 m and 18.5 m. Tunnels 1 and 2 are "dry fauna crossing structures" while tunnel 3 is a hydraulic structure with a slight trickle of water during the period of the experiments.

Capture and marking of specimens

Specimens of 3 species was captured using several methods depending on the species (Table 1): fire salamander *Salamandra salamandra* were collected on land before reproduction (February-beginning of April 2018 and 2019) during nocturnal transects along the HSR fences. Water frogs *Pelophylax* kl. *esculentus/lessonae* (composed by edible frog *P. kl. esculentus* and pool Frog *P. lessonae*, thereafter called *Pelophylax* kl.) were caught in ponds before egg-laying (mid-May 2018-2019) manually or with a dip-net at night with the help of flashlight ponds. Great crested newt *Triturus cristatus* were caught in ponds during the reproductive period (from mid-February to mid-May 2018 and 2019) with minnow traps. A total of 985 individuals was caught and used for the experiments.

Specimens were marked with transponders (PIT-tags, 1.4 x 8 mm, weight 34.2 mg, Biolog-Tiny REF 10268 [R02-0717]), i.e. electronic chips packaged in a 'biocompatible' glass ampoule that meets international standards for animal identification (ISO 11784/11785). The animals were stored in several opaque plastic tanks (0.80 x 0.40 x 0.25 m) with moist forest litter. They were stored outside, closed to the capture site, in a shadow place at ambient temperatures of 5 (night) to 15°C (day). The time spent in captivity between capture and experiment was about 1-2 days. As the number of salamander captured each night can be low, some could be housed for 10 days max as above. The recaptured individuals were released at the place of capture the day after the experiment. Authorization to catch amphibians was provided by the regional government of the study area (Regional Environment, Housing and Planning Agency of Sarthe, Mayenne and Ille-et-Vilaine, interprefectoral derogation from the prohibition to capture and transport specimens of protected animal species, 29 May 2017).

Design of the monitoring system and experiments

A monitoring system was composed of 4 antennas (Biolog-id outdoor antennas, 100 x 8.5 x 2.5cm), connected to an electronic control unit, described in details in (Testud *et al.*, 2019). Each antenna included an auto-tuning function and a rechargeable power battery. The detection distance of an antenna was 3 cm, with the PIT tag used. The minimum time between the detection of two successive PIT tags was 70 milliseconds. Antenna was distributed with

equidistance between each antenna and each end of the tunnel, delimiting 5 portions of the same length. For example, in the 40 m tunnel, the antennas were set up every 8m, i.e. 8m, 16m, 24m and 32m from the entrance. Wooden reflectors were set up on each extremity of the antennas to prevent animals from avoiding crossing the antennas (Figure 1b).

The specimens used for the experiments were collected in the storing tanks. Each individual was identified by hand-recorder (reader RS1-F1, Biolog-ID ©, reading distance = 4 to 10 cm). One experimenter with a hand-recorder was posted at the entrance and another at the exit of the tunnel. The individuals were released at the entrance every 1 min. The precise time is recorded (min and seconds). If the individual did not move in the tunnel after 10 min, it was return to a new storing tank. In case of the presence of a returning individual (animals within 50 cm of the entrance moving towards the outside of the tunnel), the next release is stopped until the capture of this individual. The individuals that entered the tunnel but U-turned in it and exited at the entrance were return to a new storing tank after noting the precise time of exit. When individuals exited the tunnel, the experimenter at the exit noted the individual number, the precise time of exit and returned them to a new storing tank. The RFID antennas in the tunnel recorded each PIT tagged individuals, with the precise time of crossing.

Twenty-two nights of experiment were conducted from March 2018 to May 2018 and from February to May 2019 (7 nights in Tunnel 1, 7 in Tunnel 2 and 8 in Tunnel 3). The experiments were performed after sunset (about from 7pm to 9:30pm from February to May). The experiment was stopped 4h30 min after the release of the last tested individual. At the end of the experiment, the individuals that did not exit at the entrance or at the exit were collected by one experimenter, identified and the exact position in the tunnel was recorded.

Evaluation of antenna efficiency

When an animal has completely crossed the tunnel, it was not necessarily detected by each antenna. The efficiency of the antennas was evaluated as the proportion of animals detected by each antenna among the animals that have completely crossed the tunnels. The efficiency was evaluated in 2019 with 125 adult *T. cristatus* and 22 *S. salamandra* in tunnel 1 and 34 adult *T. cristatus* and *Pelophylax* kl. (N = 53) in tunnel 3.

Recording of individual trajectories, direction changes and speed variation

The four RFID antennas installed in the tunnels recorded the successive positions of the animals, and the time series of these positions allowed reconstructing the one dimension trajectories of the animals. Individual trajectories and speed variation between tunnel sections were evaluated with individuals which performed a “complete crossing” (i.e. completely crossed the tunnel) or performed a “U-turn” (i.e. individuals partly crossing the tunnel and exiting by the entrance). The maximum distance crossed in the tunnel (i.e. the farthest antennas crossed from the entrance) was measured for individual making “U-turn”. Individuals which did not pass through antennas or were not detected by any antenna were not considered.

Acoustic enrichment

Acoustic enrichment experiment was performed in 2019 with a soundtrack corresponding to a mixed chorus of Water frog *Pelophylax esculentus* and European tree frog *Hyla arborea*, the two main species using matting calls in the amphibian community of the region. Recordings were achieved by way of an omnidirectional microphone Sennheiser ME62/K6 (flat frequency response between 20 Hz and 20 kHz) coupled with a Fostex FR2LE recorder. The signal was sampled at 44.1 kHz with a 16 bits dynamic. Files were saved in wav format. The stereo soundtrack was emitted using a D-Jix M349BT MP3 audio player connected to 2 loudspeakers (BOOM 2, Ultimate Ears). The average amplitude of the signal emitted was set at 74.8 ± 0.8 dB with a sound level meter Lutron SL-4001 (mean \pm SD, 1m from the loudspeaker, C weighting, slow settings, re: 20μ Pa). The loudspeakers were installed outside the tunnel, 10m from the exit and space 5m apart.

Results

Antenna efficiency

The efficiency of the antennas (proportion of animals detected by the antenna among the animals that have completely crossed the tunnels) varies mainly according to species

(Table 2). Antenna efficiencies in tunnel 1 and tunnel 3 were rather similar with the two Urodela species (*T. cristatus* and *Salamandra salamandra*), i.e. varying from 0.68 ± 0.16 to 0.97 ± 0.06 . Moreover, all the marked specimens were detected by at least one antenna in *S. salamandra* (Figure 2) and only one individual *Triturus cristatus* was not detected (Figure 2). For the Anuran species *Pelophylax kl.*, the efficiency varies from 0.08 ± 0.07 to 0.38 ± 0.13 (Table 2), with lower detections at the two first antennas. Moreover, 42 % of the marked specimens were not detected by at least one antenna in *Pelophylax kl.* (Figure 2).

Global characteristics of trajectories in the tunnels

Several types of movement were detected during complete crossing: a rather “linear” movement at constant speeds (Figures 3a and 3b), or non-linear trajectories (Figures 3c to 3i). Among them, movements with varying speeds were observed (the animal being able to accelerate or slowdown in the tunnels). These behaviours are visible on figures 3c and 3d by a stalling of the trajectory when compared to an average constant speed estimated thanks to the crossing duration. Movements can be characterized by a “halt”, the individual being detected several times on the same antenna (Figure 3e and 3f) and by “back-and-forth” movements (figure 3g and 3h). These types of movement can be present alone (figure 3f) or consecutively (figure 3i).

Similar various movements were also observed for animals that did not completely cross the tunnel and made a U-turn (Figure 4), For example “back-and-forth” (Figure 4i). The farthest antennas crossed from the entrance is also available (e.g. First antenna: Figure 4g; fourth antenna: Figure 4b).

Individual trajectories in the tunnels of various length

In *Salamandra salamandra*, the trajectories were recorded in tunnel 1 (21 m) and tunnel 2 (40 m) (Figure 5).

In tunnel 1 (21 m), among the 16 Salamanders that made a complete crossing (Figure 5a), most have a “linear” trajectory and some “back-and-forth” behaviours were observed. One individual was strongly distinguished from the others with a long time and a long travel to do “back-and-forth”. Several individuals halted, especially on antenna 1. One individual

halted here for more than 3 hours, before quickly crossed the last part of the tunnel. Among the 3 salamanders having performed a U-turn (Figure 5b). One made a rapid U-turn after crossing the first antenna at 4m20. One made a 3h stopped around the same antenna. One made twice “back-and-forth”, getting closer to the exit before finally making a U-turn.

In tunnel 2 (40 m), among 9 salamanders having performed (figure 5c), most of the individuals moved with “linear” trajectories. No “back-and-forth” was observed. Among 4 salamanders having performed U-turn (figure 5d), one individual went up to 8m before making a U-turn, two reached antenna 2 (16m) before making the U-turn, and one individual reached antenna 3 (24m) where it stayed for about 1h before making the U-turn.

In *Triturus cristatus* the trajectories were recorded in tunnel 1 (21 m) and tunnel 2 (40 m) (Figure 6).

In tunnel 1 (21 m), among the 73 newts that made a complete crossing (Figure 6a) a variety of movement patterns (“linear” trajectory with fast to slow constant speed, non-constant speed, stop or back-and-forth) was observed. A similar variety of movement patterns was observed with the 38 newts having performed a U-turn (Figure 6b). Four individuals reached the maximum distance of 16,2m (antenna 4).

In tunnel 2 (40 m), among the 9 newts that made a complete crossing (Figure 6e), six have a “linear” trajectory including five fast and one slow speed. One individual had a “non-constant” speed. Two individuals did a “halt” and a “back-and-forth” behaviour. Among 20 newts having performed a U-turn (Figure 6f) exhibited a similar variety of trajectories. Two individuals reached the maximum distance of 16m (antenna 2).

Triturus cristatus individual trajectories in the tunnels with acoustic enrichment

In *Triturus cristatus*, individuals trajectories were recorded in tunnel 1 (21 m) and tunnel 2 (40 m), “with acoustic enrichment” conditions (Figure 6). Their performances can be compared with previously described experiments comparing tunnel lengths.

A variety of movements were observed in tunnel 1 among 32 newts performing complete crossing (Figure 6c), i.e. “linear” trajectory from fast to slow speed, “non-constant” speed, “halt” or “back-and-forth”. Among 6 individuals having performed a “U-turn” (Figure

6d), one individual did a U-turn, after reaching 16.8 m (antenna 4). Two individuals did a "halt" at 4.20m (antenna 1) for about an hour.

In Tunnel 2, among 5 newts that made a complete crossing (Figure 6g), four individuals had a "non-constant" speed, and one did a "halt". Among 9 newts having performed a U-turn (Figure 6h), one individuals did a U-turn, after reaching 32 m (antenna 4).

Pelophylax individual trajectories in the tunnels with and without enrichment

In *Pelophylax kl* individual trajectories were recorded in the tunnel 3 (18.5m), "with" and "without" acoustic enrichment conditions (Figure 7).

In the "without enrichment" condition, among 53 frog performing a complete crossing (Figure 7a) a variety of types of movement was observed ("linear" trajectory with fast to slow constant speed, non-constant speed, stop or back-and-forth). A similar variety of movements was observed among 18 frogs having performed a U-turn (Figure 7b). One individual, which did a U-turn, reached however the maximum distance of 14.8m (antenna 4).

In the "with enrichment" condition, the 16 frogs performing a complete crossing (Figure 7c), exhibited mainly fast "linear" trajectories. Only one individuals did a U-turn, after reaching 3.7m (antenna 1) (Figure 7d).

Discussion

Pit-tag and RFID antennas in wildlife passage

The lack of behavioural data on small species crossing wildlife passages is partly due to methodological issues (Weber *et al.*, 2019), and evaluating the behaviour of amphibians in tunnel is challenging (review in Testud *et al.*, 2019). Marked amphibian with fluorescent pigments was used to record continuous tracks in tunnels land, but the method is constrained in terms of the number of individuals monitored and does not provide information on e.g. movement speed (Matos *et al.*, 2018). Camera traps is widely used for movement tracking in tunnels (reviewed in Jumeau, 2017). The detection rate was reported as low for amphibians ((Pagnucco *et al.*, 2012), but the increase in the quality of video traps implemented for amphibians make them relevant for such small species (Hobbs and Brehme, 2017; Jarvis *et al.*,

2019; Pomezanski and Bennett, 2018). Pit-tagging is a classical marking technique in amphibians (e.g. Perret and Joly, 2002; Testud *et al.*, 2019; Weber *et al.*, 2019; Winandy and Denoël, 2011). Telemetry using RFID antennas is used to monitor movement patterns and habitat use in small animals (Charney *et al.*, 2009), to evaluate fish passes (Benitez *et al.*, 2018; Lothian *et al.*, 2019; Ovidio *et al.*, 2017; Thiem *et al.*, 2011, 2013) and tunnels (Boarman *et al.*, 1998). The use of RFID antennas to track amphibian movements or habitat use in nature is increasing (Atkinson-Adams, 2015; Atkinson-Adams *et al.*, 2016; Weber *et al.*, 2019; Winandy and Denoël, 2011). To our knowledge, amphibian Pit-tagged and RFID antennas used to evaluate equipped wildlife passage were tested for one toad and two carabid species (Testud *et al.*, 2019). This design was also used to compare its performance with camera traps in tunnels crossed by a salamander species (Atkinson-Adams, 2015).

Our experiments with a system composed of four RFID antennas allows improving the knowledge on the way amphibians move inside tunnels. The antenna detection was not perfect, varying among antennas and species. The locomotion of species can greatly differ among species (e.g. exclusive wading in Urodelan and saltatory locomotion in frogs, or both in toads). In our experiments, the lower detection rate observed with the frogs (Figure 2, Table 2) could be explained by their jump over the antenna, the maximum detection distance of the antenna being 3 cm. The detection range can be improved thanks to other antenna design (e.g. circular), but with the practical constraint of implementing it in the tunnels. Higher but not total detection rates were observed with the salamander and newt species (Figure 2, Table 2). The antennas were 8.5 cm width (Figure 1), and two marked specimens crossing the antennas simultaneously stop the recording. If one individual stays on the antenna, it will prevent the recording of other individual crossing during its stay. Thinner antennas and their better positioning (i.e. not creating disruption on the floor) on the tunnel floor could increase the detection rate. Camera traps detected 44% of crossing long-toed Salamander (*Ambystoma macrodactylum*), producing a large number of empty images (Pagnucco *et al.*, 2011). By installing an RFID antenna at the exit of a tunnel, the detectability of the camera traps was reevaluated to a lower 15.3% (Atkinson-Adams, 2015). This kind of comparative studies are welcome in the context of amphibian crossing tunnels.

Amphibian behaviour to evaluate wildlife passage

Evaluating tunnel efficiency can be done with crossing rate (proportion of animals that cross or not the tunnels) and mean speed of crossing. These parameters can be used to evaluate tunnel dimension such as length and diameter (Patrick *et al.*, 2010; Testud *et al.*, in press), substrate (Lesbarrères *et al.*, 2004; Trochet *et al.*, 2019), light, humidity and temperature (Bain, 2014; Bain *et al.*, 2017) and social information including acoustic enrichment (Testud *et al.* in press). However, the same duration in the tunnel can be achieved with very different movement types, and more information about the behaviour inside tunnels would improve the evaluation of the tunnel efficiency (Matos *et al.*, 2018).

We observed a variety of multitude of movements with Urodelan species in tunnels (Figures 3 and 4): individuals crossed the tunnels with “linear” trajectories, while others made “back-and-forth”. Some individuals can stop their movement with “halt” in different parts of the tunnels.

Does individual trajectories improve the evaluation of tunnel lengths?

For newts and salamanders, the trajectories in tunnel 1 and 2 were similar (cf future test de significativité). Taking into account precise movements in the tunnel (this study), we notice that the trajectory is more linear in the tunnel of 40 m (cf future test de significativité). The maximum distance travelled in the tunnel 1 (21 m) before turning back was 16.8 m (fourth antenna) for the salamander and the newts. In the tunnel 2 (40 m), this maximum distance was 24 m for the salamander (third antenna) and 16m for the newts (second antenna). The length of tunnel thus acts on the proportion of complete crossing (higher in *S. salamandra* and *T. cristatus* in the shorter tunnel, Testud *et al.*, in press). However, individuals performing U-turn can be very informative for tunnel characteristic evaluation as no U-turn by newts and salamanders were observed farther than 16 m and 24 m respectively in the tunnel of 40 m. This distance should vary according to a discouraging threshold, based on parameters linked to individual motivation including abiotic (e.g. seasonality; Matos *et al.*, 2018), biotic (species; Ovidio *et al.*, 2017), personality, history of individuals), or social conditions (including acoustic enrichment). In “long” tunnels, individuals who perform complete crossing could be experimented or highly motivated individuals. This would explain the higher frequency of

linear trajectories observed with individuals that completely crossed the 40 m tunnel. A better knowledge of these individual differences is strongly welcome, and can be sources of the large variability in crossing success observed in the literature for amphibians (Allaback and Laabs, 2003; Bain *et al.*, 2017; Brehm, 1989; Dodd *et al.*, 2004; Hamer *et al.*, 2014; Jarvis *et al.*, 2019; Lesbarrères *et al.*, 2004; Malt, 2011; Matos *et al.*, 2018; Patrick *et al.*, 2010; Pomezanski and Bennett, 2018; Woltz *et al.*, 2008).

Does individual trajectories improve the evaluation of acoustic enrichment?

Acoustic enrichment to lure animals to specific places is a new tool for active management on land and at sea (Gordon *et al.*, 2019; Putman and Blumstein, 2019). In the terrestrial environment, this has been shown in birds and mammals (Friesen *et al.*, 2017; Kiffner *et al.*, 2008; Molles *et al.*, 2008; Ward and Schlossberg, 2004). In amphibians, acoustic enrichment with conspecific or heterospecifics calls improves the colonization of new ponds (Buxton *et al.*, 2015; James *et al.*, 2015) and can attract newts (Diego-Rasilla and Luengo, 2004, 2007; Madden and Jehle, 2017; Pupin *et al.*, 2007). When soundtrack of mating calls of syntopic anuran is broadcasted in a tunnel (Testud *et al.*, in press), *Pelophylax kl* exhibited a large increase in complete crossings and in speed and *Triturus cristatus* showed an increase in tunnel complete crossings (but not speed) in one of the acoustically enhanced tunnels. The recording of individual trajectories (this work) improves the evaluation of the effect of acoustic enrichment: in frogs, Water frogs did more linear movements in the tunnel when acoustically enriched by mating calls of syntopic species. In newts, less individuals did a "back and forth" in tunnel (24m) without enrichment in comparison with the same tunnel with enrichment, and the newts made a U-turn at a farer distance (32 m) in the tunnel (40 m) with "enrichment". Acoustic enrichment could modify the behaviour of novice or hesitant individuals and shifts the distance that discourages these individuals from turning back. These results support the hypothesis of attractiveness of the acoustic enrichment (Gerhardt and Huber, 2002), and confirm the improvement of tunnel crossing by amphibians (Testud *et al.*, in press).

Conclusion

The use of RFID multi-antenna system provide information on how small animals behave when crossing tunnels (Testud *et al.*, 2019), and allows testing tunnel characteristics to improve their use (Pomezanski and Bennett, 2018; Testud *et al.*, 2019). The price of the device (reader and antenna) and the distance of detection of marked individuals could be limiting (Testud *et al.*, 2019; Weber *et al.*, 2019; Winandy and Denoël, 2011). The simultaneous use of different methods, e.g. multiple fluorescent pigments, camera traps and RFID systems, in different contexts and with different species would be welcome to compare e.g. individual detection rate (Atkinson-Adams, 2015; Bain *et al.*, 2017; Eggert, 2002; Matos *et al.*, 2018; Testud and Miaud, 2018; Hobbs and Brehme, 2017; Jarvis *et al.*, 2019).

Acoustic enrichment to lure animals to specific places is promising as a new tool for active management on land and at sea (Gordon *et al.*, 2019; Putman and Blumstein, 2019). In marine environment, acoustic enrichment with playback of healthy reef sound can increase fish settlement and retention to degraded habitat and enhances fish community development across all major trophic guilds (Gordon *et al.*, 2019). In the terrestrial environment, this has been shown in birds and mammals (Friesen *et al.*, 2017; Kiffner *et al.*, 2008; Molles *et al.*, 2008; Ward and Schlossberg, 2004). In amphibians, acoustic enrichment with conspecific or heterospecifics calls improves the colonization of new ponds (Buxton *et al.*, 2015; James *et al.*, 2015) and can attract newts (Diego-Rasilla and Luengo, 2004, 2007; Madden and Jehle, 2017; Pupin *et al.*, 2007; Testud *et al.*, in press). This work shows the effectiveness of acoustic enrichment to increase the use of wildlife passage by amphibians.

Evaluating amphibian behaviour in wildlife passage (not only the use) is increasing, thanks to methodological progress such as RFID and other techniques allowing fine tracking. Many experiments have to be conducted taking into account physiological states of individuals, age and experience of migratory routes, etc. The evaluation of acoustic enrichment with other amphibian communities is especially welcome to evaluate the possible generalisation of this managing method.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

We would like to thank Marie-Aurélia Sabatte, Eva Garcia, Agathe Legrand, Anthony Martin, Camille Clowez, Philippe Geniez, Emelie Segrestan, Lynda Farineau, Annick Lucas, François Le Hérissé, Julien Maziere, Margot Piccinin and Adrien Parais for their field participation. We are also grateful to the Janvier and Fred and Arnaud for their hospitality. Philippe Cordier (Biolog-id©) offered us valuable RFID assistance, and Laura Benestan, Aurelie Coulon and the 'Movement' group at the Centre of Functional and Evolutionary Ecology (CEFE) gave constructive advice. This work was supported by the French National Research Agency (ANR), the French engineering group Egis (CIFRE grant number 2017/0212) and the French construction group Eiffage.

References

- Ahlering, M.A., Arlt, D., Betts, M.G., Fletcher, R.J., Nocera, J.J., and Ward, M.P. (2010). Research Needs and Recommendations for the use of Conspecific-Attraction Methods in the Conservation of Migratory Songbirds. *Necesidades de Investigación y Recomendaciones para el Uso de Métodos de Atracción de Individuos Coespecificos en la Conservación de Aves Canoras Migratorias*. *The Condor* 112, 252–264.
- Allaback, M.L., and Laabs, D.M. (2003). Effectiveness of road tunnels for the Santa Cruz long-toed salamander. *Trans. West. Sect. Wildl. Soc.* 38/39, 5–8.
- Atkinson-Adams, M.R. (2015). Movement and habitat use of the long-toed salamander (*Ambystoma macrodactylum*) in Waterton Lakes National Park, Alberta. PhD Thesis. University of Alberta.
- Atkinson-Adams, M.R., Paszkowski, C., and Scrimgeour, G. (2016). Effects of Substrate on PIT Tag Detection with a Self-Made Portable RFID Antenna: Implications for PIT Telemetry. *Herpetol. Rev.* 47, 198–201.
- Bain, T. (2014). Evaluating the Effect of Moisture in Wildlife Crossing Tunnels on the Migration of the California Tiger Salamander, *Ambystoma californiense*. Thesis. Department of Biology, Sonoma State University.
- Bain, T.K., Cook, D.G., and Girman, D.J. (2017). Evaluating the effects of abiotic and biotic factors on movement through wildlife crossing tunnels during migration of the california tiger salamander, *Ambystoma californiense*. *Herpetol. Conserv. Biol.* 12, 192–201.
- Bartoszek, J., and Greenwald, K.R. (2009). A Population Divided: Railroad Tracks as Barriers to Gene Flow in an Isolated Population of Marbled Salamanders (*Ambystoma opacum*). *Herpetol. Conserv. Biol.* 4, 191–197.

- Benitez, J.-P., Dierckx, A., Nzau Matondo, B., Rollin, X., and Ovidio, M. (2018). Movement behaviours of potamodromous fish within a large anthropised river after the reestablishment of the longitudinal connectivity. *Fish. Res.* 207, 140–149.
- Boarman, W.L., Beigel, M.L., Goodlett, G.C., and Sazaki, M. (1998). A passive integrated transponder system for tracking animal movements. *Wildl. Soc. Bull.* 26, 886–891.
- Brehm, K. (1989). The acceptance of 0.2 metre tunnels by amphibians during their migration to the breeding site. In *Amphibians and Roads, Proceedings of the Toad Tunnel Conference*, pp. 29–42.
- Budzik, K.A., and Budzik, K.M. (2014). A preliminary report of amphibian mortality patterns on railways. *Acta Herpetol.* 9, 103–107.
- Buxton, V.L., Ward, M.P., and Sperry, J.H. (2015). Use of chorus sounds for location of breeding habitat in 2 species of anuran amphibians. *Behav. Ecol.* 26, 1111–1118.
- Charney, N.D., Letcher, B.H., Haro, A., and Warren, P.S. (2009). Terrestrial Passive Integrated Transponder Antennae for Tracking Small Animal Movements. *J. Wildl. Manag.* 73, 1245–1250.
- Clevenger, A.P., and Ford, A.T. (2010). Wildlife crossing structures, fencing, and other highway design considerations.
- Diego-Rasilla, F.J., and Luengo, R.M. (2004). Heterospecific call recognition and phonotaxis in the orientation behavior of the marbled newt, *Triturus marmoratus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 55, 556–560.
- Diego-Rasilla, F.J., and Luengo, R.M. (2007). Acoustic orientation in the palmate newt, *Lissotriton helveticus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 61, 1329–1335.
- Dodd, K.C.J., Barichivich, W.J., and Smith, L.L. (2004). Effectiveness of a barrier wall and culverts in reducing wildlife mortality on a heavily traveled highway in Florida. *Biol. Conserv.* 118, 619–631.
- Dorsey, B.P. (2011). Factors affecting bear and ungulate mortalities along the Canadian Pacific Railroad through Banff and Yoho national parks. Thesis. Montana State University - Bozeman, College of Agriculture.
- Eggert, C. (2002). Use of fluorescent pigments and implantable transmitters to track a fossorial toad (*Pelobates fuscus*). *Herpetol. J.* 12, 69–74.
- Forman, R.T.T., and Alexander, L.E. (1998). Roads and Their Major Ecological Effects. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 29, 207–231.
- Friesen, M.R., Beggs, J.R., and Gaskett, A.C. (2017). Sensory-based conservation of seabirds: a review of management strategies and animal behaviours that facilitate success. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 92, 1769–1784.
- Gerhardt, H.C., and Huber, F. (2002). *Acoustic communication in insects and anurans: common problems and diverse solutions* (University of Chicago Press).
- Gordon, T.A.C., Radford, A.N., Davidson, I.K., Barnes, K., McCloskey, K., Nedelec, S.L., Meekan, M.G., McCormick, M.I., and Simpson, S.D. (2019). Acoustic enrichment can enhance fish community development on degraded coral reef habitat. *Nat. Commun.* 10, 1–7.
- Hamer, A.J., van der Ree, R., Mahony, M.J., and Langton, T. (2014). Usage rates of an under-road tunnel by three Australian frog species: implications for road mitigation. *Anim. Conserv.* 17, 379–387.
- Hobbs, M.T., and Brehme, C.S. (2017). An improved camera trap for amphibians, reptiles, small mammals, and large invertebrates. *PLoS One* 12, e0185026.
- James, M.S., Stockwell, M.P., Clulow, J., Clulow, S., and Mahony, M.J. (2015). Investigating behaviour for conservation goals: Conspecific call playback can be used to alter amphibian distributions within ponds. *Biol. Conserv.* 192, 287–293.

- Jarvis, L.E., Hartup, M., and Petrovan, S.O. (2019). Road mitigation using tunnels and fences promotes site connectivity and population expansion for a protected amphibian. *Eur. J. Wildl. Res.* 65, 27.
- Jumeau, J. (2017). Les possibilités de dispersion et éléments d'habitat-refuge dans un paysage d'agriculture intensive fragmenté par un réseau routier dense: le cas de la petite faune dans la plaine du Bas-Rhin. PhD Thesis. Strasbourg.
- Kaczmarek, M., and Kaczmarek, J.M. (2016). Heavy traffic, low mortality—tram tracks as terrestrial habitat of newts. *Acta Herpetol.* 11, 227–232.
- Kiffner, C., Waltert, M., Meyer, B., and Mühlenberg, M. (2008). Response of lions (*Panthera leo* LINNAEUS 1758) and spotted hyaenas (*Crocuta crocuta* ERXLEBEN 1777) to sound playbacks. *Afr. J. Ecol.* 46, 223–226.
- Kornilev, Y.V., Price, S.J., and Dorcas, M.E. (2006). Between a Rock and a Hard Place: Responses of Eastern Box Turtles (*Terrapene carolina*) When Trapped Between Railroad Tracks. *Herpetol. Rev.* 37, 145–148.
- Lesbarrères, D., Lodé, T., and Merilä, J. (2004). What type of amphibian tunnel could reduce road kills? *Oryx* 38, 220–223.
- Lothian, A.J., Gardner, C.J., Hull, T., Griffiths, D., Dickinson, E.R., and Lucas, M.C. (2019). Passage performance and behaviour of wild and stocked cyprinid fish at a sloping weir with a Low Cost Baffle fishway. *Ecol. Eng.* 130, 67–79.
- Madden, N., and Jehle, R. (2017). Acoustic orientation in the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Amphib.-Reptil.* 38, 57–65.
- Malt, J. (2011). Assessing the effectiveness of amphibian mitigation on the Sea to Sky Highway: Population-level effects and best management practices for minimizing highway impacts. *Herpetof. Roads Workshop - There Light End Tunn.*
- Matos, C., Petrovan, S., Ward, A.I., and Wheeler, P. (2017). Facilitating permeability of landscapes impacted by roads for protected amphibians: patterns of movement for the great crested newt. *PeerJ* 5, e2922.
- Matos, C., Petrovan, S.O., Wheeler, P.M., and Ward, A.I. (2018). Short-term movements and behaviour govern the use of road mitigation measures by a protected amphibian. *Anim. Conserv.* 22, 285–296.
- Molles, L., Calcott, A., Peters, D., Delamare, G., Hudson, J.D., Innes, J., Flux, I., and Waas, J.R. (2008). “Acoustic anchoring” and the successful translocation of North Island kokako (*Callaeas cinerea wilsoni*) to a New Zealand mainland management site within continuous forest.
- Ovidio, M., Sonny, D., Dierckx, A., Watthez, Q., Bourguignon, S., Court, B. de le, Detrait, O., and Benitez, J.P. (2017). The use of behavioural metrics to evaluate fishway efficiency. *River Res. Appl.* 33, 1484–1493.
- Pagnucco, K.S., Paszkowski, C.A., and Scrimgeour, G.J. (2011). Using cameras to monitor tunnel use by long-toed salamanders (*Ambystoma macrodactylum*): an informative, cost-efficient technique. *Herpetol. Conserv. Biol.* 6, 277–286.
- Pagnucco, K.S., Paszkowski, C.A., and Scrimgeour, G.J. (2012). Characterizing movement patterns and spatio-temporal use of under-road tunnels by long-toed salamanders in Waterton Lakes National Park, Canada. *Copeia* 2012, 331–340.
- Patrick, D.A., Schalk, C.M., Gibbs, J.P., and Woltz, H.W. (2010). Effective culvert placement and design to facilitate passage of amphibians across roads. *J. Herpetol.* 44, 618–626.
- Perret, N., and Joly, P. (2002). Impacts of Tattooing and Pit-Tagging on Survival and Fecundity in the Alpine Newt (*Triturus alpestris*). *Herpetologica* 58, 131–138.
- Pomezanski, D., and Bennett, L. (2018). Developing recommendations for monitoring wildlife underpass usage using trail cameras. *Environ. Monit. Assess.* 190, 413.

- Popp, J.N., and Boyle, S.P. (2016). Railway ecology: Underrepresented in science? *Basic Appl. Ecol.* 19, 84–93.
- Puky, M., Farkas, J., and Ronkay, M.T. (2007). Use of existing mitigation measures by amphibians, reptiles, and small to medium-size mammals in Hungary: Crossing structures can function as multiple species-oriented measures. *Road Ecol. Cent.*
- Pupin, F., Sacchi, R., Gentili, A., Galeotti, P., and Fasola, M. (2007). Discrimination of toad calls by smooth newts: support for the heterospecific attraction hypothesis. *Anim. Behav.* 74, 1683–1690.
- Putman, B.J., and Blumstein, D.T. (2019). Correction to: What is the effectiveness of using conspecific or heterospecific acoustic playbacks for the attraction of animals for wildlife management? A systematic review protocol. *Environ. Evid.* 8, 20.
- Rodriguez, A., Crema, G., and Delibes, M. (1996). Use of Non-Wildlife Passages Across a High Speed Railway by Terrestrial Vertebrates. *J. Appl. Ecol.* 33, 1527–1540.
- Rytwinski, T., and Fahrig, L. (2015). The impacts of roads and traffic on terrestrial animal populations. *Handb. Road Ecol.* 237–246.
- Testud, G., and Miaud, C. (2018). From effects of linear transport infrastructures on amphibians to mitigation measures. *Reptil. Amphib.*
- Testud, G., Vergnes, A., Cordier, P., Labarraque, D., and Miaud, C. (2019). Automatic detection of small PIT-tagged animals using wildlife crossings. *Anim. Biotelemetry* 7, 21.
- Thiem, J.D., Binder, T.R., Dawson, J.W., Dumont, P., Hatin, D., Katopodis, C., Zhu, D.Z., and Cooke, S.J. (2011). Behaviour and passage success of upriver-migrating lake sturgeon *Acipenser fulvescens* in a vertical slot fishway on the Richelieu River, Quebec, Canada. *Endanger. Species Res.* 15, 1–11.
- Thiem, J.D., Binder, T.R., Dumont, P., Hatin, D., Hatry, C., Katopodis, C., Stamplecoskie, K.M., and Cooke, S.J. (2013). Multispecies Fish Passage Behaviour in a Vertical Slot Fishway on the Richelieu River, Quebec, Canada. *River Res. Appl.* 29, 582–592.
- Trochet, A., Le Chevalier, H., Calvez, O., Ribéron, A., Bertrand, R., and Blanchet, S. (2019). Influence of substrate types and morphological traits on movement behavior in a toad and newt species. *PeerJ* 6.
- Ward, M.P., and Schlossberg, S. (2004). Conspecific Attraction and the Conservation of Territorial Songbirds. *Conserv. Biol.* 18, 519–525.
- Weber, L., Šmejkal, M., Bartoň, D., and Rulík, M. (2019). Testing the applicability of tagging the Great crested newt (*Triturus cristatus*) using passive integrated transponders. *PLoS ONE* 14, e0219069.
- Winandy, L., and Denoël, M. (2011). The use of visual and automatized behavioral markers to assess methodologies: a study case on PIT-tagging in the Alpine newt. *Behav. Res. Methods* 43, 568–576.
- Woltz, H.W., Gibbs, J.P., and Ducey, P.K. (2008). Road crossing structures for amphibians and reptiles: Informing design through behavioral analysis. *Biol. Conserv.* 141, 2745–2750.

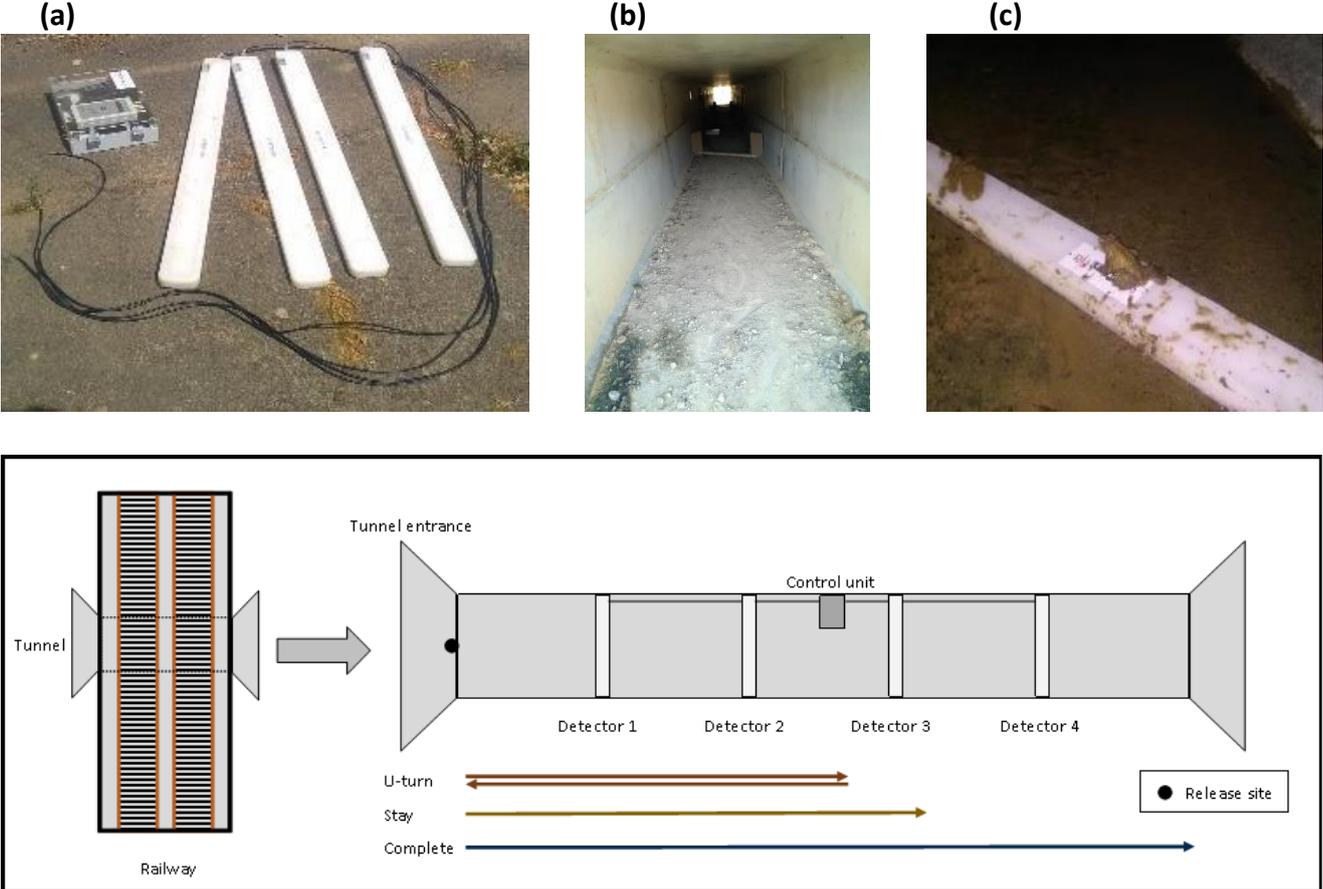
Species	Life stage	Without acoustic enrichment			With acoustic enrichment			Total		
		Tunnel 1	Tunnel 2	Tunnel 3	Tunnel 1	Tunnel 2	Tunnel 3	Tunnel 1	Tunnel 2	Tunnel 3
<i>Salamandra salamandra</i> (1)	A	69	32					69	32	
<i>Pelophylax</i> kl. (2)	A			228			35			263
	J			61						61
<i>Triturus cristatus</i> (3)	A	229	59	62	46	46	71	275	105	133
	J	16	3	7	14	3	4	30	6	11

Table 1: Number of individuals of the three species tested in the different experiments. Life stage A = adult; J = juvenile. (1) caught on land before reproduction (2) caught in water before egg laying; (3) caught in water during reproduction.

	Antenna 1	Antenna 2	Antenna 3	Antenna 4
<i>Salamandra salamandra</i> (N = 22)				
in tunnel 1	0,73 ± 0,19	0,77 ± 0,18	0,91 ± 0,12	0,77 ± 0,18
<i>Triturus cristatus</i> (N = 125)				
in tunnel 1	0,74 ± 0,08	0,80 ± 0,07	0,84 ± 0,06	0,94 ± 0,04
<i>Triturus cristatus</i> (N = 34)				
in tunnel 3	0,85 ± 0,12	0,68 ± 0,16	0,97 ± 0,06	0,94 ± 0,08
<i>Pelophylax kl.</i> (N = 53)				
in tunnel 3	0,08 ± 0,07	0,11 ± 0,09	0,38 ± 0,13	0,36 ± 0,13

Table 2: Evaluation of 4 antenna efficiency for three amphibian species in tunnel 1 (21 m length) and tunnel 3 (18.5m length). Efficiency is expressed as the proportion of animals detected by each antenna among the animals that have completely crossed the tunnels, with confidence interval at 5%.

Figure 1: (a) The four antenna of the RFID device implemented in tunnels. (b) Internal view of one equipped tunnel. Wooden reflectors, set up on the extremity of one antenna are visible. (c) A spined toad crossing one antenna. (d) Schematic view of the experiment. U-turn, Stay and Complete are behavioural categories recorded in the equipped tunnels.



(d)

Figure 2: Efficiency of the antennas or antenna detection correspond to proportion of animals detected by the antenna among the animals that have completely crossed the tunnels. Efficiency of antenna was measured in tunnels 1 and 3. Dark grey bar represent *T. cristatus*. Light grey bar represent *S. salamandra*. White bar represent *Pelophylax Kl.*

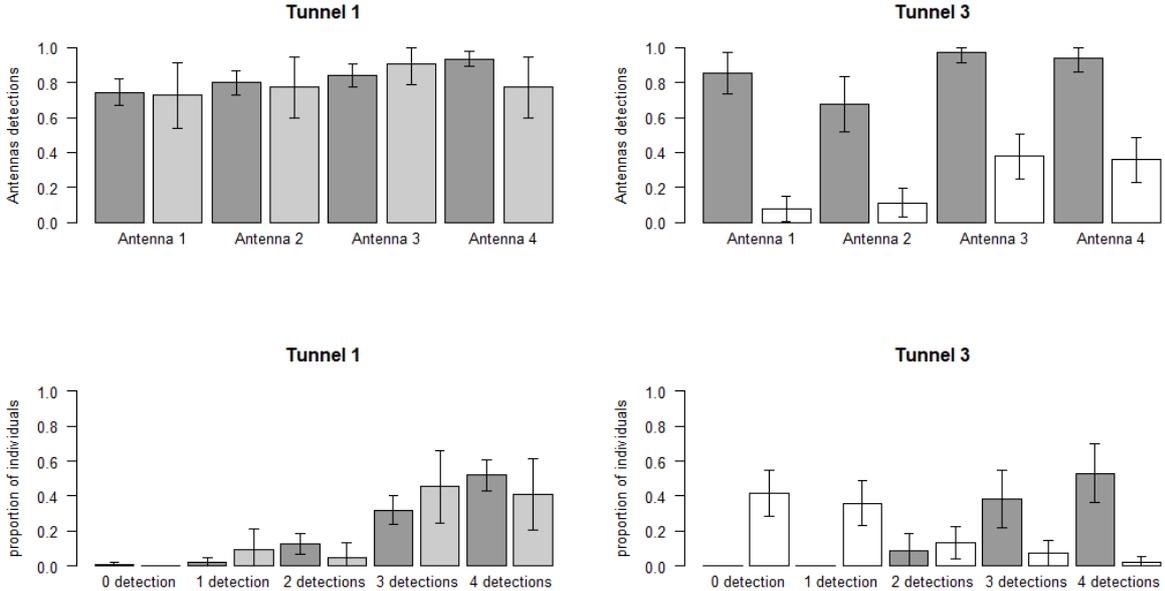


Figure 3 : Different types of movement during complete crossing

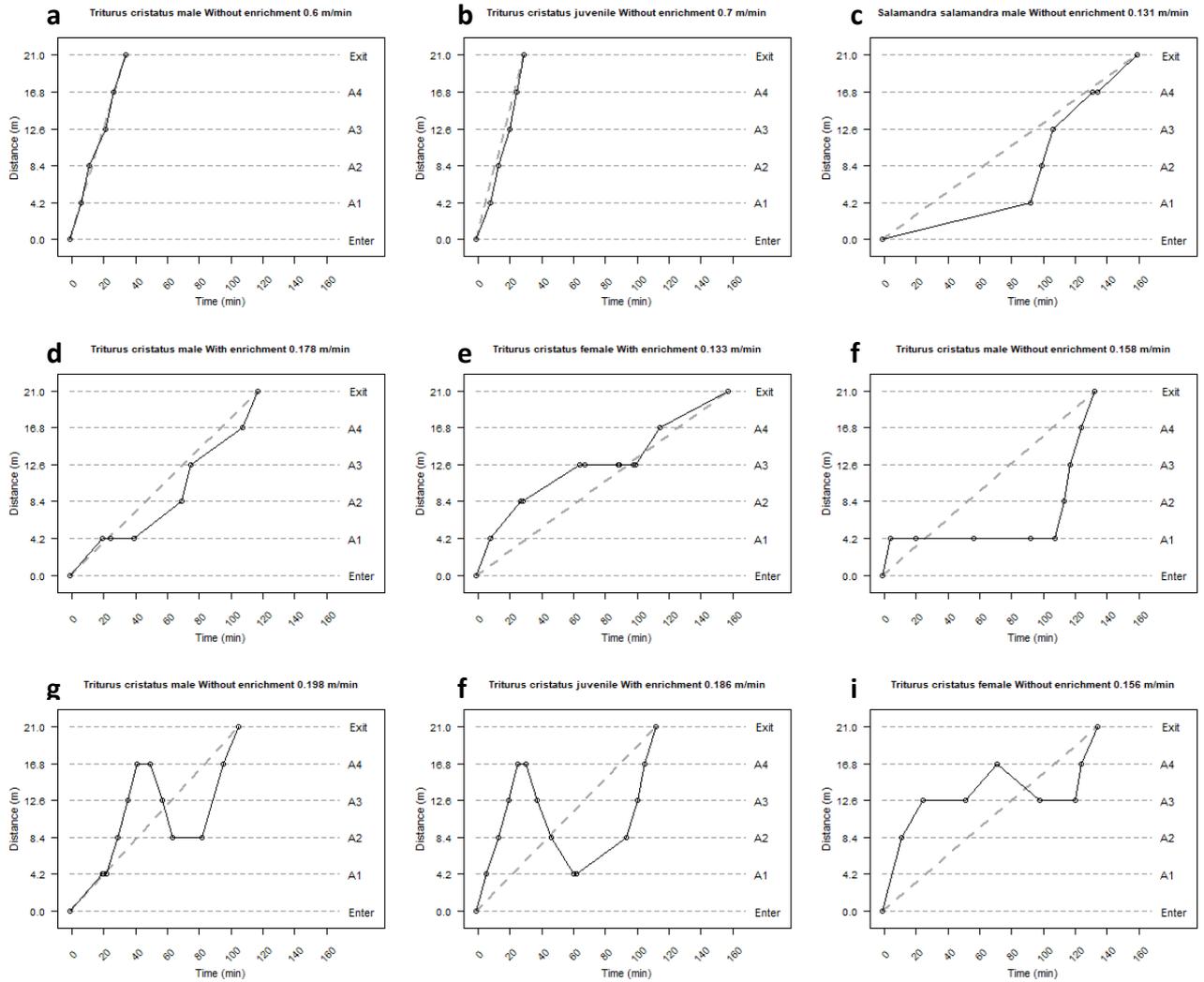


Figure 4 : Different types of movement during U-turn

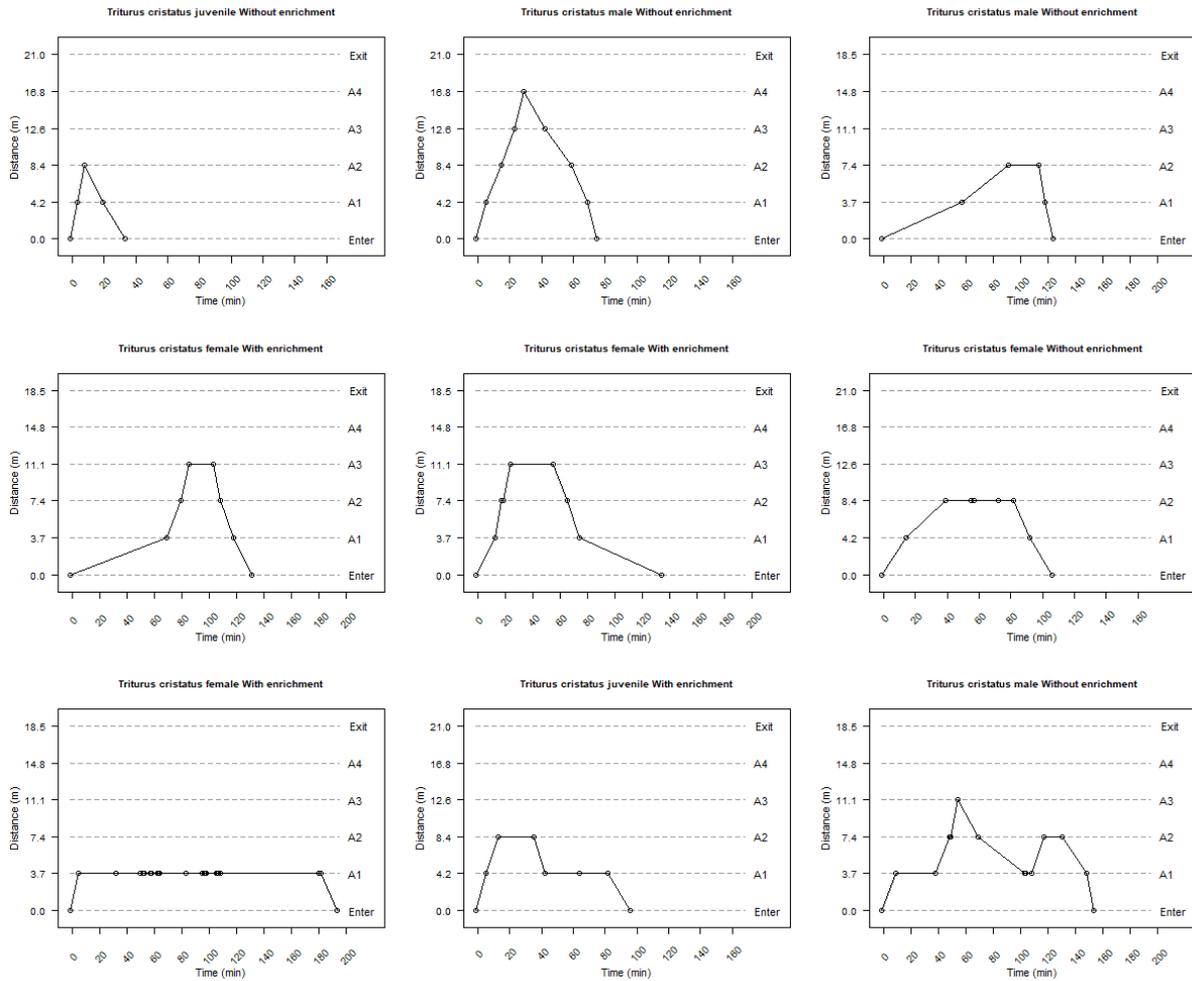


Figure 5 : Trajectories of *S. salamandra* in Tunnel 1 (T1) and Tunnel 2 (T2) to complete crossing (left) and U-turn (right).

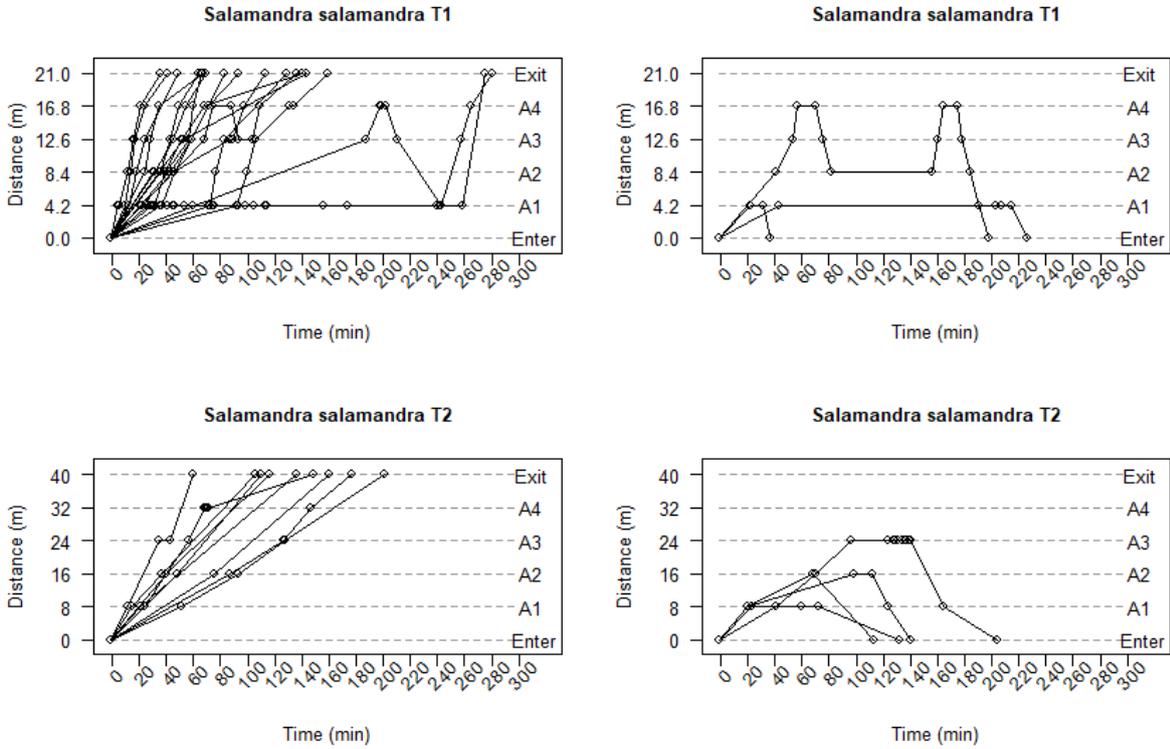


Figure 6 : Trajectories of *T. cristatus* in Tunnel 1 and 2 without acoustic enrichment (T1) and with acoustic enrichment (T2) to complete crossing (left) and U-turn (right).

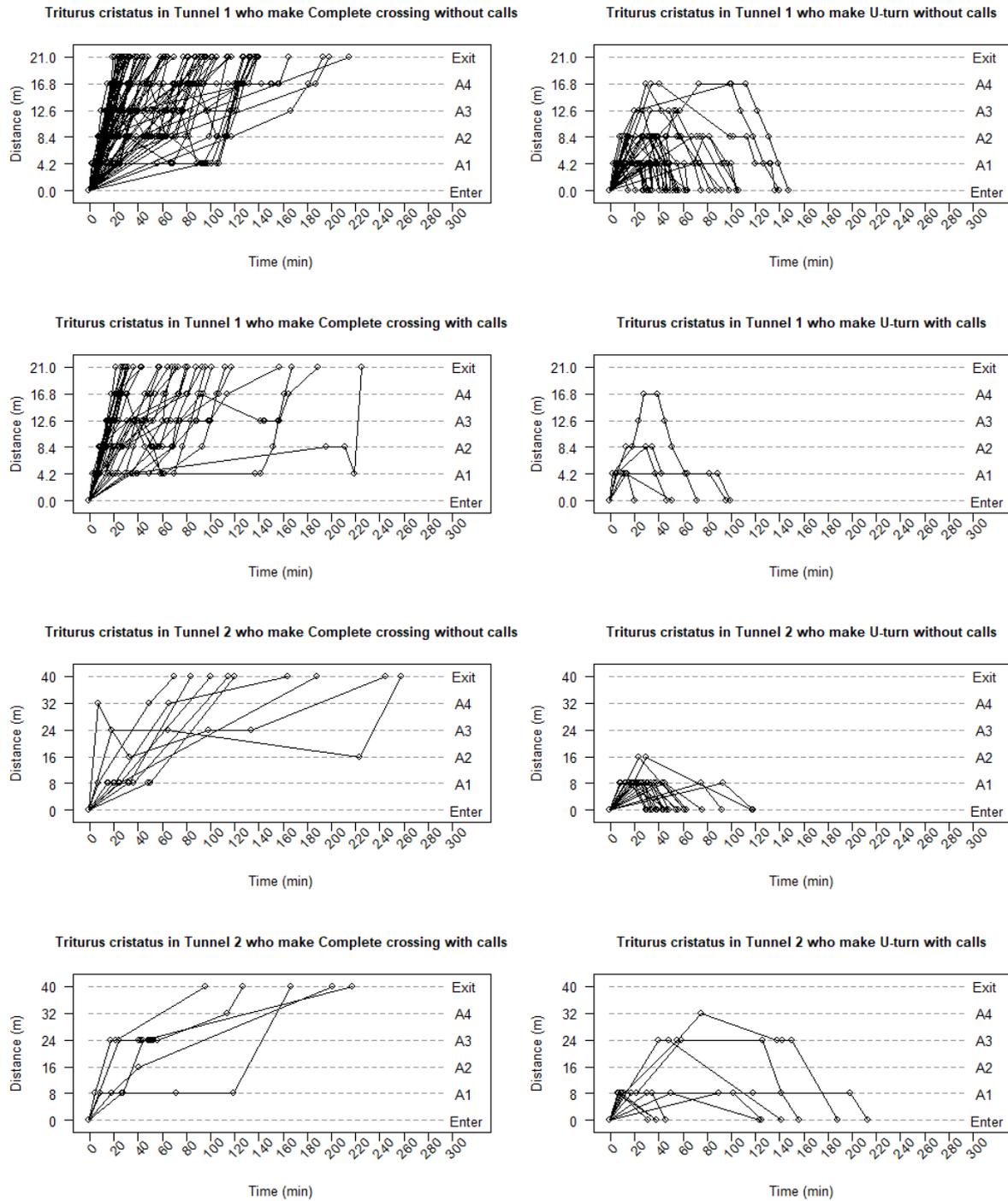
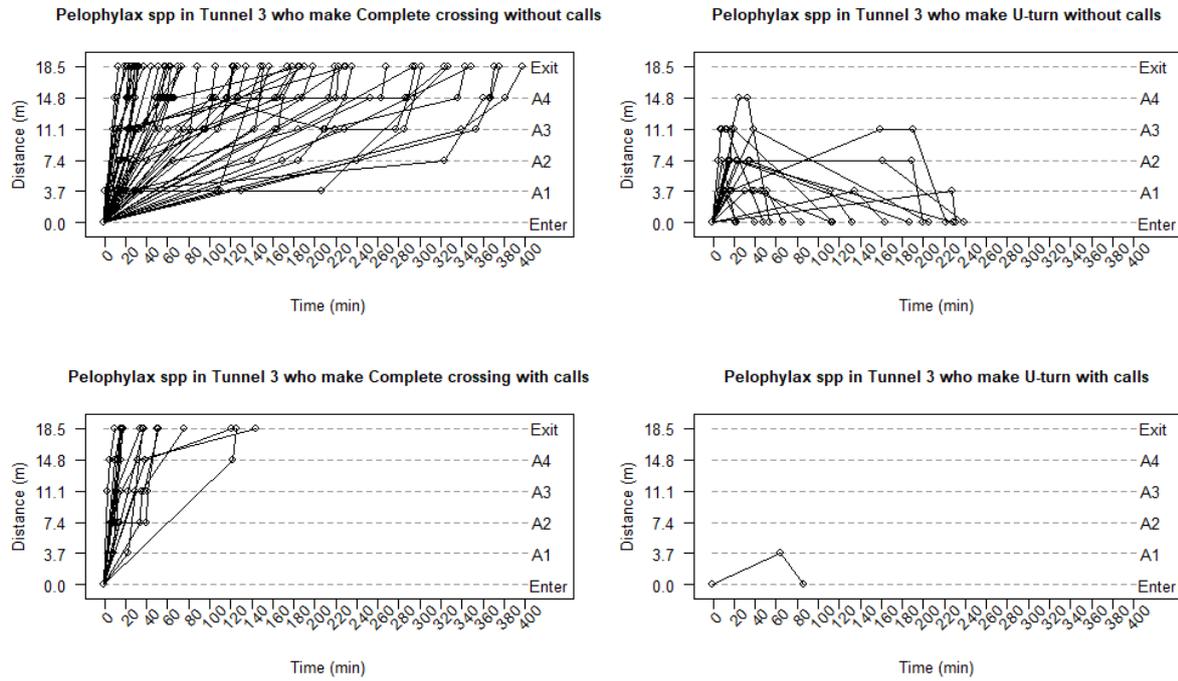


Figure 7 : Trajectories of *Pelophylax kl* in Tunnel 3 (T3) without acoustic enrichment and with acoustic enrichment to complete crossing (left) and U-turn (right).



Chapitre 4 Discussion générale et perspectives

I. Synthèse générale

1. Comportement de franchissement de la LGV

Les amphibiens peuvent être réticents à utiliser les tunnels (Allaback and Laabs, 2003; Bain *et al.*, 2017; Jarvis *et al.*, 2019; Matos *et al.*, 2017, 2018). Le suivi du comportement dans les tunnels permet d'apporter une meilleure connaissance des causes de ces refus de franchissement et permettra de concevoir de nouveaux tunnels ou d'adapter des structures existantes pour qu'elles soient plus efficaces.

L'utilisation de plusieurs antennes RFID fournit des informations sur les trajectoires et permet de mieux suivre les comportements dans les tunnels et potentiellement les raisons des franchissements ou des non-franchissements (Pomezanski and Bennett, 2018; Testud *et al.*, 2019).

Les antennes RFID peuvent permettre d'équiper différents types de tunnels pour tester leurs caractéristiques dans le but d'améliorer leur utilisation. Le prix du dispositif (lecteur et antennes) et la distance de détection des individus marqués pourraient être limitants (Testud *et al.*, 2019; Weber *et al.*, 2019; Winandy *et al.*, 2017).

Des distances à parcourir dans les tunnels, proches de 40 m semblent être dissuasives pour une fraction importante des individus des espèces testées. Une distance seuil qui pourrait dissuader les individus basée sur des paramètres liés à la motivation individuelle, notamment les conditions abiotiques (Matos *et al.*, 2018), biotiques (Ovidio *et al.*, 2017), ou sociales (Testud *et al.*, 2020).

2. Tailles de population et suivi des échanges entre mares

Les suivis par capture-marquage-recapture fournissent des informations sur les densités d'individus et sur la connectivité entre les sites de reproduction. L'utilisation des effectifs et des échanges entre sites de reproduction peuvent ainsi permettre d'évaluer les mesures de compensation. Ces critères nous permettent de montrer que la colonisation varie en fonction de nombreux paramètres (par exemple, les distances entre les mares).

Les suivis par CMR ont permis de montrer des échanges entre sites de reproduction et de quantifier des déplacements nécessitant les franchissements de la LGV même pour des espèces qui démontrent par ailleurs une forte fidélité à leur site de reproduction.

3. Bilan des secteurs

En 2019, plus de cinq ans après le début des travaux et les premières destructions de mares, la diversité des espèces a pu être maintenue dans les cinq secteurs étudiés et des populations viables au moins à court terme se sont développées pour au moins une partie des espèces présentes.

Le secteur de Lombron a été suivi de 2018 à 2019. Le secteur n'a pas été utilisé pour des expériences de « homing ». Deux mares sont présentes. Dans l'ensemble le secteur présente une diversité de 5 espèces avec 3 urodèles et 2 anoues, une abondance forte (plusieurs centaines d'individus) pour la Grenouille agile, le Triton crêté et le Triton ponctué mais seulement dans une seule des 2 mares. Aucun échange n'a été observé. On pourrait proposer des améliorations en terme de connectivité pour favoriser la colonisation (améliorations des tunnels, nouvelles mares). On pourrait proposer des améliorations visant à augmenter l'abondance dans la mare peu colonisée (qualité de la mare en terme de végétation, etc.).

Le secteur de Chantenay-Villedieu a été suivi de 2017 à 2019. Le secteur a été utilisé pour des expériences de « homing » (« Tunnel 1 » de 21 m et « Tunnel 2 » de 40 m). Huit mares sont présentes et un tunnel est inondé et ses deux extrémités restent en eau pendant la saison de reproduction. Dans l'ensemble le secteur présente une diversité de 9 espèces avec 4 urodèles et 5 anoues, une abondance très forte (milliers d'individus) pour le Triton crêté, le Triton palmé et une abondance forte (plusieurs centaines d'individus) pour la Grenouille agile, la Rainette verte, la Salamandre tachetée répartie différemment sur le secteur. Une mare n'est pas colonisée. Douze individus ont changé de mare, dont 4 au niveau du tunnel inondé impliquant le franchissement de la LGV. Une observation a eu lieu d'un individu ayant franchi complètement le « Tunnel 1 » sans intervention humaine en même temps qu'une expérience de homing. On pourrait proposer des améliorations en terme de connectivité longitudinale (mise en place d'un corridor et creusements de nouvelles mares) et en terme de transparence de la LGV (amélioration de l'attractivité des batrachoducs : substrat et enrichissement sonore). On

pourrait proposer des améliorations visant à augmenter l'abondance dans certaines mares peu colonisées (qualité de la mare en terme de végétation, etc.).

Le secteur de Beaulieu-sur-Oudon a été suivi de 2017 à 2019. Le secteur a été utilisé pour des expériences de « homing » (« Tunnel 3 » de 18.5 m). Douze mares sont présentes. Dans l'ensemble, le secteur présente une diversité de 10 espèces avec 5 urodèles et 5 anoures, une abondance très forte (milliers d'individus) pour la Rainette verte, les Grenouilles vertes, le Triton crêté, le Triton palmé, le Triton alpestre et forte (plusieurs centaines d'individus) pour la Salamandre tachetée, le Triton marbré, la Grenouille agile, le Crapaud épineux et l'Alyte accoucheur. 70 individus ont changé de mare, 4 ont franchi la LGV (1 aller-retour), des observations de juvéniles de Crapauds épineux et Grenouilles vertes ont eu lieu dans le « Tunnel 3 » (18.5 m). Il n'est pas nécessaire de proposer des améliorations en terme de connectivité. Il n'est pas nécessaire de proposer des améliorations visant à augmenter l'abondance dans certaines mares peu colonisées car elles devraient se coloniser naturellement. Il est nécessaire de surveiller la prolifération des perches arc-en-ciel dans certaines mares pour éviter des pertes d'abondances. Etant donné le grand intérêt batrachologique de ce secteur, il serait intéressant d'évaluer spécifiquement les risques (changement d'occupation des sols, espèces introduites, etc.) afin d'en garantir la pérennité (e.g. communication, statut réglementaire de protection, etc.).

Le secteur du Pertre a été suivi de 2018 à 2019. Le secteur n'a pas été utilisé pour des expériences de « homing ». Quatre mares sont présentes. Dans l'ensemble, le secteur présente une diversité de 8 espèces avec 5 urodèles et 3 anoures, une abondance forte (plusieurs centaines d'individus) pour la Grenouille agile, et le Triton palmé. Aucun échange n'a été observé. On pourrait proposer des améliorations en terme de connectivité pour favoriser la colonisation (nouvelles mares). On pourrait proposer des améliorations visant à augmenter l'abondance dans les mares (amélioration du paysage, habitat terrestre des amphibiens entre Le Pertre et Beaulieu-sur-Oudon à 1.2 Km).

Le secteur de Brielles a été suivi de 2018 à 2019. Le secteur n'a pas été utilisé pour des expériences de « homing ». Huit mares sont présentes. Dans l'ensemble le secteur présente une diversité de 8 espèces avec 5 urodèles et 3 anoures, une abondance très forte (milliers d'individus) pour le Triton crêté et une abondance forte (plusieurs centaines d'individus) pour la Grenouille agile, le Triton alpestre le Triton marbré et le Triton palmé. Trente-sept individus

ont changé de mare, dont un Triton alpestre avec franchissement de la LGV. On pourrait proposer des améliorations en terme de connectivité longitudinale (la route départementale peut être un élément fragmentant du paysage et des mesures pourraient être mises en place) et en terme de transparence de la LGV (Le passage à faune qui n'est pas un batrachoduc ne semble pas accueillant pour les amphibiens et pourrait être amélioré). On pourrait proposer des améliorations visant à augmenter l'abondance dans certaines mares peu colonisées (qualité de la mare en terme de végétation, etc.).

La richesse spécifique et les densités de populations du secteur de « Beaulieu-sur-Oudon » montrent le succès des mesures « Éviter-Réduire-Compenser » mises en place sur le secteur et devrait être considéré comme une zone d'intérêt majeur pour la communauté d'amphibiens. Le secteur du Pertre se situe à proximité du secteur de Beaulieu-sur-Oudon (1.2 km) et de Brielles (3.7 km). Un corridor écologique le long de la LGV pourrait être mis en place entre ces secteurs.

II. Conclusion et perspectives

Les effets des infrastructures linéaires de transport perturbent les mouvements des amphibiens. Pour mieux prévoir le fonctionnement spatial des populations dans des paysages fragmentés par les activités humaines, et dans un objectif de conservation des populations et des espèces, le suivi du déplacement des animaux dans le paysage est devenu essentiel (Fraser *et al.*, 2018; Nathan *et al.*, 2008). Il est important de les étudier en tant que phénomène comportemental, écologique et évolutif (Dingle and Drake, 2007). Ces études sont cruciales pour la conception de mesures d'atténuation qui permettent la traversée sécurisée des infrastructures de transport par la faune (Cayuela *et al.*, 2019, 2020; Jarvis *et al.*, 2019; Joly, 2019). Nos approches (CMR et comportements) sont complémentaires à des approches de modélisation du fonctionnement démographique des populations (Lowe and Allendorf, 2010).

Cette thèse aura donc permis de mieux comprendre le fonctionnement des populations d'amphibiens dans le paysage incluant la LGV, et en particulier le rôle des mares créées (e.g. mares de compensation). La « transparence » de la LGV a été évaluée par l'utilisation des aménagements (éco-passages et mares relais) grâce à un suivi d'individus marqués au cours de trois années successives, dans le contexte d'un fonctionnement populationnel. Les modalités d'utilisation des éco-passages ont été précisées par des expériences de « homing » qui ont permis de suivre le comportement des individus lors du franchissement des éco-passages. L'ensemble de ces résultats, en ayant bien conscience de leurs valeurs limitées en terme temporel (pas d'inférence sur la viabilité des populations) et spatial (suivis réalisés dans un contexte biogéographique donné), permettent d'apporter une évaluation des mesures mises en place et d'apporter des recommandations et méthodes pour améliorer les actions d'aménagement.

Nos données pourront permettre de mieux comprendre les différentes phases de la dispersion dans le contexte des ILTs, que ce soit la phase de départ et d'installation ou la phase de transience. Cette meilleure connaissance des adaptations comportementales à des situations spécifiques pourrait ainsi permettre un développement plus ciblé des mesures de conservation. Elles aideront à assurer la connectivité fonctionnelle, de la conception des corridors écologiques à l'atténuation du rôle de barrière des routes et des voies ferrées grâce aux passages à faune (Bain *et al.*, 2017). Dans ce sens cette thèse répond aux objectifs de

l'observatoire environnemental de la LGV pour améliorer la conception et l'intégration des futurs projets de LGV.

Les méthodes utilisées (CMR) nécessitent un fort investissement en temps et personnels. Le développement de méthode de suivi allégé des tendances des populations par l'utilisation des modèles d'occupancy (MacKenzie and Nichols, 2004), la détection des espèces avec l'ADNe (Ficetola *et al.*, 2008) et la baisse des coûts des analyses génétiques devraient permettre la généralisation de leur utilisation, au profit de meilleures évaluations.

Compte tenu de la complémentarité et des progrès méthodologiques (Hobbs and Brehme, 2017; Jarvis *et al.*, 2019; Jumeau, 2017; Matos *et al.*, 2018; Pomezanski and Bennett, 2018), l'utilisation des trois méthodes (pigments fluorescents, pièges-photos et antennes RFID) simultanément permettrait une meilleure description et compréhension des déterminants des comportements de franchissement et permettrait d'améliorer à la fois les passages à faune et leur évaluation. De nombreuses expériences restent à être menées en tenant compte de l'état physiologique des individus, de l'âge et de l'expérience des individus, etc.

Différents paramètres influencent l'utilisation des tunnels tels que la longueur (revue dans Testud *et al.*, in press) et le diamètre (Patrick *et al.*, 2010), il semble raisonnable de préconiser autant que possible une limitation de la longueur des passages à faune. Mais ce sont souvent les contraintes de construction qui dictent la longueur des tunnels. Il semble donc indispensable de travailler sur l'attractivité des tunnels pour réduire l'effet négatif de leur longueur. L'augmentation de la largeur ou du diamètre (Patrick *et al.*, 2010), la qualité du substrat (Lesbarrères *et al.*, 2004; Trochet *et al.*, 2019), la lumière, l'humidité et la température (Bain, 2014; Bain *et al.*, 2017), pourraient être des paramètres à intégrer pour les aménageurs lors de la conception ou la requalification des passages à petite faune. Les effets de tous ces paramètres devraient être étudiés plus en détail, en tenant compte des différences comportementales entre les différentes espèces d'amphibiens (Baguette and Dyck, 2007; Lesbarrères *et al.*, 2004; Puky *et al.*, 2007), afin de proposer les meilleures combinaisons possibles pour les communautés d'amphibiens considérées.

Un enrichissement acoustique peut être efficace pour attirer les anoues mais aussi les urodèles dans les passages à faune (hypothèse de l'attractivité de l'enrichissement acoustique de Gerhardt and Huber, 2002) et améliorer leur « performance de franchissabilité ». Nous

proposons que l'enrichissement sonore des tunnels à petite faune soit utilisé pour améliorer la mise en œuvre de nouveau passage à faune visant les amphibiens dans les premières années de mise en service. La méthode pourra également accompagner la requalification de certains tunnels plus anciens. L'enrichissement acoustique d'autres aménagement comme les mares de compensation devrait aussi être évalué. L'efficacité de cette méthode montre également l'intérêt d'installer des mares dites « relais » aux abords des tunnels ou de maintenir des mares historiques à proximité. Une fois colonisées par des anoues chanteurs, elles pourraient être considérées comme un enrichissement acoustique participant à l'attractivité des tunnels.

En gardant un coût raisonnable, l'enrichissement acoustique devient un nouvel outil de gestion sur terre comme en mer pour de nombreux groupes taxonomiques (Gordon *et al.*, 2019; Putman and Blumstein, 2019). Nos expériences ouvrent aussi le champ de leur utilisation dans le cadre des aménagements en lien avec les ILTs.

Les impacts réels des voies ferrées sont très peu connus (Budzik and Budzik, 2014; Popp and Boyle, 2016; Prunier *et al.*, 2014), et des études devront être conduites pour mieux les comprendre. Tout particulièrement l'effet du rail et du ballast qui n'a pas pu être traité dans cette thèse. Les barrières en béton et clôtures d'exclusion sont efficaces pour réduire la mortalité routière de la faune (Dodd *et al.*, 2004), mais elles ne permettent pas toujours un bon guidage des animaux vers les passages à faune (Matos *et al.*, 2018). L'efficacité des clôtures d'exclusion de la petite faune est loin d'être assurée : des Crapauds calamites ont été observés dans des bassins d'orages clôturés sur un secteur non suivi de la LGV. L'évaluation des barrières et clôtures pourrait faire l'objet de projet de recherche à part entière pour les optimiser. L'influence de la présence des bassins d'orages devrait également être mieux compris (Jumeau, 2017).

Il serait intéressant d'élargir les périmètres des futures études (Smith and Green, 2005), Cette thèse s'étant limité à des distances comprises entre quelques centaines de mètres et 1 km au maximum (Chantenay-Villedieu) entre les mares les plus éloignées des secteurs. Des études paysagères multi-spécifiques pourraient être conduites de façon complémentaire à large échelle et permettraient de mieux définir la « zone d'impact » de l'aménagement (Clauzel *et al.*, 2015). De la même manière, l'aspect temporel sera intéressant

à étudier pour mieux comprendre l'évolution à long terme des paysages, des communautés et des populations et leurs réactions aux effets des ILTs (Safner *et al.*, 2011).

Les franchissements de la LGV observés au cours des trois années de suivis en période de reproduction (printemps) ont eu lieu principalement entre mares distantes de moins de 100 m, avec la présence de passages à faune à proximité. Nous considérons donc qu'il est crucial que les futurs passages à petite faune et tout particulièrement les batrachoducs soient construits à proximité immédiate des mares historiques et/ou des mares de compensation et que des réseaux de mares soient élaborés afin d'améliorer la connectivité au sein des secteurs aménagés. Dans le cas de secteurs comme celui de « Beaulieu-sur-Oudon », Il serait important d'élaborer des stratégies de protection des réseaux de mares créées au long terme en concertation avec les collectivités locales et les propriétaires fonciers.

Enfin, différentes infrastructures se croisent ou se côtoient fréquemment. Leurs impacts cumulés doivent être évalués dans le futur afin d'améliorer l'atténuation de ces effets cumulés (Clauzel *et al.*, 2015; Prunier *et al.*, 2014; Safner *et al.*, 2011), ce qui peut passer par une forme de « mutualisation » des aménagements (e.g. localisation des passages à faune, etc.).

Bibliographie

- Allaback, M.L., and Laabs, D.M. (2003). Effectiveness of road tunnels for the Santa Cruz long-toed salamander. *Transactions of the Western Section of the Wildlife Society* 38/39, 5–8.
- Baguette, M., and Dyck, H.V. (2007). Landscape connectivity and animal behavior: functional grain as a key determinant for dispersal. *Landscape Ecol* 22, 1117–1129.
- Bain, T. (2014). Evaluating the Effect of Moisture in Wildlife Crossing Tunnels on the Migration of the California Tiger Salamander, *Ambystoma californiense*. Thesis. Department of Biology, Sonoma State University.
- Bain, T.K., Cook, D.G., and Girman, D.J. (2017). Evaluating the effects of abiotic and biotic factors on movement through wildlife crossing tunnels during migration of the california tiger salamander, *Ambystoma californiense*. *Herpetological Conservation and Biology* 12, 192–201.
- Budzik, K.A., and Budzik, K.M. (2014). A preliminary report of amphibian mortality patterns on railways. *Acta Herpetologica* 9, 103–107.
- Cayuela, H., Bonnaire, É., Astruc, G., and Besnard, A. (2019). Transport infrastructure severely impacts amphibian dispersal regardless of life stage. *Sci Rep* 9, 1–10.
- Cayuela, H., Valenzuela-Sánchez, A., Teulier, L., Martínez-Solano, Í., Léna, J.-P., Merilä, J., Muths, E., Shine, R., Quay, L., Denoël, M., *et al.* (2020). Determinants and Consequences of Dispersal in Vertebrates with Complex Life Cycles: A Review of Pond-Breeding Amphibians. *The Quarterly Review of Biology* 95, 1–36.
- Clauzel, C., Bannwarth, C., and Foltete, J.-C. (2015). Integrating regional-scale connectivity in habitat restoration: An application for amphibian conservation in eastern France. *Journal for Nature Conservation* 23, 98–107.
- Dingle, H., and Drake, V.A. (2007). What Is Migration? *BioScience* 57, 113–121.
- Dodd, K.C.J., Barichivich, W.J., and Smith, L.L. (2004). Effectiveness of a barrier wall and culverts in reducing wildlife mortality on a heavily traveled highway in Florida. *Biological Conservation* 118, 619–631.
- Ficetola, G.F., Miaud, C., Pompanon, F., and Taberlet, P. (2008). Species detection using environmental DNA from water samples. *Biology Letters* 4, 423–425.
- Fraser, K.C., Davies, K.T.A., Davy, C.M., Ford, A.T., Flockhart, D.T.T., and Martins, E.G. (2018). Tracking the Conservation Promise of Movement Ecology. *Front. Ecol. Evol.* 6.
- Gerhardt, H.C., and Huber, F. (2002). *Acoustic communication in insects and anurans: common problems and diverse solutions* (University of Chicago Press).
- Gordon, T.A.C., Radford, A.N., Davidson, I.K., Barnes, K., McCloskey, K., Nedelec, S.L., Meekan, M.G., McCormick, M.I., and Simpson, S.D. (2019). Acoustic enrichment can enhance fish community development on degraded coral reef habitat. *Nat Commun* 10, 1–7.
- Hobbs, M.T., and Brehme, C.S. (2017). An improved camera trap for amphibians, reptiles, small mammals, and large invertebrates. *PLoS ONE* 12, e0185026.

- Jarvis, L.E., Hartup, M., and Petrovan, S.O. (2019). Road mitigation using tunnels and fences promotes site connectivity and population expansion for a protected amphibian. *Eur J Wildl Res* 65, 27.
- Joly, P. (2019). Behavior in a changing landscape: Using movement ecology to inform the conservation of pond-breeding amphibians. *Front. Ecol. Evol.* 7.
- Jumeau, J. (2017). Les possibilités de dispersion et éléments d'habitat-refuge dans un paysage d'agriculture intensive fragmenté par un réseau routier dense: le cas de la petite faune dans la plaine du Bas-Rhin. PhD Thesis. Strasbourg.
- Lesbarrères, D., Lodé, T., and Merilä, J. (2004). What type of amphibian tunnel could reduce road kills? *Oryx* 38, 220–223.
- Lesbarrères, D., Fowler, M.S., Pagano, A., and Lodé, T. (2010). Recovery of anuran community diversity following habitat replacement. *Journal of Applied Ecology* 47, 148–156.
- Lowe, W.H., and Allendorf, F.W. (2010). What can genetics tell us about population connectivity? *Molecular Ecology* 19, 3038–3051.
- MacKenzie, D.I., and Nichols, J.D. (2004). Occupancy as a surrogate for abundance estimation.
- Matos, C., Petrovan, S., Ward, A.I., and Wheeler, P. (2017). Facilitating permeability of landscapes impacted by roads for protected amphibians: patterns of movement for the great crested newt. *PeerJ* 5, e2922.
- Matos, C., Petrovan, S.O., Wheeler, P.M., and Ward, A.I. (2018). Short-term movements and behaviour govern the use of road mitigation measures by a protected amphibian. *Animal Conservation* 22, 285–296.
- 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. *PNAS* 105, 19052–19059.
- Ovidio, M., Sonny, D., Dierckx, A., Watthez, Q., Bourguignon, S., Court, B. de le, Detrait, O., and Benitez, J.P. (2017). The use of behavioural metrics to evaluate fishway efficiency. *River Research and Applications* 33, 1484–1493.
- Patrick, D.A., Schalk, C.M., Gibbs, J.P., and Woltz, H.W. (2010). Effective culvert placement and design to facilitate passage of amphibians across roads. *Journal of Herpetology* 44, 618–626.
- Pomezanski, D., and Bennett, L. (2018). Developing recommendations for monitoring wildlife underpass usage using trail cameras. *Environ Monit Assess* 190, 413.
- Popp, J.N., and Boyle, S.P. (2016). Railway ecology: Underrepresented in science? *Basic and Applied Ecology* 19, 84–93.
- Prunier, J.G., Kaufmann, B., Léna, J.-P., Fenet, S., Pompanon, F., and Joly, P. (2014). A 40-year-old divided highway does not prevent gene flow in the alpine newt *Ichthyosaura alpestris*. *Conserv Genet* 15, 453–468.

- Puky, M., Farkas, J., and Ronkay, M.T. (2007). Use of existing mitigation measures by amphibians, reptiles, and small to medium-size mammals in Hungary: Crossing structures can function as multiple species-oriented measures. *Road Ecology Center*.
- Putman, B.J., and Blumstein, D.T. (2019). Correction to: What is the effectiveness of using conspecific or heterospecific acoustic playbacks for the attraction of animals for wildlife management? A systematic review protocol. *Environmental Evidence* 8, 20.
- 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. *Conserv Genet* 12, 161–173.
- Smith, M.A., and Green, D.M. (2005). Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: are all amphibian populations metapopulations? *Ecography* 28, 110–128.
- Testud, G., Vergnes, A., Cordier, P., Labarraque, D., and Miaud, C. (2019). Automatic detection of small PIT-tagged animals using wildlife crossings. *Animal Biotelemetry* 7, 21.
- Trochet, A., Le Chevalier, H., Calvez, O., Ribéron, A., Bertrand, R., and Blanchet, S. (2019). Influence of substrate types and morphological traits on movement behavior in a toad and newt species. *PeerJ* 6.
- Weber, L., Šmejkal, M., Bartoň, D., and Rulík, M. (2019). Testing the applicability of tagging the Great crested newt (*Triturus cristatus*) using passive integrated transponders. *PLoS ONE* 14, e0219069.
- Winandy, L., Legrand, P., and Denoël, M. (2017). Habitat selection and reproduction of newts in networks of fish and fishless aquatic patches. *Animal Behaviour* 123, 107–115.

Lien pour revisionner la soutenance :

shorturl.at/azDFH

RÉSUMÉ

Dans le cadre de la construction d'une ligne à grande vitesse, cette thèse vise à évaluer les mesures d'atténuation qui permettraient les mouvements des communautés d'amphibiens (c'est-à-dire la migration saisonnière et la dispersion). Elle s'appuie sur deux approches : (1) le suivi des déplacements par Capture-marque-Recapture ; (2) des expériences de homing pour étudier le comportement de traversée des tunnels. Le suivi montre la nécessité d'un effort important pour mettre en évidence la présence de mouvements (rares). Le développement d'une méthode pour évaluer les mouvements dans les tunnels nous permet de tester l'effet de la longueur du tunnel et de l'enrichissement acoustique. La thèse permettra d'améliorer l'évaluation des mesures de la séquence Éviter-Réduire-Compenser et d'améliorer la conception de passages à petite faune.

MOTS CLÉS

Infrastructure Linéaire de Transport (ILT), Éviter-Réduire-Compenser, Amphibien, Passage à petite faune, Mouvement.

ABSTRACT

As part of the construction of a High Speed Railway, this thesis aims to evaluate mitigation measures that would allow amphibian community movements, i.e. seasonal migration and dispersal. It is based on two approaches: (1) monitoring of movements by Capture-Mark-Recapture; (2) homing experiments to study tunnel crossing behaviour. Monitoring shows the need for a major effort to highlight the presence of (rare) movements. The homing experiment in tunnels enables us to test the effect of tunnel length and acoustic enrichment. The thesis help to evaluate mitigation measures and improve the conception of small wildlife passages.

KEYWORDS

Linear Transport Infrastructure (LTI), Avoid Reduce Compensate, Amphibian, Small wildlife passage, Movement.